



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
CHAIANA ESMERALDINO MENDES MARCON

GENO(FENO)TIPAGEM E PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIRRETROVIRAIS
EM PESSOAS VIVENDO COM HIV NO SUL DE SANTA CATARINA

TUBARÃO
2018

CHAIANA ESMERALDINO MENDES MARCON

**GENO(FENO)TIPAGEM E PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIRRETROVIRAIS
EM PESSOAS VIVENDO COM HIV NO SUL DE SANTA CATARINA**

LINHA DE PESQUISA:

Investigação de agravos à saúde de origem infecciosa

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Sul de Santa Catarina para obtenção do título de doutora em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Fabiana Schuelter Trevisol, Dra.

Coorientadora: Profa. Aline Daiane Schlindwein, Dra.

Tubarão

2018

Marcon, Chaiana Esmeraldino Mendes, 1993-
M27 Geno(feno)tipagem e perfil de resistência aos antirretrovirais
em pessoas vivendo com HIV no Sul de Santa Catarina / Chaiana
Esmeraldino Mendes Marcon ; -- 2018.
109 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador : Profa. Dra. Fabiana Schuelter Trevisol.
Coorientadora : Profa. Dra. Aline Daiane Schlindwein.
Tese (doutorado)–Universidade do Sul de Santa
Catarina, Tubarão, 2018.
Inclui bibliografias.

1. HIV (Vírus). 2. Agentes antirretrovirais. 3. Drogas –
Resistência em micro-organismos - Aspectos genéticos. 4.
Técnicas de genotipagem. 5. Mutação. I. Trevisol, Fabiana
Schuelter. II. Schlindwein, Aline Daiane. III. Universidade do Sul
de Santa Catarina – Doutorado em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDD (21. ed.) 616.9792

Ficha catalográfica elaborada por Francielli Lourenço CRB 14/1435



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - DOUTORADO

Título da Tese

Geno(Feno)tipagem e perfil de resistência aos antirretrovirais em
pessoas vivendo com HIV no Sul de Santa Catarina

CHAIANA ESMERALDINO MENDES MARCON
AUTOR

Aprovada pela Banca Avaliadora de Defesa da Tese em 29 de junho de 2018.

Doutora Fabiana Schuelter Trevisol (orientador) _____

Doutor Marcos Vinícius da Silva (avaliador externo – PUC/SP) _____

Doutora Thaís Cristine Marques Sincero (avaliador externo – UFSC) _____

Doutora Betine Pinto Moehlecke Iser (avaliador interno) _____

Doutora Josiane Somariva Prophiro (avaliador interno) _____

mi *fast*
Professor Doutor Jefferson Traebert

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - UNISUL

- Unisul – Universidade do Sul de Santa Catarina – Sede - Reitoria – Av. José Acácio Moreira, 787 – Bairro Dehon – CEP: 88704-900 – Tubarão – Santa Catarina – Fone: (48) 3621-3000
- Campus Universitário de Tubarão – Av. José Acácio Moreira, 787 – Bairro Dehon – CEP: 88704-900 – Tubarão – Santa Catarina – Fone: (48) 3621-3000
- Campus Universitário da Grande Florianópolis – Av. Pedra Branca, 25 – Cidade Universitária Pedra Branca – CEP: 88137-272 – Palhoça – Santa Catarina – Fone: (48) 3279-1000
- Campus Universitário UnisulVirtual – Av. dos Lagos, 41 – Cidade Universitária Pedra Branca – CEP: 88137-100 – Palhoça – Santa Catarina – Fone: (48) 3279-1242

Dedico este trabalho a todos as pessoas que vivem com HIV e seus familiares, e a todos os profissionais que diariamente buscam melhorar o atendimento em saúde a estas pessoas.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela sabedoria e pela força que tem me dado em todas as fases da minha vida.

Ao meu filho Miguel Mendes Marcon, pela compreensão nas horas que estive ausente e amor. Ao meu esposo, Luciano Mazzuco Marcon, pela compreensão, confiança, incentivo, atenção, respeito e amor.

A minha mãe Maria de Lourdes Esmeraldino Mendes, pela confiança, colaboração no cuidado do Miguel e incentivo. Ao meu pai Juventino Mendes, pelo apoio e confiança depositados em mim.

Ao meu irmão Charlen Esmeraldino Mendes, pelos momentos de apoio.

A minha sogra Ória Marcon e meu sogro Santos Marcon, pela confiança.

A orientadora Professora Doutora Fabiana Schuelter Trevisol, pela paciência, pelos ensinamentos e incentivo à pesquisa e aprendizado.

A Coorientadora Professora Doutora Aline Daiane Schlindwein, pelos ensinamentos e dedicação.

Aos colegas de turma, pela excelente convivência e amizade firmada durante as aulas.

Aos colegas Aline Tonon, Maricele Almeida da Silva, Richard Ferreira Sene, Helena Caetano Gonçalves e Silva, Everson da Silva Souza e Jane Martins de Araújo Menezes, pelo auxílio na coleta de dados para a realização deste trabalho.

A Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Silvane, pela dedicação e carinho sempre que me atendeu.

Aos profissionais do Instituto Adolfo Lutz Luiz Brígido, Gisele e Gabriela, pela parceria.

As colegas de trabalho Márcia Maurício, Manuela Pozza, Helen Nunes e Mirela Fidelis, pelo apoio.

Aos funcionários da Fundação Municipal de Saúde e do Centro de Atendimento Especializado em Saúde (CAES), pelo apoio e amizade.

Ao Diretor-presidente da Fundação Municipal de Saúde, Daisson José Trevisol, pelo apoio.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que torceram por mim, contribuíram, direta ou indiretamente para que este trabalho fosse concluído, minha imensa GRATIDÃO.

RESUMO

Introdução: A infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), que pode causar a Aids, é um grave problema de saúde pública. As medidas terapêuticas obtiveram sucesso no aumento da sobrevivência e qualidade de vida. Entretanto, algumas pessoas que vivem com HIV não respondem a terapia antirretroviral (TARV) devido à presença de mutações no genoma viral associada à resistência aos fármacos.

Objetivo: Identificar o genótipo viral e avaliar o perfil de resistência/sensibilidade à TARV e a presença de mutações com base nos resultados de geno(feno)tipagem do HIV.

Método: Realizou-se um estudo de delineamento transversal com adultos que viviam com HIV/aids atendidos no sul de Santa Catarina. Os participantes foram entrevistados e submetidos à coleta de sangue. Pacientes com carga viral detectável tiveram as amostras de plasma encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz para realização da genotipagem e posterior fenotipagem virtual.

Resultados: Entre 629 pacientes incluídos no estudo, em 116 foi possível realizar a geno(feno)tipagem. O subtipo C do HIV-1 foi mais prevalente. A resistência a TARV foi associada ao sexo feminino ($p=0,028$), não adesão ao TARV ($p<0,001$), maior tempo de infecção pelo HIV ($p<0,001$), ter realizado troca do esquema terapêutico ($p<0,001$) e menor contagem de linfócitos T CD4 ($p=0,031$). As principais mutações encontradas foram M184V e K103N. A comparação entre as genotipagens e fenotipagem virtual identificou que o subtipo B apresentou menor índice de discordâncias.

Conclusão: Concluiu-se que o subtipo circulante na região sul de Santa Catarina foi o subtipo C, e que as mutações K103N e M184V foram as mais encontradas.

Descritores: HIV. Farmacoresistência viral. Técnicas de Genotipagem. Mutação.

ABSTRACT

Introduction: Human immunodeficiency virus (HIV) infection, which may cause AIDS, is a serious public health issue. Therapeutic measures were successful in increasing patient survival and quality of life. However, some people living with HIV do not respond to antiretroviral therapy (ART) because of mutations associated with viral resistance. **Objective:** To identify the viral genotype and evaluate the genotypic pattern and resistance to HAART, as well as the presence of mutations resulting from HIV genotyping and phenotyping.

Method: A cross-sectional study was conducted on adults living with HIV/aids under treatment in southern Santa Catarina. Participants were interviewed and had blood sample drawn for lab tests. Patients with detectable viral load had the plasma samples sent to Adolfo Lutz Institute for genotyping and subsequent virtual phenotyping.

Results: In 116 out of the 629 patients included in the study, it was possible to identify both the viral genotype and phenotype. HIV-1 subtype C was the most prevalent. Women were more resistant to HAART than men ($p = 0.028$). Resistance to HAART was also associated with nonadherence to treatment ($p < 0.001$), longer time of HIV infection ($p < 0.001$), change in the therapeutic regimen ($p < 0.001$), and lower CD4 T-lymphocyte count ($p = 0.031$). The main mutations were M184V and K103N. Comparisons between genotyping and virtual phenotyping identified that subtype B presented a lower disagreement index as compared to the others.

Conclusion: The study concluded that subtype C was the circulating subtype in southern Santa Catarina, and that K103N and M184V were the most commonly found mutations.

Keywords: HIV. Drug resistance viral. Genotyping Techniques. Mutation.

LISTAS

Lista de abreviaturas

Aids - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Amurel - Associação dos Municípios da Região de Laguna

ARV - Antirretroviral

cDNA - DNA complementar

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DC - Células dendríticas

HAART - Terapia antirretroviral altamente ativa

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HIV-TB - Coinfecção HIV Tuberculose

HTLV-III - Vírus T Linfotrópico Humano Tipo III

IB - Immunoblot

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBR - Immunoblot rápido

IE - Imunoensaio

IF - Inibidor de fusão

IN - Inibidor de integrase

IP - Inibidor da protease

IST – Infecção sexualmente transmissível

ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa

ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa

LAV - Vírus associado a Linfonodopatia

LC - Células de Langerhans

OMS - Organização Mundial da Saúde

ONU - Organização das Nações Unidas

PCR - Reação em cadeia da polimerase

RNA - Ácido ribonucleico

RT – Reação de transcrição reversa

SIV - Vírus da Imunodeficiência Símia

SIVcpz - Vírus da Imunodeficiência Símia de Chimpanzés

SIVgor - Vírus da Imunodeficiência Símia de Gorilas

SP - São Paulo
 STLV - Vírus Linfotrófico de células T Símio
 SUS - Sistema Único de Saúde
 TARV - Terapia antirretroviral
 TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
 TR - Teste rápido
 UNAIDS - Programa conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids
 Vpr - Proteína viral r
 Vpu - Proteína viral u
 WB - Western blot

Lista de figuras

Figura 1 -	Evolução da infecção pelo HIV no organismo	19
Figura 2 -	Ciclo de vida do HIV.....	23
Figura 3 -	Marcadores da infecção pelo HIV na corrente sanguínea de acordo com o período após a infecção, seu desaparecimento ou manutenção ao longo do tempo.....	25
Figura 4 -	Etapas metodológicas.....	40
Figura 5 -	Subtipos encontrados nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina (n=121).....	54
Figura 6 -	Árvore filogenética construída pelo método Neighbor-Joining.....	68

Lista de quadros

Quadro 1 -	Variáveis do estudo.....	46
------------	--------------------------	----

Lista de tabelas

Tabela 1 -	Distribuição das características sociais das pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina do estudo.....	50
Tabela 2 -	Características comportamentais das pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina.....	51
Tabela 3 -	Dados dos exames laboratoriais das pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina.....	52
Tabela 4 -	Dados dos esquemas terapêuticos das pessoas que vivem com	

	HIV no sul de Santa Catarina.....	53
Tabela 5 -	Principais mutações evidenciadas nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina.....	54
Tabela 6 -	Principais resistências aos antirretrovirais evidenciados nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina.....	56
Tabela 7 -	Principais resistências aos antirretrovirais evidenciados a partir da fenotipagem virtual nas pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento no sul de Santa Catarina.....	57
Tabela 8 -	Principais resistências aos antirretrovirais evidenciados a partir da fenotipagem virtual nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina.....	58
Tabela 9 -	Principais resistências aos antirretrovirais evidenciados a partir da fenotipagem virtual nas pessoas que vivem com HIV que possuem o subtipo B no sul de Santa Catarina.....	59
Tabela 10 -	Principais resistências aos antirretrovirais evidenciados a partir da fenotipagem virtual, nas pessoas que vivem com HIV, que possuem o subtipo B+C, no Sul de Santa Catarina.....	60
Tabela 11 -	Principais resistências aos antirretrovirais evidenciados a partir da fenotipagem virtual nas pessoas que vivem com HIV que possuem o subtipo F no sul de Santa Catarina.....	61
Tabela 12 -	Principais resistências aos antirretrovirais evidenciados a partir da fenotipagem virtual nas pessoas que vivem com HIV que possuem CRF02_AG e CRF45_cpx no sul de Santa Catarina.....	62
Tabela 13 -	Principais resistências aos antirretrovirais evidenciados a partir da fenotipagem virtual nas pessoas que vivem com HIV que possuem subtipo C no sul de Santa Catarina.....	63
Tabela 14 -	Principais resistências aos antirretrovirais nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina.....	64
Tabela 15 -	Dados das genotipagens nas pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento e após 6 meses de uso de TARV no sul de Santa Catarina.....	66

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO	14
1.1.1 Histórico e dados epidemiológicos	14
1.1.2 Medidas preventivas e de controle da infecção pelo HIV	16
1.1.3 História natural da doença	17
1.1.3.1 Análise Filogenética	19
1.1.4 Genoma do HIV	20
1.1.4.1 Estrutura e replicação viral do HIV	22
1.1.5 Formas de transmissão do HIV	24
1.1.6 Diagnóstico	24
1.1.7 Mutação associada à resistência	26
1.1.8 Terapia antirretroviral	28
1.1.9 Falha virológica	31
1.1.10 Genotipagem e fenotipagem	33
2. OBJETIVOS	37
2.1 OBJETIVO GERAL	37
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
3. MÉTODOS	38
3.1 TIPO DE ESTUDO	38
3.2 LOCAL DE ESTUDO.....	38
3.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO E AMOSTRAGEM.....	38
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	39
3.5 COLETA DOS DADOS	39
3.5.1 Etapas metodológicas	39
3.5.2 Entrevista	39
3.5.3 Revisão dos prontuários	41
3.5.4 Genotipagem	41
3.5.4.1 Reação de Transcrição Reversa (RT) para a obtenção do DNA complementar (cDNA).....	42
3.5.4.2 Amplificação da Polimerase do HIV-1 (pol).....	43
3.5.4.3 Visualização dos produtos amplificados.....	44

3.5.4.4 Reação de sequenciamento.....	44
3.5.4.5 Purificação da reação de sequenciamento.....	44
3.5.4.6 Análise das sequências obtidas	45
3.5.5 Fenotipagem virtual	45
3.5.6 Análise filogenética.....	45
3.6 VARIÁVEIS DO ESTUDO	46
3.7 ANÁLISE DE DADOS	48
3.8 ASPECTOS ÉTICOS	49
4. RESULTADOS.....	50
5. DISCUSSÃO	69
5.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS	69
5.2 EXAMES LABORATORIAIS.....	71
5.3 RESISTÊNCIA EM VIRGENS DE TRATAMENTO	72
5.4 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL	73
5.5 GENOTIPAGEM.....	75
5.6 FENOTIPAGEM VIRTUAL	77
5.7 ANÁLISE FILOGENÉTICA.....	78
5.8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	79
6. CONCLUSÃO	80
6.1 PERSPECTIVAS FUTURAS	80
REFERÊNCIAS.....	81
APÊNDICE.....	96
APÊNDICE A - Roteiro da Entrevista (>18 anos)	96
APÊNDICE B - Principais mutações associadas ao subtipo, carga viral e CD4 identificadas nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina	100
APÊNDICE C - Panorama das genotipagens com ausência de mutação associada à resistência, relacionando ao subtipo, carga viral e CD4 identificadas nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina.	133
ANEXO A - Parecer substanciado do CEP	136

1. INTRODUÇÃO

A infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) destrói os linfócitos T CD4 levando a imunossupressão do sistema imunológico. A destruição progressiva dos linfócitos T, aliada ao aumento da carga viral plasmática causa a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Aids), que é caracterizada pelo surgimento de doenças oportunistas graves e neoplasias que evidenciam a imunossupressão^{1,2}.

O HIV possui grande poder de mutação que pode resultar em resistência aos antirretrovirais (ARV). Neste caso, a pessoa que vive com HIV não responde ao tratamento farmacológico utilizado. Vários são os fatores que podem levar ao aparecimento de mutações do HIV, como a não adesão ao tratamento ARV, esquemas terapêuticos inadequados, administração incorreta dos antirretrovirais, dentre outros^{3,4}.

A resistência viral é evidenciada a partir da elevação da carga viral plasmática, pois a terapia antirretroviral (TARV) tem por finalidade manter a carga viral indetectável. Outro fator é a diminuição na contagem de linfócitos T CD4³.

Para verificar a presença de mutações e resistência aos antirretrovirais podem ser realizados exames de genotipagem/fenotipagem. O exame de genotipagem consiste na codificação da sequência de genes, sendo possível identificar a presença de mutações e a sensibilidade aos antirretrovirais^{5,6}. A fenotipagem é um teste que mede a resistência direta aos antirretrovirais, realizada a partir da cultura viral para determinar a susceptibilidade do vírus a terapia farmacológica⁶. A fenotipagem virtual consiste em um banco de dados contendo inúmeras amostras que possuem resultado de genotipagem e fenotipagem. Este sistema informatizado procura no banco de dados à sequência genômica em teste mais semelhante e para cada sequência o banco de dados possui um resultado de fenotipagem equivalente⁷.

O conhecimento a respeito do genótipo do HIV associado à terapêutica utilizada é essencial para melhor compreensão da efetividade do tratamento antirretroviral (ARV), pois o exame de genotipagem tem por objetivo pesquisar o padrão de mutações responsáveis por falha terapêutica de causa viral e inferir o perfil de sensibilidade e/ou resistência às medicações antirretrovirais. Assim, a

genotipagem contribui para a escolha adequada da terapia antirretroviral (ARV) e, conseqüentemente, melhora das condições clínicas da pessoa que vive com HIV. No entanto, rotineiramente, o teste de genotipagem é realizado em pacientes que não respondem ao tratamento farmacológico, ou seja, quando apresentam carga viral plasmática elevada mesmo com o uso de ARV.

Na região da Associação dos Municípios da Região de Laguna (Amurel), entre as pessoas que vivem com HIV, não há dados sobre o perfil de sensibilidade e/ou resistência aos antirretrovirais identificados a partir da genotipagem/fenotipagem. Além disso, não se sabe qual o genótipo viral circulante nesta região.

Portanto, a questão norteadora deste estudo foi identificar: Quais os genótipos virais encontrados nas pessoas que vivem com HIV na região sul de Santa Catarina e o perfil de sensibilidade e/ou resistência aos antirretrovirais?

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 Histórico e dados epidemiológicos

No início da década de 1980, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), em Atlanta, Estados Unidos, relatou os primeiros casos de aids. Essa síndrome foi identificada baseada na constatação do aumento da incidência de duas doenças raras: o sarcoma de Kaposi (neoplasia antes vista somente em homens idosos) e a pneumonia por *Pneumocystis jiroveci* (antigamente denominado *P. carinii*) em pessoas jovens, do sexo masculino e com práticas homossexuais. Essas pessoas apresentavam também comprometimento funcional do sistema imunológico^{8,9}.

Além dos Estados Unidos, nesta mesma época, também foram identificados casos da doença no Haiti e na África Central. A doença foi definida como aids em 1982, mesmo ano de registro do primeiro caso da doença no Brasil, na cidade de São Paulo¹⁰.

Em 1983, o HIV foi definido como agente etiológico da aids. Cepas virais de pessoas com aids foram isoladas pelos pesquisadores Luc Montaigner na França e Robert Gallo nos Estados Unidos, sendo identificadas como pertencentes aos retrovírus. O grupo francês denominou inicialmente de vírus associado à

Linfadenopatia (LAV) e o grupo americano de vírus T-Linfotrópico Humano Tipo III (HTLV-III). Posteriormente, um comitê internacional decidiu pela denominação atual, HIV, pois as cepas virais isoladas na França e nos Estados Unidos pertenciam à mesma espécie viral^{10,11}. Em 1986, em Paris, um segundo tipo de HIV foi identificado, isolado de africanos sintomáticos com características semelhantes ao HIV-1, sendo denominado HIV-2¹². O HIV-1 é considerado mais virulento¹³. Ao isolar o vírus os pesquisadores identificaram a capacidade de mutação viral^{2,10}.

A aids é associada a diminuição progressiva dos linfócitos T CD4 e caracterizada como uma doença fatal. Inicialmente, a doença foi identificada em hemofílicos, usuários de drogas injetáveis, homens que faziam sexo com homens, receptores de transfusão de sangue contaminado e em recém-nascidos de mães portadoras do HIV. Em seguida, a epidemia da aids acometeu os heterossexuais e foi observado o aumento do número de casos entre as mulheres^{14,15}.

Com o desenvolvimento da aids no mundo, por volta dos anos 1990, percebeu-se que não existia um grupo de risco, e sim, comportamentos de risco que facilitavam a infecção pelo HIV. Dentre os comportamentos de risco, destacam-se a prática sexual com diferentes parceiros sexuais, a relação sexual desprotegida, o compartilhamento de seringas e agulhas e o uso de substâncias ilícitas¹⁶.

Após o surgimento da aids, a doença tornou-se epidêmica em várias partes do mundo como a África. Países da ex-União Soviética e da Ásia tiveram aumento significativo na propagação do HIV. Entretanto, a partir de 1996, com o surgimento da terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), as taxas de letalidade pela aids começaram a reduzir, aumentando a sobrevivência e qualidade de vida dos doentes. A introdução da HAART durante a gestação entre mulheres com HIV reduziu a transmissão vertical em países desenvolvidos¹⁷.

O Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids (UNAIDS) estimou no ano de 2015, 36,7 milhões de pessoas com HIV no mundo todo. A cobertura global da HAART alcançou 46% no ano de 2015, neste mesmo ano, ocorreram aproximadamente 2.100.000 novas infecções pelo HIV mundialmente¹⁸.

A UNAIDS estima que 78 milhões de pessoas já foram infectadas pelo HIV e que aproximadamente 35 milhões de pessoas já foram a óbito em decorrência desta doença¹⁹. A cobertura do TARV no mundo subiu de 7,5 milhões no ano de 2010 para 17 milhões no ano de 2015. Na América Latina e no Caribe a cobertura

da terapia ARV atingiu 55% em 2015. Nas regiões da Ásia e do Pacífico a cobertura da HAART subiu de 19% no ano de 2010 para 41% em 2015¹⁸.

No Brasil, de acordo com dados do Boletim Epidemiológico da Coordenação Nacional de Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST), Aids e Hepatites Virais, foram notificados até o ano de 2017, 882.810 casos de aids. Destes, 65,3% eram do sexo masculino e a maior concentração ocorria na faixa etária de 20 a 39 anos. Desde o início da epidemia até dezembro de 2014, foram identificados 290.929 óbitos por aids no Brasil. Contudo, a taxa de mortalidade por aids no Brasil vem diminuindo, em 2016 foi de 5,2 óbitos/100.000 habitantes²⁰.

Em pessoas que vivem com HIV com idade superior a 13 anos, a principal forma de infecção é por relação sexual desprotegida. Há uma tendência de aumento nos últimos 10 anos de casos de infecção pelo HIV entre homens que fazem sexo com homens, passando de 34,9% para 44,9%, os dados refletem porém que a transmissão em heterossexual ainda é alta. Segundo dados do último Boletim Epidemiológico, a prevalência de infecção pelo HIV é 19,8% em homens que fazem sexo com homens com idade maior ou igual a 25 anos e 9,4% nas pessoas de 18 a 24 anos²⁰.

Segundo informação da UNAIDS, estão mais propensos a adquirir a infecção pelo HIV profissionais do sexo, usuários de drogas injetáveis, transexuais, pessoas privadas de liberdade, relacionamentos entre os homens que fazem sexo com homens¹⁹.

1.1.2 Medidas preventivas e de controle da infecção pelo HIV

As intervenções que devem ser realizadas para a prevenção do HIV, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), incluem o uso correto do preservativo em toda relação sexual. Nos homens que fazem sexo com homens, a profilaxia pré-exposição é recomendada como escolha adicional para prevenção do HIV. Nos casais sorodiscordantes, recomenda-se a profilaxia pré-exposição oral diária com tenofovir ou a combinação de tenofovir e emtricitabina. Esta ação é considerada adicional para parceiros não infectados. A profilaxia pós-exposição deve estar disponível a todos que tiveram uma possível exposição ao HIV. A circuncisão masculina realizada de maneira voluntária é recomendada como adjuvante na prevenção da infecção pelo HIV²¹.

Pessoas que utilizam drogas injetáveis devem utilizar seringas e agulhas esterilizadas, obtidas por meio do acesso a programas de redução de danos. O teste de HIV e o aconselhamento devem ser oferecidos a toda população em risco, e todas as pessoas que vivem com HIV devem ter acesso à HAART²¹.

Vale ressaltar, que o Brasil assumiu o compromisso proposto pela Organização das Nações Unidas (ONU), em um de seus objetivos, de combater e reverter a propagação da infecção pelo HIV. O Brasil busca atingir a meta dos 90-90-90, que estabelece que até o ano de 2020, 90% das pessoas sejam diagnosticadas com a ampliação do acesso ao diagnóstico; das diagnosticadas, 90% estejam em tratamento com TARV; e destas, 90% tenham carga viral indetectável, evidenciando boa adesão à terapêutica e qualidade assistencial²².

1.1.3 História natural da doença

A maioria das doenças infecciosas existentes tem origem zoonótica e mais de 70% originam-se a partir de animais silvestres²³. Na epidemia da Aids, acredita-se que a rota mais plausível da transmissão viral tenha ocorrido por primatas não humanos para o homem pelo contato de caçadores com esses animais. Os caçadores contaminavam-se com sangue ou tecidos de primatas infectados portadores do Vírus da Imunodeficiência Símia (SIV), Vírus Linfotrópico de Células T Símio (STLV) e Vírus Espumoso dos Símios. No organismo humano, a partir de uma mutação, este vírus conseguiu adaptar-se, multiplicar-se e causar infecção²⁴.

Cada espécie de primata não humano é infectada com um SIV específico, que origina linhagens monofiléticas em árvores filogenéticas. Os parentes mais próximos do SIV e do HIV-1 são o Vírus da Imunodeficiência Símia de Chimpanzés (SIVcpz) e o Vírus da Imunodeficiência Símia de Gorilas (SIVgor). Os SIV mangabeis encontrado em outra espécie de primata são os parentes mais próximos do HIV-2, presentes na África Ocidental, principalmente na Costa do Marfim e Gana. O HIV-2 possui prevalência, patogenicidade e transmissibilidade menor que o HIV-1²⁵⁻²⁸.

O HIV pertence à família *Retroviridae* e subfamília dos *Lentiviridae*. Este vírus apresenta tropismo pelos linfócitos T CD4, causando sua infecção e destruição². A história natural da infecção causada pelo HIV caracteriza-se por fase

aguda com elevada carga viral circulante e rápido declínio na contagem de linfócitos T CD4^{29,30}.

O curso da infecção pelo HIV pode apresentar variação de tempo e níveis de viremia para cada indivíduo. O curso da infecção é composto pela fase de eclipse que se caracteriza pelo período de uma a duas semanas, na qual o vírus se reproduz livremente e se propaga do local inicial da infecção para diversos tecidos e órgãos para se replicar. Nesta fase, a pessoa que vive com HIV não apresenta sintomas visíveis e a viremia é indetectável³¹.

A fase de infecção aguda ocorre de duas a quatro semanas após o contágio. Os anticorpos anti-HIV surgem aproximadamente quatro semanas após a infecção. Nesta fase, bilhões de partículas virais são produzidas e a viremia plasmática alcança níveis elevados tornando o indivíduo altamente infectante³. Neste período, destaca-se a soroconversão associada à replicação viral intensa e queda transitória, porém, específica da contagem de linfócito T CD4. As manifestações clínicas incluem febre, linfadenopatia generalizada, faringite e exantema. Outros sintomas podem ocorrer como mialgias, artralgias, encefalopatia, meningite, cefaleia e diarreia. No final desta fase, a pessoa que vive com HIV apresenta declínio da viremia e diminuição transitória dos linfócitos T CD4^{2,31,32}.

A fase de latência clínica ou infecção assintomática é caracterizada pelo nível constante de viremia e de grande número de linfócitos T CD4 infectados. Observa-se ainda, que 50 a 70% das pessoas que vivem com HIV desenvolvem linfadenopatia de forma generalizada persistente e indolor nesta fase^{2,31,33}. Com a progressão da doença, o número de linfócitos T CD4 diminui drasticamente levando à imunossupressão e são observadas, neste período, infecções oportunistas como pneumonia, neurotoxoplasmose, tuberculose, meningite, neoplasias, dentre outras doenças. A doença clínica sintomática, com redução de linfócitos T CD4, elevação da carga viral plasmática, presença de infecções oportunistas ou neoplásicas, é definida como Aids, que pode resultar em óbito^{1,2,31,34}. A progressão clínica da infecção pelo HIV e Aids são esquematizados na Figura 1.

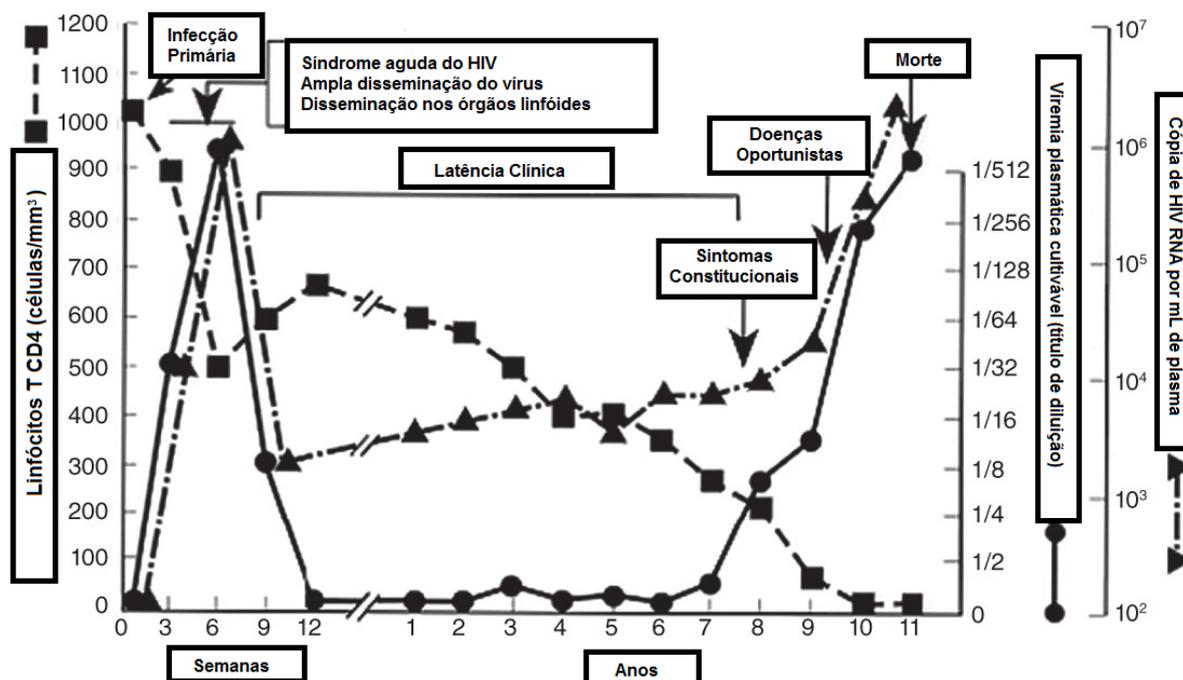


Figura 1 - Evolução da infecção pelo HIV no organismo humano.

Fonte: Lucas e Nelson, 2015³⁵.

1.1.3.1 Análise Filogenética

A análise filogenética do HIV-1 e HIV-2 foi fundamental na investigação da epidemia do HIV/Aids na história da introdução do vírus no ser humano. Apesar da conexão entre lentivírus humano e o retrovírus de primata ter sido sugerida desde o início da epidemia, a reconstrução das relações filogenéticas entre as variantes do HIV e SIV só foi possível ao se isolar o vírus de diferentes espécies de SIV. A influência das relações evolutivas entre o HIV e SIV identificados, evidenciaram a origem zoonótica da epidemia da Aids, bem como, dos fatores determinantes para o seu início^{36,37}.

A identificação da evolução entre o HIV e o SIV permitiu identificar que o SIV apresenta ancestralidade direta com o HIV. A epidemia da Aids resulta de pelo menos, sete eventos de transmissão zoonótica do SIV, no qual quatro originaram subtipos do HIV-2 e três formaram cada um dos grupos M, N e O do HIV-1. Na década de 1990, com a identificação de retrovírus de chimpanzés, descobriu-se a origem zoonótica do HIV-1, pelo compartilhamento de dois vírus com a mesma estrutura genômica, o vírus de chimpanzés e variantes do HIV-1 que se agrupam próximos nas árvores filogenéticas. Há evidências indiretas de que a infecção do SIV em chimpanzés não é um evento incomum. No oeste da África Equatorial,

encontram-se animais infectados pelo SIV e pelos grupos HIV-1. Nesta região, a carne de chimpanzés é utilizada como alimento e isso sugere a possível via de contaminação do SIV na espécie humana³⁷.

Nos últimos anos, a teoria evolutiva e a análise do sequenciamento genético viral foram fatores que contribuíram para a compreensão da epidemiologia do HIV, com o fornecimento de informações sobre o tempo e a localização geográfica de suas origens^{38,39}. Análises detalhadas do sequenciamento viral fornecem elementos importantes sobre a epidemia do HIV pela identificação das rotas de transmissão, evidenciando as diferenças entre as populações^{38,40}.

A análise filogenética auxilia na identificação das linhagens de vírus e demonstra se estas linhagens estão restritas ou misturadas, nos diferentes subgrupos demográficos e comportamentais. Cada pessoa infectada pelo HIV é representada por uma única sequência genética. As sequências são utilizadas para construir uma árvore evolutiva bifurcada denominada de filogenia, na qual cada sequência de vírus é posicionada na ponta da árvore, e os pares de galhos das árvores compartilham de um nó que representa o ancestral comum mais recente. As pessoas que compartilham do ancestral comum, geralmente, são ligados e representam um *cluster* de transmissão. O comprimento dos galhos das árvores demonstra a relação genética entre os diferentes ancestrais e seus descendentes⁴¹⁻⁴⁷.

1.1.4 Genoma do HIV

O HIV apresenta grande variabilidade genética, mas existem dois tipos descritos, o HIV-1 e HIV-2. O HIV-1 é subdividido em quatro grupos: M (do inglês, *major* ou majoritário), N (do inglês, *new* ou *non-M, non-O*, ou novo, não-M, não-O), O (do inglês, *outlier*) o mais divergente dentre os grupos, e P. A maioria das infecções ocorre com HIV-1 do grupo M, o qual é diferenciado em subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K). Os subtipos A e F, por sua vez, são subdivididos em A1, A2, A3, A4 e A5, e em F1 e F2, respectivamente⁴⁸⁻⁵⁰.

O genoma do HIV possui três genes principais que codificam as proteínas estruturais e enzimas virais: *gag*, *env* e *pol*. A nomenclatura das proteínas virais utiliza a abreviação “gp” para glicoproteína ou “p” para proteína, seguida de um número que indica o peso molecular em kilodaltons (kDa). O gene *gag* codifica a

p55, a partir da qual quatro proteínas estruturais do capsídeo são formadas em p6, p9, p17 e p24⁵¹⁻⁵³.

O capsídeo que circunda o ácido nucleico viral contém p24, p6 e p9, enquanto, a p17 se encontra em uma camada entre o núcleo proteico e o invólucro denominada matriz proteica, a qual reveste a superfície interna da membrana viral. O gene *env* codifica as gp160, gp120, e gp41, que são encontradas no envelope viral. A gp160 é uma proteína precursora, que é clivada para formar a gp120 e gp41. A gp120 se projeta na superfície viral na forma trimérica, enquanto, a gp41 é uma glicoproteína transmembrana e se associa à gp120. Ambas, gp120 e gp41, estão envolvidas na fusão e ligação aos receptores de HIV nas células do hospedeiro^{52,53}.

O terceiro gene estrutural, *pol*, codifica as enzimas p66 e p51, que compõem a enzima transcriptase reversa, necessária à replicação do HIV. Essas proteínas são subunidades da transcriptase reversa p31 ou integrase, relacionada à integração do ácido desoxirribonucleico (DNA) viral no genoma das células do hospedeiro. E a p10, uma protease que cliva precursores proteicos em unidades ativas menores. A proteína p66 também está envolvida na degradação do ácido ribonucleico (RNA) original do HIV. Essas proteínas estão localizadas no núcleo e associadas ao RNA do HIV^{52,53}.

Vários genes no genoma do HIV codificam produtos com função reguladora ou acessória. Embora, esses produtos não façam parte da estrutura viral, eles atuam no controle da replicação viral e infectividade. O gene *tat*, codifica a p14, uma proteína reguladora que ativa a transcrição de genes provirais do HIV. O gene *rev* (responsável por regular a expressão das proteínas do vírus) codifica a p19, uma proteína responsável por transportar o RNA viral para tradução no citoplasma. O gene *nef* codifica a p27 e possui múltiplas funções, incluindo a modificação da célula hospedeira, aumentando a replicação viral e tornando-a menos suscetível a destruição pelo sistema imune do hospedeiro. O gene *vpu* (proteína viral “U”) codifica a p16, uma proteína com múltiplos papéis, incluindo a montagem de forma eficiente e brotamento dos vírus para fora das células hospedeiras infectadas e a morte da célula hospedeira^{52,54}.

O gene *vpr* (proteína viral “R”) codifica a p15, que auxilia na integração do DNA do HIV no núcleo da célula hospedeira. O gene *vif* codifica a p23, que atua

como um fator de infectividade viral, estabilizando o DNA HIV recém-sintetizado e facilitando o seu transporte para o núcleo celular^{52,55}.

O HIV-2 também apresenta os genes *gag*, *env*, *pol*, genes regulatórios e acessórios com funções semelhantes às observadas no HIV-1. A homologia entre os genomas dos dois vírus é de aproximadamente 50%. As regiões *gag* e *pol* do genoma viral apresentam homologia maior entre os diferentes tipos de vírus, ao contrário da região *env* que apresenta diferenças significativas no HIV-1 e HIV-2. As proteínas do HIV-2 têm funções semelhantes as do HIV-1, entretanto, apresentam diferenças na composição de aminoácidos e no peso molecular³.

O HIV possui grande variabilidade genética, o vírus do subtipo B é o mais prevalente no Brasil e o subtipo C é o mais predominante na região sul do país^{56,57}. Um estudo realizado na cidade de Itajaí (SC) de 2002 a 2008, demonstrou que 24% das pessoas que vivem com HIV tinham o subtipo B, 71% o subtipo C, 2% o subtipo D e 2% o subtipo F1⁵⁸.

Outro estudo realizado na região Norte do Brasil analisou 377 genotipagens e evidenciou que 90,7% das pessoas que vivem com HIV possuíam o subtipo B. Neste mesmo estudo, foi evidenciado o subtipo A1, sendo a primeira vez encontrado na região⁵⁹. Um estudo realizado em Minas Gerais demonstrou que o subtipo B do HIV-1 foi evidenciado em 76,7% das pessoas que vivem com HIV, com aumento significativo na prevalência dos subtipos não B⁶⁰.

Estudo realizado no Rio de Janeiro analisou 547 pessoas que vivem com HIV que não respondiam a TARV e encontrou em 91,2% das amostras o subtipo B, 4,9% o subtipo F, 3,3% tendo formas recombinantes virais entre os subtipos B e F, e o subtipo C foi identificado em 0,4% das amostras⁶¹.

1.1.4.1 Estrutura e replicação viral do HIV

O HIV consiste em um envelope glicoproteico espiculado ao redor de um nucleocapsídeo proteico e possui dois fragmentos de ácido RNA viral. A entrada do vírus na célula humana necessita das moléculas CD4 e de um co-receptor de quimiocina, receptor de quimiocina tipo 5 (CCR5) e receptor de quimiocina tipo 4 (CXCR4). Parte da glicoproteína do envelope viral denominada gp120 liga-se a CD4, o que permite a porção proximal da proteína de fusão gp 41 ligar-se ao co-receptor

CCR5 e CXCR4 na membrana da célula alvo, provocando a fusão e liberação das proteínas do nucleocapsídeo dentro da membrana plasmática da célula^{62,63}.

Quando o núcleo viral é liberado para o citosol, o RNA viral se converte em DNA pela ação da enzima transcriptase reversa. Esta enzima copia o RNA viral em uma única fita de DNA viral, e posteriormente, em uma fita dupla de DNA viral. Em seguida o RNA viral é destruído. Uma vez que, o genótipo do DNA viral é integrado ao cromossomo da célula hospedeira, a transcrição viral é ativada pelos mesmos fatores de transcrição que ativam células hospedeiras com auxílio do gene *tat* (transativador) do HIV. O DNA viral é transcrito em RNA mensageiro utilizando enzimas humanas que permite a formação de novos vírions^{51,64}.

As transcrições virais são produzidas as proteínas virais estruturais e regulatórias. O RNA é traduzido para gerar produtos dos genes *gag* e *pol*, e incorporado ao RNA genômico em novos vírions. Nos locais de membrana da célula formam-se as proteínas do envelope e do nucleocapsídeo viral. Após este processo o vírus está formado e com capacidade de infectar outras células⁵¹. O esquema de replicação viral é apresentado na Figura 2.

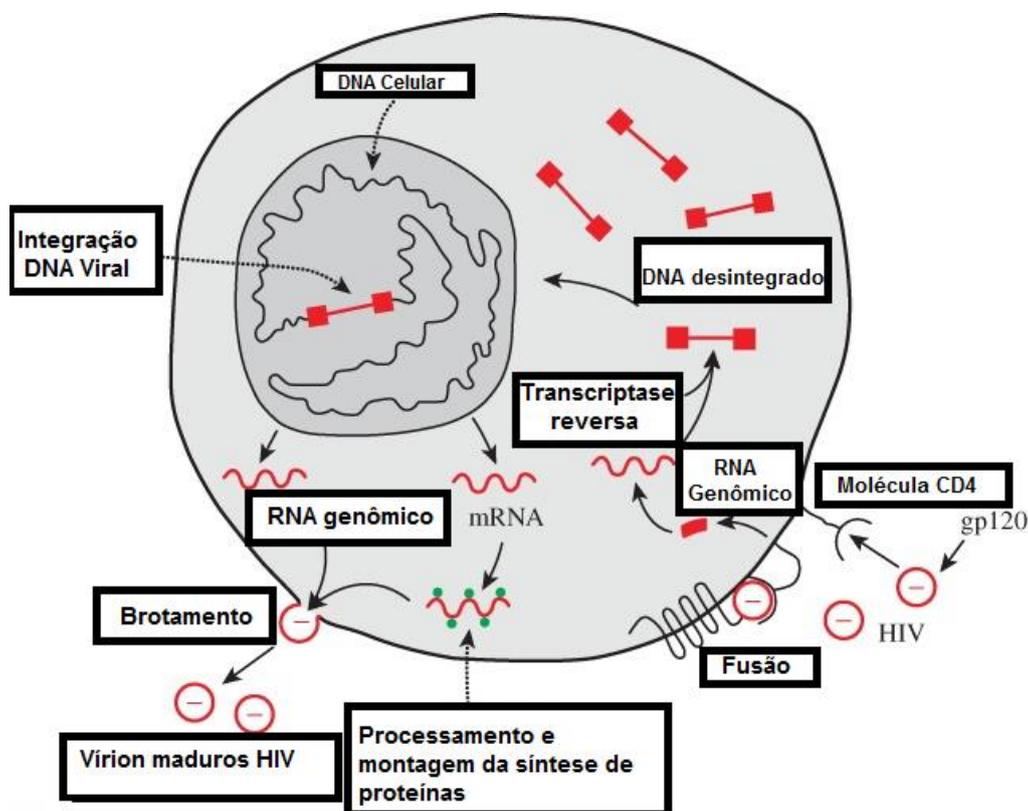


Figura 2 - Ciclo de vida do HIV.

Fonte: Lucas e Nelson, 2015³⁵.

1.1.5 Formas de transmissão do HIV

Desde a década de 1980, as rotas de transmissão do HIV foram descritas e nelas estão inclusas: a transmissão vertical por contaminação intra-útero, no momento do parto ou pelo aleitamento materno; relação sexual desprotegida (sem preservativo); o uso de drogas intravenosas; transfusão de hemoderivados contaminados pelo HIV; inoculação acidental do vírus para os profissionais da área da saúde; e o transplante de órgãos e tecidos contaminados^{1,65}.

A transmissão sexual do HIV envolve vários tipos de células CD4 no tecido genital como as células de Langerhans (LC), células dendríticas (DC), macrófagos e linfócitos T^{66,67}. O HIV fica localizado no tecido genital por aproximadamente uma semana até a sua disseminação para todo o corpo⁶⁸.

1.1.6 Diagnóstico

Após a descoberta do HIV foram desenvolvidos imunoenaios (IE) para diagnosticar a infecção viral. Ao longo dos anos foram desenvolvidas quatro gerações de IE. O de primeira geração era um ensaio imunoenzimático indireto do tipo Elisa (do inglês, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e a janela de soroconversão deste ensaio era de 6 a 8 semanas após a infecção pelo HIV. Atualmente, esse ensaio não é mais utilizado. O ensaio de segunda geração apresenta formato indireto e utiliza antígenos recombinantes derivados de proteínas do HIV. Neste ensaio a janela de soroconversão é de 28 a 30 dias, como pode ser visualizado na Figura 3³.

O ensaio de terceira geração apresenta formato imunométrico que permite a detecção de anticorpos anti-HIV IgG e IgM. A janela de soroconversão deste ensaio é de 22 a 25 dias. O ensaio de quarta geração detecta antígeno p24 e anticorpos específicos anti-HIV (Figura 3). Este ensaio detecta todas as classes de imunoglobulinas contra as proteínas recombinantes e a janela de soroconversão deste ensaio é de aproximadamente 15 dias. Os testes de terceira e quarta geração apresentam maior sensibilidade que os testes tradicionais que são: *Western blot* (WB), *imunoblot* (IB) e *imunoblot rápido* (IBR)³.

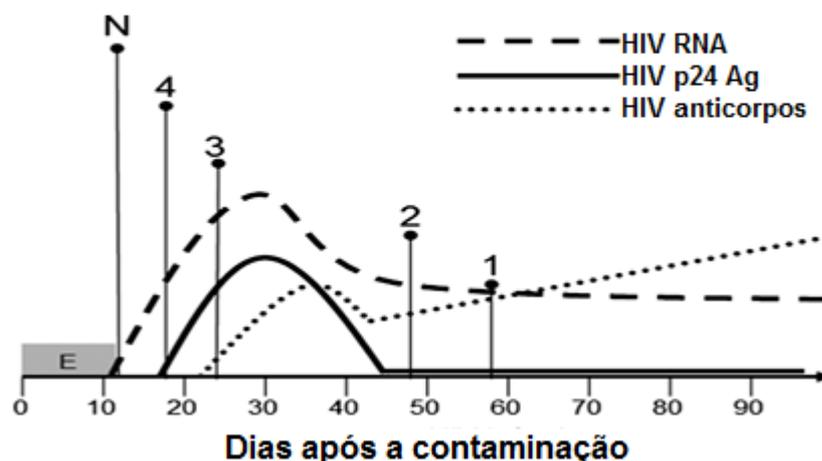


Figura 3 - Marcadores da infecção pelo HIV na corrente sanguínea de acordo com o período após a infecção, seu desaparecimento ou manutenção ao longo do tempo.

Fonte: Cornet e Kim, 2013⁶⁹.

Os testes rápidos (TR) são IE simples que podem detectar anticorpos anti-HIV em até 30 minutos. Os dispositivos são otimizados para acelerar a interação antígeno/anticorpo. O TR permite ampliar o acesso diagnóstico, e pode ser realizado a partir de fluido oral, soro, plasma ou sangue total^{3,70}.

Apesar do TR e IE serem sensíveis e específicos, podem ocorrer resultados falso-positivos e por esta razão foram desenvolvidos os testes complementares confirmatórios que são WB, IB e IBR. No WB e IB utiliza-se tiras de membranas com proteínas nativas do HIV que são separadas por eletroforese ou por proteínas recombinantes. As tiras são incubadas com soro ou plasma do paciente. Os anticorpos que estão presentes na amostra ligam-se as proteínas das tiras de WB ou IB e os anticorpos anti-HIV específicos ligados às proteínas são detectados por anticorpos secundários, conjugados com uma enzima e com um substrato. Os testes complementares apresentam custo elevado³. O IBR apresenta características semelhantes ao IB. Na fase sólida se encontra os antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos do HIV-1 e proteína do HIV-2, o IBR permite a detecção dos anticorpos em 30 minutos³.

O monitoramento da carga viral plasmática da pessoa que vive com HIV é fundamental para monitorar a TARV e avaliar a progressão da doença. A infecção pelo HIV leva a uma diminuição na concentração de linfócitos T CD4, causando a destruição destas células e ativação acentuada dos linfócitos T CD8. A efetividade do TARV suprime a replicação viral fazendo com que a pessoa que vive com HIV tenha carga viral indetectável e permite a recuperação dos linfócitos T CD4/CD8^{71,72}.

1.1.7 Mutação associada à resistência

A diversidade genética do HIV é um desafio para a prevenção, controle e cura da doença. A rápida evolução do vírus pode influenciar na patogênese, na transmissão, no diagnóstico e no manejo da infecção. A variação genética é resultado da falta de mecanismos de revisão da transcriptase reversa, resultando em alta mutação por ciclo reprodutivo. A complexidade genética também é aumentada devido à alta capacidade de recombinação e o tamanho populacional⁷³⁻⁷⁵.

A infecção pelo HIV na maioria das vezes é iniciada com um único vírion, infectando uma única célula-alvo. O curso da doença é avaliado pelos sinais, sintomas e presença de infecções oportunistas⁷⁶.

As terapias eficazes com a combinação de drogas podem reduzir a viremia a níveis indetectáveis <50 cópias/ml, impedindo a progressão da doença. Porém, se a pessoa que vive com HIV suspende o uso do ARV a viremia se tornará elevada novamente, aumentando as chances de desenvolver mutações³¹.

O ciclo de replicação do HIV dura aproximadamente de um a dois dias. Após um ano de infecção tem-se aproximadamente de 200 a 300 gerações do vírion infectante inicial. O nível de viremia é determinado pela combinação do número de células-alvo disponíveis, o tempo de vida produtivo da célula infectada e a taxa de depuração do vírus. A diversidade genética que se acumula durante a infecção pelo HIV se deve pela replicação de uma grande população de vírus⁷⁷.

A mutação do HIV e de outros retrovírus são atribuídas, principalmente a transcrição reversa propensa a erros. Existem duas possíveis fontes de erros: a transcrição por RNA polimerase II do hospedeiro e a hipermutação. A taxa de mutação por ciclo de replicação é aproximadamente dez vezes menor para transversões do que para transições, assim, um genoma a cada três contém uma

mutação após um único ciclo de replicação⁷⁴⁻⁸⁰. Os vírus recombinantes desempenham papel importante na evolução dos retrovírus e contribuem para a grande diversidade do HIV. Estes vírus podem ser gerados a partir de dois vírus distintos infectando uma única célula. O HIV contém duas cópias de RNA por vírus que codificam o genoma do HIV. Quando a célula é infectada por dois RNAs com sequências diferentes, os genomas podem ser co-empacotados e transferidos para o RNA viral. Quando isso ocorre, a transcriptase reversa pode mudar o modelo de RNA gerando um mosaico de genoma do HIV contendo informações genéticas de dois RNAs^{31,81}.

A resistência aos ARV foi observada pela primeira vez nos indivíduos em uso de monoterapia, ou seja, tratados com apenas um ARV, o que levou a introdução da HAART com a combinação de três ARV. Cepas virais de algumas pessoas que vivem com HIV sem sucesso da TARV podem desenvolver mutações associadas à resistência, independentes de serem virgens de tratamento ou em uso do ARV. A interrupção do tratamento pode resultar na reversão do vírus resistente para o vírus selvagem e a reintrodução do TARV leva a rápida recidiva de resistência aos ARV^{82,83}.

As mutações associadas à resistência podem ser repassadas por novas reinfecções em pessoas soroconcordantes, prática sexual sem o uso do preservativo, compartilhamento de seringas e agulhas entre as pessoas que vivem com HIV, favorecendo a transmissão das mutações. Diante disto, o uso do preservativo e o não compartilhamento de seringas e agulhas tornam-se medidas fundamentais para o controle das mutações e sucesso do TARV⁸⁴⁻⁸⁷.

As mutações associadas à resistência permitem que o vírus continue o ciclo de replicação mesmo em uso de TARV, sem a efetiva supressão da viremia. Pessoas que vivem com HIV na presença das mutações associadas à resistência evoluem para a imunossupressão, seguido de óbito. A detecção precoce da mutação e a troca do esquema terapêutico é fundamental para controle da infecção⁸⁸.

A transmissão do vírus com resistência aos TARVs nas pessoas virgens de tratamento pode ocorrer no momento da contaminação pelo vírus, ou seja, a mutação associada à resistência é transferida no momento da infecção viral, ou pode ser desenvolvida após alguns meses em uso de TARV^{82,83,89}.

1.1.8 Terapia antirretroviral

Após o início da TARV ocorre a eliminação de 90% das células de vida curta infectadas pelo HIV. Estas células duram apenas de um a dois dias, elas são infectadas e mortas diariamente, resultando na imunodeficiência. Após este processo, ocorre outro declínio gradual como resultado da depuração das populações de células de meia vida de duas a três semanas, podendo conter os linfócitos T CD4. Por sequência, a queda de células duradouras pode incluir macrófagos e monócitos de meia vida, com duração de seis a quarenta e quatro meses e por fim, a inibição da infecção pelo HIV de novas células mantendo o quantitativo de linfócitos T CD4. O uso do TARV reduz os linfócitos T CD4, mas posteriormente mantém o equilíbrio nas células de longa vida infectadas^{65,90,91}. Contudo, para a TARV ter sucesso terapêutico e efetividade é necessária boa adesão por parte do paciente⁹⁰.

O cuidado contínuo da pessoa que vive com HIV pode ser chamado de “cascata de cuidado contínuo do HIV”, que inclui o diagnóstico precoce da doença, a vinculação da pessoa que vive com HIV com o serviço de saúde, acompanhamento da equipe e realização de exames periódicos, início da TARV após o diagnóstico e a orientação de boa adesão ao tratamento para a supressão da carga viral plasmática²². Considera-se como boa adesão à TARV uma frequência de pelo menos 80%, para assim alcançar a supressão viral e sua manutenção⁹².

A introdução da HAART tem reduzido as taxas de morbidade e mortalidade pelo HIV e também a transmissão viral^{93,94}. Os avanços na HAART levaram ao aumento nas taxas de resposta terapêutica. A combinação de novos fármacos com doses fixas aumentou a segurança, a eficácia e a tolerabilidade ao tratamento. Porém, mesmo com os avanços relacionados aos antirretrovirais um estudo entre 2008 e 2010 mostrou que apenas 64% a 72% das pessoas que vivem com HIV que recebiam TARV, apresentavam baixa carga viral durante o ano todo⁹⁵.

A TARV diminui a agressão ao sistema imunológico e é dividida em cinco classes que incluem: os inibidores nucleotídeos da transcriptase reversa (ITRN) e inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa (ITRNN) que tem a função de modificar a cadeia de DNA tornando-a defeituosa e impedindo a reprodução viral. Fazem parte destas classes de ARV: o abacavir, lamivudina, tenofovir, zidovudina

e a combinação entre lamivudina e zidovudina. A segunda classe de medicamentos antirretrovirais composta pelos ITRNN tem a função de bloquear a ação da enzima e a replicação viral. São representantes desta classe o efavirenz, nevirapina e etravirina. A terceira classe de ARV são os inibidores de protease (IP) que têm a função de bloquear a enzima protease e impedir a produção de novas células infectadas. Fazem parte desta classe de medicamentos: atazanavir, darunavir, fosamprenavir, lopinavir/r, ritonavir, saquinavir e tipranavir. A quarta classe de ARV é inibidor de fusão e da CCR5 (IF e I-CCR5), composta pela enfuvirtida e tem a função de impedir a entrada do vírus na célula. A quinta classe de medicamentos são inibidores da integrase (INI), que tem a ação de bloquear a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do DNA do vírus ao DNA humano. Os medicamentos que compõem esta classe são o raltegravir e dolutegravir. O inibidor de entrada é o maraviroque^{48,96}.

A TARV quando bem-sucedida é caracterizada pela inibição da replicação viral que pode ser definida como viremia plasmática indetectável e por inibição da transmissão viral. Contudo, não se consegue eliminar o HIV do organismo humano⁹⁷.

A OMS recomenda que todas as pessoas que vivem com HIV recebam a TARV independentemente dos resultados dos exames de linfócitos T CD4 e de carga viral. Segundo a OMS, a ampliação do uso do ARV precocemente, ou seja, logo após a descoberta da infecção viral faz com que o portador permaneça saudável e reduza o risco de transmissão do HIV. A OMS orienta o uso da TARV em todas as gestantes, lactantes, adolescentes e crianças portadoras do HIV, independente do estágio clínico da doença e da contagem de linfócito T CD4⁹⁸. A TARV também deve ser ofertada a grupos de pessoas em risco substancial, propensas a adquirir o vírus, por esquema de pré-exposição. Fazem parte deste grupo, os homens que fazem sexo com homens, transexuais, profissionais do sexo e pessoas privadas de liberdade⁹⁸.

O uso do ARV é um grande aliado na prevenção do HIV. Estudos demonstraram que o tratamento de pessoas que vivem com HIV pode reduzir substancialmente a transmissão por relação sexual. Baixos níveis de carga viral sérica do HIV estão associados às menores concentrações do vírus nas secreções genitais, porém, o uso do preservativo continua sendo recomendado⁹⁹⁻¹⁰⁷.

De acordo com a OMS, a primeira linha de escolha de tratamento da infecção pelo HIV deve conter a combinação de três antirretrovirais, dois ITRN e

um INI, sendo indicado o esquema contendo tenofovir, lamivudina e dolutegravir^{3,22,108}. Em situações especiais de contraindicação, intolerância, coinfeção com tuberculose (HIV-TB) ou processo gestacional, deve-se realizar a substituição do ARV. No caso de coinfeção HIV-TB, deve-se substituir o dolutegravir por efavirenz ou raltegravir, de acordo com o quadro clínico da pessoa que vive com HIV².

Os ARV que podem ser utilizados na primeira linha de tratamento incluem: tenofovir, efavirenz, lamivudina, emtricitabina, dolutegravir associada à zidovudina e nevirapina. O tenofovir substitui a estavudina e a zidovudina pois apresenta menor toxicidade e melhor relação custo-benefício^{22,108,109}.

Estudo realizado na Ásia, evidenciou que 97% das pessoas que vivem com HIV apresentavam falha na primeira linha da HAART, especialmente nas classes dos ITRNN e ITRN, e 82% apresentavam mutações associadas à resistência. A mudança para a segunda linha de tratamento neste estudo, evidenciou a supressão virológica associada à adesão ao uso do ARV¹¹⁰.

A segunda linha de tratamento deve conter ITRN associado ao IP em situações que o uso do efavirenz e nevirapina seja contraindicado¹¹¹. Estudo evidenciou que as pessoas que viviam com HIV que não responderam a primeira linha de tratamento, iniciaram com a segunda linha da HAART, tendo por base o IP conforme as diretrizes da OMS. O estudo discutiu ainda, que o acesso à carga viral facilita a detecção precoce da falha terapêutica de primeira linha e maximizaria a durabilidade da terapia de segunda linha. Segundo o mesmo estudo, a terapia de segunda linha é altamente eficaz no país estudado e apenas uma pequena parcela da população teria a necessidade da terceira linha de tratamento ARV¹¹¹.

A partir do ano de 2005, o Brasil iniciou a política de abordagem para pessoas que vivem com HIV com multirresistência, com a introdução da enfuvirtida (IF), darunavir em 2008 (IP), raltegravir em 2009 (INI) e etravirina em 2010 (ITRNN). A terapia de terceira linha é destinada as pessoas que vivem com HIV nas quais não é possível estruturar um esquema com pelo menos dois ARV ativos de segunda ou primeira linha. O raltegravir é indicado em situações em que o uso do darunavir não permite estruturar em um único esquema de resgate, com potência para suprimir a viremia. A etravirina deve ser indicada nas situações exclusivas em que devido ao perfil de resistência viral, a atividade do IP estiver reduzida, comprometendo a inibição da replicação viral. A enfuvirtida é um ARV

reservado para pessoas que vivem com HIV sem outras opções, que permitam estruturar esquema de resgate devido ao elevado custo, toxicidade e dificuldade referente à sua administração¹¹².

O maraviroque é um inibidor de entrada e um dos ARV de terceira linha de tratamento, é composto de uma molécula pequena, antagonista reversível da interação entre CCR5 e a gp120. Atua bloqueando de forma seletiva e reversível a ligação gp120 ao co-receptor CCR5, impedindo que ocorra alteração necessária para a entrada do HIV-1 CCR5 trópico nas células. No ano de 2012, o departamento de IST, Aids e hepatites virais propôs inserir o maraviroque na lista de tratamento para as pessoas que vivem com HIV, e que apresentam resistência à pelo menos uma das três classes de ARV (ITRN, ITRNN, IP) e tropismo viral R5. O uso do maraviroque está reservado às pessoas que vivem com HIV que já utilizaram vários esquemas ARV e não possuem outras opções terapêuticas¹¹³.

Estudo realizado na África evidenciou que a terceira linha de tratamento é eficaz nas pessoas que viviam com HIV e que não responderam a segunda linha de tratamento. E que os medicamentos utilizados como drogas de resgate que fazem parte da terceira linha da TARV, responderam positivamente após seis meses de uso com elevação dos linfócitos T CD4 e diminuição da carga viral plasmática¹¹⁴.

Um estudo realizado no Rio de Janeiro evidenciou que 98,5% das pessoas que vivem com HIV e que não responderam a TARV, apresentaram várias mutações associadas à resistência aos medicamentos. A mutação associada à resistência ao IP foi claramente observada neste estudo⁶¹. Outro estudo realizado na África demonstra que a necessidade do esquema de terceira linha é de 5%, mas as pessoas que vivem com HIV que mudaram para o esquema de terceira linha foram capazes de suprimir a carga viral¹¹⁵.

1.1.9 Falha virológica

A falha virológica caracteriza-se pelo aparecimento de carga viral plasmática detectável após seis meses do início da TARV ou após a modificação no esquema terapêutico, ou ainda, pela presença de carga viral detectável nas pessoas que se mantinham com carga viral indetectável no transcorrer do tratamento. A viremia detectável precisa ser confirmada através do exame de carga viral, tendo um

intervalo mínimo de quatro semanas. A falha virológica pode reduzir as chances de recuperação do sistema imunológico e aumentar as chances da doença se desenvolver, criar resistência aos ARV e o aparecimento de mutações que estão associadas à resistência ao tratamento. A resistência aos ARV é considerada a principal causa para o desenvolvimento de falha terapêutica^{3,116}.

Além da carga viral elevada, a contagem de linfócitos T CD4 deve ser considerada ao avaliar a necessidade de introdução de novos medicamentos. A diminuição na contagem de linfócitos T CD4, pode evidenciar um controle inadequado da viremia e maior risco para evolução da doença^{3,116}.

Vários fatores podem contribuir para o surgimento da falha terapêutica, dentre eles estão: a baixa adesão ao tratamento ARV; jovens e o início tardio na terapia ARV; potência virológica insuficiente, ou seja, esquema ARV inadequado contendo apenas uma classe de ARV; fatores farmacológicos que estão relacionados a formas inadequadas na administração dos ARV como a quebra dos comprimidos; a interação medicamentosa e os erros de prescrição que levam a má absorção ou a eliminação acelerada do ARV. Na presença de resistência viral o portador não responde à terapêutica, pois o HIV é resistente aos medicamentos prescritos^{3,4}.

O surgimento de vírus resistentes aos medicamentos ARV limita a efetividade do tratamento^{48,94}. Estudo realizado na Ásia evidenciou que a prevalência de mutações associada à resistência viral em pessoas que vivem com HIV que tiveram falência aos ARV de primeira linha, variou de 87 a 95%, com 50 a 64% de mutações¹¹⁰.

Detectar a resistência genotípica (mutações do HIV) nas pessoas que vivem com HIV em uso de TARV, possibilita a troca de esquemas ARV com resistência identificada, propicia o uso de fármacos ativos por períodos prolongados, evita troca desnecessária de ARV, evita toxicidade desnecessária de fármacos inativos, economiza custos relacionados às trocas de fármacos e promove noções mais realistas do desempenho do tratamento futuro¹¹⁷.

A resistência aos fármacos é o motivo mais comum na falha do tratamento e tem sido descrita para todos os medicamentos ARV. Este representa um grave problema de saúde pública. Os subtipos de HIV diferem na sequência de mutações que levam à resistência aos medicamentos e alguns polimorfismos que ocorrem naturalmente podem modular a resistência¹¹⁸. Estudo realizado em Itajaí (SC)

evidenciou que a resistência aos HAART foi de 18,4% em pessoas que apresentavam infecção recente, destes 7,8% apresentavam resistência aos antirretrovirais da classe ITRN, 5,2% apresentavam resistências aos ITRNN e 5,2% apresentavam resistência aos IP⁵⁸.

Identificar a falha virológica precocemente e adequar previamente o novo tratamento, torna-se fundamental para evitar graves consequências, como o progresso da doença e o acúmulo de mutações associadas à resistência aos TARV e, conseqüentemente, perda de futuras opções terapêuticas²².

1.1.10 Genotipagem e fenotipagem

A genotipagem do HIV consiste na obtenção do resultado da sequência de nucleotídeos do HIV nas pessoas que vivem com HIV que não respondem a TARV. Essas sequências compreendem o gene *pol* do HIV que codifica as enzimas protease e transcriptase reversa que são alvos dos ARV¹¹⁹.

A genotipagem inicia-se com o isolamento do RNA viral presente na corrente sanguínea do paciente, posterior transformação em DNA complementar (cDNA) por reação de transcrição reversa, seguido de amplificação do gene *pol* do HIV-1 pela técnica de reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction* - PCR) e sequenciamento do genoma do HIV do fragmento amplificado pela PCR¹¹⁹.

Após obtenção da sequência de DNA, é comparado o gene e suas proteínas resultantes do protótipo viral padrão, sem mutações relacionadas à resistência aos ARV. A presença de polimorfismo genético é indicada notadamente aos que se relacionam com resistência aos ARV¹¹⁹.

A genotipagem evidencia a resistência aos medicamentos ARV e determina a presença de mutações genéticas no HIV-1, em relação à diminuição de susceptibilidade aos ARV. Portanto, a genotipagem possibilita maiores taxas de sucesso no tratamento ARV. A genotipagem é recomendada como padrão de atendimento nas diretrizes atuais de tratamento, especialmente para as pessoas que vivem com HIV que já realizaram tratamento prévio^{6,119}.

O teste de genotipagem está disponível pelo Sistema Único de Saúde (SUS) para a detecção de resistência aos ARV e apresenta como vantagem a possibilidade de escolher esquemas ARV com maior chance de supressão viral. Pode detectar mutações e presença de resistência aos ARV, evitar trocas

desnecessárias de ARV, evitar a toxicidade de ARV inativos e melhorar a relação custo-efetividade^{3,7}.

A genotipagem pré-tratamento é recomendada para as pessoas que vivem com HIV que tenham se infectado com um parceiro que esteja em uso atual ou prévio de TARV, para assim, detectar mutações associadas à resistência transmitida em gestantes infectadas, pessoas coinfetadas pelo HIV e HIV-TB, e em crianças que vivem com HIV²².

A fenotipagem mede a resistência direta de sensibilidade do vírus aos medicamentos ARV. Este teste é utilizado para determinar pela cultura a susceptibilidade do vírus aos ARV, porém, apresenta custo elevado em comparação a genotipagem. Os dados genotípicos podem ser complexos e sua interpretação requer conhecimento a respeito do impacto das mutações na sensibilidade aos fármacos. Um ensaio fenotípico pode ser útil quando o paciente possui vírus com padrões genéticos complexos ou quando o perfil de resistência de mutações para um medicamento em particular não é bem caracterizado⁶.

A fenotipagem também pode ser realizada por fenotipagem virtual, que consiste em um banco de dados (com mais de 30.000 fenótipos) que contém pares de amostras de genotipagem e fenotipagem. Na fenotipagem virtual o sistema informatizado procura no banco de dados à sequência mais próxima da sequência genômica testada. Cada sequência do banco de dados tem um resultado de resistência fenotípica. Esse resultado é atribuído ao paciente testado e para tanto se fornece o resultado da fenotipagem no mesmo formato de um resultado de fenotipagem realizada em laboratório⁷.

A fenotipagem virtual apresenta como vantagem a simplicidade na sua realização, pois trata-se de um teste de genotipagem incorporada a um banco de dados. Sendo mais rápida e com menor custo em relação a um ensaio fenotípico realizado em laboratório. Além disto, a fenotipagem virtual avalia o efeito de hipersensibilidade evidenciada pela combinação de muitas mutações selecionadas. Contudo, a fenotipagem virtual apresenta como limitação poucas informações referentes a novos fármacos e subtipos virais não B, também por se tratar de medida indireta de susceptibilidade fenotípica⁷.

Os testes de predição de resistência, fenotipagem e genotipagem são importantes para a prática clínica. O genótipo é mais fácil e simples de executar, e o fenótipo pode explicar e prever algumas falhas no tratamento ARV. Além disso, a

fenotipagem é indispensável para identificar mutações associadas à resistência na terapêutica escolhida⁵.

Luz e colaboradores mostraram que ao identificar pessoas com resistência primária pela genotipagem, o profissional de saúde pode prescrever um regime terapêutico com altas probabilidades de sucesso. Com isso, há redução de custos com a doença, pois aumenta a sobrevivência das pessoas que vivem com HIV e reduz gastos com esquemas farmacológicos inadequados e que apresentam resistência viral¹²⁰.

A infecção pelo HIV não possui cura, embora o uso do TARV tenha por objetivo suprimir a viremia plasmática, a epidemia da infecção é um grave problema de saúde pública. Em todo o mundo vários setores visam procurar estratégias para reduzir a transmissão viral e progressão da doença, para melhorar a assistência a pessoa que vive com HIV¹²¹.

Dentre as estratégias realizadas estão incluídas o tratamento de pré-exposição e pós-exposição para os grupos de risco, e o uso do TARV para todas as pessoas que vivem com HIV. Contudo, observa-se que as mutações associadas à resistência são cada vez mais evidentes¹⁸.

O presente estudo se propôs a identificar os subtipos circulantes na região sul de Santa Catarina e o perfil de mutações associadas à resistência. Este estudo apresenta grande relevância para o serviço de saúde, pois a partir das genotipagens é possível adequar esquemas terapêuticos das pessoas que vivem com HIV que apresentavam resistência a TARV. Outro ponto importante é a contribuição para a comunidade científica com a atualização de dados referentes ao genótipo e ao fenótipo viral, visto que não há estudos desta magnitude na região sul do Brasil. Além disso, os dados podem auxiliar na assistência da pessoa que vivem com HIV, a fim de melhorar o serviço prestado com novas informações. E assim, as pessoas podem conhecer melhor sobre a sua doença, bem como as medidas para evitar a transmissão do HIV para indivíduos susceptíveis e, ainda, sobre a importância do uso do preservativo em casais soroconcordantes para evitar a transmissão das mutações.

Este estudo salienta para a importância da genotipagem antes do início do TARV, pois com esta medida é possível identificar precocemente a presença de mutações associadas a resistência antes da terapia inicial. Desta forma, garante-se a prescrição correta da terapêutica, bem como gastos desnecessários com

esquemas não efetivos e decorrentes das complicações causadas pela enfermidade, como o aparecimento de doenças oportunistas e internações resultantes destas complicações.

Portanto, justifica-se a inexistência do perfil geno(feno)típico na região em estudo, em que se desconhece as cepas virais circulantes e o perfil de resistência aos ARV nos pacientes atendidos no sul de Santa Catarina. Apesar da indicação da genotipagem nas situações supracitadas, há poucos pacientes que tenham realizado o teste de genotipagem.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar o genótipo viral e avaliar o perfil de resistência à terapia antirretroviral e a presença de mutações com base nos resultados de genotipagem e fenotipagem virtual do HIV em adultos que vivem com HIV em municípios da região sul de Santa Catarina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar as características epidemiológicas e clínicas das pessoas que vivem com HIV.
- Determinar o genótipo viral das pessoas que vivem com HIV e avaliar a susceptibilidade aos antirretrovirais.
- Identificar o fenótipo viral em pessoas que vivem com HIV com presença de cepas resistentes aos antirretrovirais.
- Verificar o esquema terapêutico atual, adesão ao tratamento e possível falha terapêutica em pessoas que vivem com HIV.
- Comparar as pessoas que vivem com HIV com e sem resistência antirretroviral quanto ao tempo de infecção, uso e tempo de uso de HAART, forma de aquisição do HIV e dados comportamentais.
- Comparar o perfil de resistência aos antirretrovirais nas pessoas que vivem com HIV, virgens de tratamento e após seis meses de terapia antirretroviral.

3. MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo epidemiológico com delineamento transversal.

3.2 LOCAL DE ESTUDO

Este estudo foi desenvolvido no Centro de Atendimento Especializado em Saúde (CAES) do Município Tubarão, Santa Catarina. O CAES é um centro de referência no atendimento de pessoas que vivem com HIV/Aids e doenças infecciosas como a tuberculose e hanseníase. Atende pacientes dos 18 municípios que integram a Amarel: Armazém, Braço do Norte, Capivari de Baixo, Grão Pará, Gravatal, Imaruí, Imbituba, Jaguaruna, Laguna, Pedras Grandes, Pescaria Brava, Rio Fortuna, Sangão, Santa Rosa de Lima, São Ludgero, São Martinho, Treze de Maio e Tubarão.

3.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO E AMOSTRAGEM

A população deste estudo foi composta por pessoas que vivem com HIV, cadastradas e atendidas no CAES de Tubarão, Santa Catarina. O cálculo da amostra foi realizado com auxílio do programa *Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health* (OpenEpi), versão 2.3.1. Considerando o total de 1.417 pessoas cadastradas que vivem com HIV, uma frequência esperada do desfecho de 50%, margem de erro de 1%, nível de confiança de 95% e erro alfa de 5%, a amostra mínima necessária ao estudo foi de 303 pessoas. Foi realizado um processo de amostragem por conveniência com base na lista de pessoas que utilizam o serviço, agendados para a coleta trimestral de contagem de linfócitos T CD4/CD8 e carga viral.

3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram inclusos no estudo as pessoas que vivem com HIV, maiores de 18 anos, atendidos no CAES que apresentaram interesse em participar da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foram excluídos do estudo as pessoas que vivem com HIV não foi possível o acesso venoso para coleta das amostras biológicas.

3.5 COLETA DOS DADOS

Os dados da pesquisa foram coletados no período de 19 de outubro de 2015 a 12 de julho de 2017.

3.5.1 Etapas metodológicas

A Figura 4 demonstra as etapas metodológicas que foram seguidas, durante a coleta de dados.

3.5.1.1 Entrevista

Após a aceitação em participar da pesquisa e a anuência dada mediante assinatura do TCLE, a entrevista foi realizada por pesquisadores treinados para a coleta de dados epidemiológicos (Apêndice A). Os entrevistadores foram treinados pela pesquisadora responsável para padronização quanto a forma de conduzir a entrevista. Os entrevistadores foram profissionais de saúde envolvidos no projeto de pesquisa, sendo: quatro enfermeiros, uma médica, um educador físico, e um bioquímico. Foram realizadas reuniões para discussão das questões e a maneira de conduzi-las uniformemente. Semanalmente a equipe do estudo avaliou as entrevistas realizadas, comparando os dados coletados com as informações obtidas dos prontuários médicos.

Para se avaliar a adesão dos participantes quanto a TARV, foi empregado o questionário de Moriski-Green, que consiste em quatro perguntas. Duas ou mais questões afirmativas foram consideradas como não adesão.

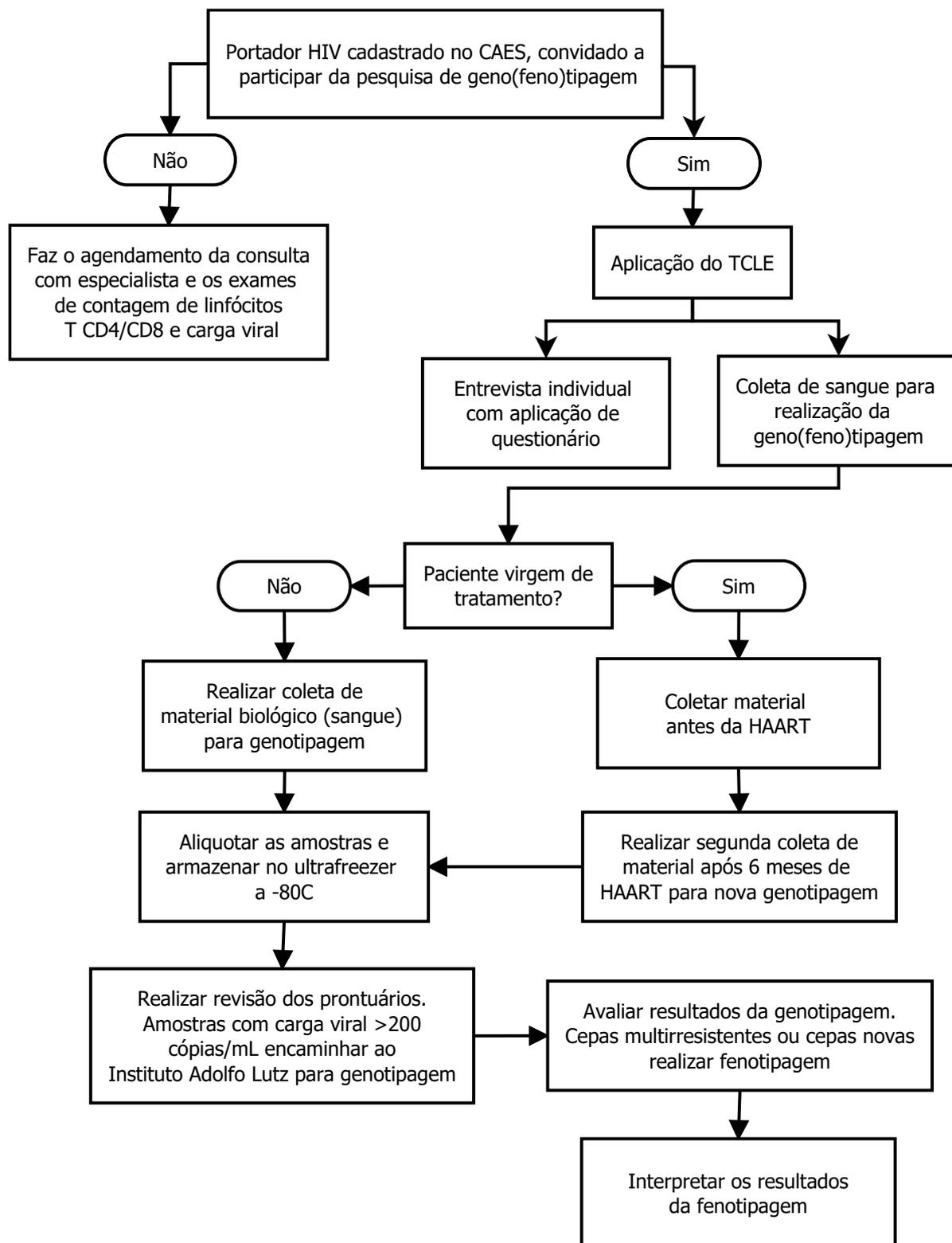


Figura 4 - Etapas metodológicas.

CAES - Centro de Atendimento Especializado em Saúde, HAART - Terapia antirretroviral altamente ativa, TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.5.3 Revisão dos prontuários

Foi realizada revisão dos prontuários do CAES para inclusão de variáveis adicionais ao estudo, como o esquema terapêutico, CD4, carga viral e falha virológica prévia (Apêndice A).

3.5.4 Genotipagem

Foram coletados 8mL de sangue adicionais (com EDTA K₂ ou K₃) por ocasião dos exames de rotina no serviço para execução da genotipagem, a fim de identificar o subtipo viral e o perfil de sensibilidade e/ou resistência aos ARV. Foram encaminhadas para genotipagem somente as amostras que apresentaram carga viral plasmática superior a 200 cópias/mL¹²².

Após a coleta, a amostra foi centrifugada a 1100rpm por 15 minutos e o plasma foi transferido para um tubo secundário utilizando ponteiras novas com filtro de 200-1000µL, livres de DNases e RNases, e acondicionado em tubos de microcentrífuga de 1,5mL. As amostras devidamente identificadas foram armazenadas em ultrafreezer -80°C e a execução da genotipagem foi realizada no setor de genotipagem do HIV no Instituto Adolfo Lutz em São Paulo (SP). Também foram incluídas no estudo as genotipagens realizadas pelo próprio serviço, sendo estas realizadas pelo Centro de Genomas em SP.

As amostras que apresentaram carga viral não detectável ou menor que 200 cópias/mL, não foram encaminhadas para realização da genotipagem. Nestas amostras não é possível realizar este exame, pois não se observa quantidades significativas de HIV no plasma, apenas intracelularmente. Nestes casos, associou-se os resultados de carga viral indetectável ou menor que 200 cópias/mL como sendo resposta adequada à terapia ARV.

A genotipagem iniciou-se com o isolamento do RNA viral da amostra de plasma do paciente. Amostras com carga viral detectável menor que 1.000 cópias/mL foram submetidas à extração de RNA com o kit de isolamento do RNA viral (QIAamp Viral RNA Kit) da Qiagen (Qiagen Inc., Hilden, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante.

Em um tubo de microcentrífuga de 1,5mL foram adicionados 560µL do Tampão AVL/RNA carreador e 140µL de amostra de plasma, agitou-se por 15

segundos e foi incubado a temperatura ambiente por 10 minutos. Após o período de incubação foi adicionado 560µL de etanol 96-100% no tubo. A mistura (630µL) foi transferida para uma coluna de sílica acoplada ao tubo coletor A e foi centrifugada a 6.000 x g por 1 minuto. O tubo coletor A foi descartado e novamente 630µL foi transferido para o tubo coletor B centrifugado a 6.000 x g por 1 minuto. O tubo coletor B foi descartado e a coluna de sílica acoplada ao tubo coletor C. Cuidadosamente, foram adicionados 500µL de solução de lavagem tampão AW1 e novamente foi realizada a centrifugação a 6.000 x g por 1 minuto. Após esta etapa, o tubo coletor C foi descartado e a coluna de sílica transferida para novo tubo coletor D, onde cuidadosamente foram adicionados 500µL de solução de lavagem tampão AW2 e centrifugação a 20.000 x g por 3 minutos. Após esta etapa, o tubo coletor D foi descartado e a coluna de sílica foi acoplada em um novo tubo de 1,5mL para eluição. Adicionou-se 60µL de AVE para eluição do RNA viral. Incubou-se durante 1 minuto a temperatura ambiente e centrifuga-se a 6.000 x g por 1 minuto. O RNA viral foi armazenado a -80°C.

Amostras com carga viral detectável superior a 1.000 cópias/mL foram submetidas à extração automatizada na plataforma *m2000sp* da *Abbott* (*Abbott Park*, Illinois, U.S.A.), utilizando o kit de extração *mSample Preparation System* (Promega, U.S.A.) de acordo com as instruções do fabricante. Basicamente, os reagentes do sistema de preparação de amostra *mSample Preparation System* capturam os ácidos nucleicos através das micropartículas magnéticas e lavam as partículas para remover componentes não ligados da amostra. Os ácidos nucleicos ligados às micropartículas magnéticas foram eluídos e transferidos para uma placa de 96 cavidades profunda, estando prontos para a amplificação.

3.5.4.1 Reação de Transcrição Reversa (RT) para a obtenção do DNA complementar (cDNA)

A RT foi realizada utilizando-se hexanucleotídeos randômicos adquiridos da *Invitrogen Life Technologies* (USA) que foram utilizados para síntese de cDNA. Uma alíquota de 10µL de RNA foi adicionada a mistura da reação. Esta mistura continha iniciador randômico, 10mM de desoxinucleotídeos trifosfatos (dNTPs) (*Invitrogen*, USA), 50 mM Tris-HCl pH 8,3, 75 mM KCl, 3mM MgCl₂ (*Invitrogen*, USA), 0,1M dithiothreitol (DTT) (*Invitrogen*, USA), 10U de inibidor de RNase

(Invitrogen, USA) e 200U de Superscript III (Invitrogen, USA) para um volume final de reação de 20 μ L. A mistura contendo RNA, água, DnTPs e hexamêros foi aquecida a 65°C por 5 minutos e posteriormente resfriada em gelo por 5 minutos. Na etapa posterior, foi adicionada a enzima e a mistura foi incubada a 25°C por 5 min. A RT foi realizada a 50°C por 1 hora, seguida de inativação a 70°C por 15 minutos. O cDNA foi armazenado a -20°C.

3.5.4.2 Amplificação da Polimerase do HIV-1 (pol)

Para a amplificação da região da polimerase do HIV-1 (posição 2147-3338 relativa ao HXB2), foram utilizados 5 μ L do cDNA adicionando-se a mistura de PCR contendo Tampão 10X; 200mM Tris-HCl pH 8,4; 500 mM KCl; 50Mm MgCl₂; 10Mm de DNTP; 10 μ M iniciador codificador (k1); 10 μ M iniciador molde (K2); 5U de Taq DNA polimerase e água livre de DNase e RNase (Invitrogen, USA) para volume final de 50 μ L. A amplificação foi realizada com uma etapa de desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguida por 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos, 72°C por 2 minutos e extensão final de 72°C por 10 minutos. Essa reação permitiu a obtenção de um fragmento de 1,2kb do gene da polimerase viral. O produto da primeira amplificação (2 μ l) foi submetido à segunda amplificação (Nested PCR) para a obtenção dos genes codificadores da protease (0,4Kb) e parte da transcriptase reversa (0,8Kb). As reações de PCR para a região da transcriptase reversa e protease ocorreram nas seguintes condições: Tampão 10X; 200 mM Tris-HCl pH 8,4; 500mM KCl; 50Mm MgCl₂; 10Mm de DNTP; 10 μ M iniciador codificador (F1); 10 μ M iniciador molde 10 μ M (F2); 5U Taq DNA polimerase; exceto os iniciadores para a região da protease: 10 μ M iniciador codificador (DP10) e 10 μ M molde (DP11), água livre de DNase e RNase (Invitrogen, USA) para volume final de 50 μ L. Para a região da transcriptase reversa foi realizado uma desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguidos de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 55°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto e 30 segundos, e extensão final de 72°C por 10 minutos. Para a região da protease foi utilizado uma desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguidos de 25 ciclos de 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto, e extensão final de 72°C por 10 minutos.

3.5.4.3 Visualização dos produtos amplificados

Após a amplificação a identificação do produto obtido pelo PCR foi realizada por eletroforese em gel de agarose a 1% em Tampão Tris Borato EDTA (TBE 0,5X) corado com brometo de etídeo. Os produtos da amplificação e o padrão de tamanho molecular de 100pb (Invitrogen, USA) foram aplicados em gel de agarose a 1% e submetidos a uma corrente constante de 100 volts por 40 minutos.

3.5.4.4 Reação de sequenciamento

Para a reação de sequenciamento utilizou-se DNA Sequencing Kit –Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction - ABI Prism® (*Applied Biosystems, USA*) e 5 a 10ng de DNA purificado. Para a região da protease, a reação foi realizada utilizando 2 µL de Big Dye versão 3.1 (*Applied Biosystems*), Tampão 2,5X, 50mM MgCl₂, Tris-HCl pH 9, 3.2 picomol/µl dos iniciadores DP16 e DP11 ou DP16 e DP17, para um volume final de reação de 20 µL. Para a região da transcriptase reversa foi utilizado 4µL de Big Dye versão 3.1 (*Applied Biosystems*), 2,5x tampão, 50mM MgCl₂, Tris-HCl pH 9, 3.2 picomol/µl dos iniciadores F1 e F2, para um volume final de reação de 20µL. Todas as reações de incorporação de rodaminas foram realizadas em placas de 96 poços (*Optical 96-well Reaction Plate, Applied Biosystems*) em 25 ciclos de 96°C por 10 segundos, 50°C por 5 segundos e 60°C por 4 minutos.

3.5.4.5 Purificação da reação de sequenciamento

Após a realização da reação de sequenciamento foi realizado uma etapa de purificação utilizando-se etanol absoluto e EDTA, para retirada dos nucleotídeos e iniciadores não incorporados. Os produtos purificados foram eletroinjetados e eletroeluídos em um analisador genético série 3500 da *Applied Biosystems* (Foster City, Califórnia, EUA) de acordo com as instruções do fabricante.

3.5.4.6 Análise das sequências obtidas

Após a obtenção das sequências foi realizada a análise. A interpretação do teste de genotipagem deve dar-se em conjunto com os dados clínicos e história prévia do uso de ARV pelas pessoas que vivem com HIV. As regras para interpretação das mutações mudam na medida em que novos conhecimentos são incorporados. Não há um consenso internacional de como interpretar mutações²¹. Para este estudo, considerou-se as resistências apontadas nos laudos das genotipagens e fenotipagens virtuais.

Nas pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento foram realizadas duas coletas para a realização da genotipagem, sendo uma na primeira realização de CD4 e carga viral, e a segunda após seis meses do início do tratamento, para verificar se ocorreram mutações associadas à resistência neste período.

3.5.5 Fenotipagem virtual

Para a realização da fenotipagem virtual utilizou-se o programa “*Max Planck institut informatik*”. Esta versão apresenta funcionalidade aprimorada de alinhamento. As previsões de resistência aos ARV (etravirine e rilpivirina), bem como as mutações, derivam de modelos de interpretação de resistência baseados no “*HIV-Grade*” que foi desenvolvido no contexto de outros sistemas de interpretação, incluindo o algoritmo *ANRS*, base de dados de *Stanford* e o *geno2pheno*, além de extensas bases de dados, incluindo vários genótipos, pares de dados genotípicos e fenotípicos, experiências clínicas e resultados de ensaios clínicos. Os modelos de resistência baseados em regras foram substituídos por modelos estatísticos assim que os pares de genótipo e fenótipo se tornaram disponíveis. Apenas as mutações que resultaram em resistência foram usadas para predição. Novos modelos para prever a exposição a ARV foram usados^{123,124}.

3.5.6 Análise filogenética

O alinhamento múltiplo das sequências nucleotídicas das amostras foi realizado no Programa ClustalW. A árvore filogenética foi inferida utilizando o método *Neighbor-Joining*. O teste de confiança adotado foi o *bootstrap* com 1.000

replicatas¹²⁵. As distâncias evolutivas foram calculadas usando o método *p-distance*. A análise foi conduzida no MEGA6 e envolveu 117 sequências nucleotídicas¹²⁶⁻¹²⁸.

3.6 VARIÁVEIS DO ESTUDO

A variáveis dependentes e independentes do estudo estão descritas no Quadro 1.

Quadro 1 - Variáveis do estudo.

(continua)

Variáveis	Tipo	Natureza	Utilização
Sexo	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Masculino 2 Feminino
Idade	Independente	Quantitativa contínua de razão	Data de nascimento transformado em anos
Cor de pele	Independente	Qualitativa nominal politômica	1 Branco 2 Não branco
Estado civil	Independente	Qualitativa nominal politômica	1 Casado 2 Separado 3 Viúvo 4 Solteiro 5 Amasiado
Escolaridade	Independente	Quantitativa discreta	Anos completos de estudo
Uso de preservativo pós diagnóstico HIV	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Usuário de drogas	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Compartilhamento de seringas e agulhas	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Usuário de drogas injetáveis	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Parceiro HIV+	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não

(continua)

Variáveis	Tipo	Natureza	Utilização
Orientação sexual	Independente	Qualitativa nominal politômica	1 Heterossexual 2 Homossexual 3 Bissexual
Tempo de infecção	Independente	Quantitativa contínua	Em meses
Forma de infecção	Independente	Qualitativa nominal politômica	1 Transfusão 2 Transmissão vertical 3 Acidental 4 Estupro 5 Sexual
Uso de antirretroviral	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Troca de antirretroviral	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Descuido de tomar o antirretroviral	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Esquecimento de ingerir os antirretrovirais	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Interrupção do tratamento se melhora do quadro clínico	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Interrupção do tratamento se piora do quadro clínico	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	1 Sim 2 Não
Esquema Terapêutico	Independente	Qualitativa nominal politômica	1. Abacavir – ABC 2. Amprenavir - APV 3. Atazanavir - ATV 4. Darunavir - DRV 5. Didanosina - DDI 6. Efavirenz - EFZ 7. Enfuvirtida - T-20 8. Estavudina - D4T 9. Fosamprenavir - FPV 10. Indinavir - IDV 11. Lamivudina - 3TC 12. Lopinavir + ritonavir - LPV/r 13. Nevirapina - NVP 14. Raltegravir - RAL

			15. Ritonavir - RTV 16. Saquinavir – SQ
--	--	--	--

(conclusão)

Variáveis	Tipo	Natureza	Utilização
			17. Tenofovir - TDF 18. Zidovudina + Lamivudina - AZT+3TC 19. Zidovudina - AZT
Início da terapia antirretroviral	Independente	Quantitativa contínua	Em meses
Doença oportunista	Independente	Quantitativa discreta	Doenças
Contagem de CD4/CD8 e Quantificação da carga viral	Dependente	Quantitativa discreta	Em valores absolutos
Genotipagem	Dependente	Qualitativa nominal politômica	Em valores absolutos
Fenotipagem virtual	Dependente	Qualitativa nominal politômica	Em valores absolutos
Genótipo Viral	Dependente	Qualitativa nominal policotômica	Tipos absolutos
Mutação	Dependente	Qualitativa nominal policotômica	Tipos absolutos
Resistência viral	Dependente	Qualitativa nominal politômica	Antirretrovirais
Grau de resistência	Dependente	Qualitativo nominal politômica	*Resistência baixa *Resistência Intermediária *Resistência alta

3.7 ANÁLISE DE DADOS

Os dados coletados foram digitados no programa EpiData versão 3.1 (*Epi Data Association, Odense, Denmark*). A análise estatística foi realizada com o auxílio do software SPSS (for Windows v 20 Chicago, IL, USA). Utilizou-se a epidemiologia descritiva para apresentação dos dados, sendo as variáveis qualitativas expressas em proporções e as variáveis quantitativas em medidas de tendência central e dispersão. Para se verificar a associação entre as variáveis de

interesse foi utilizado o teste de qui-quadrado de Pearson ou prova exata de Fisher quando apropriado para as variáveis categóricas e o teste de t de Student para a comparação entre médias. Nos casos distribuição não paramétrica foi empregado à estatística não paramétrica com aplicação do teste U de Wilcoxon-Mann-Whitney para comparação das medianas. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

3.8 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Sul de Santa Catarina, sob nº 1.206.709, CAAE 47126215.2.0000.5369, em 30 de agosto de 2015 (Anexo A). Assegurou-se a confidencialidade da informação quanto aos dados de identificação das pessoas que vivem com HIV, garantindo o anonimato. O TCLE foi entregue a todos os participantes que concordaram em participar do estudo. Todos os resultados dos exames de genotipagem e fenotipagem virtual foram inseridos nos prontuários das pessoas que viviam com HIV.

4. RESULTADOS

Foram recrutadas 630 pessoas que vivem com HIV para fazer parte do estudo. Entretanto, em uma pessoa não se conseguiu o acesso venoso, resultando em 629 participantes. Deste total, a média de idade foi de 43,1 (DP±12,3) anos, variando de 18 a 84 anos (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição das características sociais das pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Características	n (%)
Sexo	
Masculino	373 (59,3)
Feminino	256 (40,7)
Faixa-etária (em anos)	
18-29	101 (16,1)
29-39	158 (25,1)
39-49	169 (26,9)
49-59	146 (23,2)
>60	55 (8,7)
Cor da pele	
Branco	541 (86)
Não Branco	85 (13,5)
Ignorado	3 (0,5)
Estudo (em anos)	
Analfabeto	26 (4,1)
1-8	371 (58,9)
>9	232 (37)
Estado civil	
Casado	152 (24,2)
Solteiro	240 (38,2)
Amasiado	91 (14,5)
Viúvo	53 (8,4)
Divorciado/Separado	93 (14,8)

A principal forma de transmissão conforme relato das pessoas que vivem com HIV foi por relação sexual desprotegida (72,7%), seguido do acidente ou contato com sangue contaminado (4,5%). Dados referentes à orientação sexual,

evidenciaram que 81,2% eram heterossexuais, seguido por 15,6% homossexuais (Tabela 2).

Tabela 2 - Características comportamentais das pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Características comportamentais	n (%)
Principal forma de contágio	
Relação sexual desprotegida	457 (72,7)
Acidente/contato com sangue contaminado	28 (4,5)
Transmissão vertical	14 (2,2)
Transfusão de sangue	5 (0,8)
Estupro	1 (0,2)
Desconhecem a forma de contágio	124 (19,7)
Orientação sexual	
Heterossexual	511 (81,2)
Homossexual	98 (15,6)
Bissexual	11 (1,7)
Não responderam	9 (1,5)
Uso de Drogas	
Nunca usou	389 (61,8)
Já usou/usa	240 (38,2)
Usou droga injetável	
Sim	45 (7,2)
Não	584 (92,8)
Compartilha seringas e agulhas	
Sim	40 (6,4)
Não	589 (93,6)
Após diagnóstico compartilha seringas e agulhas	
Sim	5 (0,8)
Não	623 (99,0)
Às vezes	1 (0,2)
Parceiro com HIV	
Sim	192 (30,5)
Não	430 (68,4)
Não responderam	7 (1,1)
Após diagnóstico usa preservativo	
Sim	390 (62,0)
Não	165 (26,2)
Às vezes	72 (11,4)

Das 629 pessoas com HIV em estudo, 554 (88,1%) faziam uso de ARV, e 75 (11,9%) que não faziam uso da terapia ARV, 60 eram virgens de tratamento, ou seja, não iniciaram o tratamento farmacológico, pois descobriram recentemente a doença. Dentre as pessoas que vivem com HIV em uso de TARV, 253 (40,2%) já realizaram a troca do esquema terapêutico prescrito. A boa adesão à terapia ARV foi observada em 499 (79,3%) das pessoas que vivem com HIV.

Dados dos exames laboratoriais das pessoas que vivem com HIV evidenciaram que 18% destas pessoas apresentavam CD4 menor que 200 células/mm³ e 19,9% apresentavam carga viral maior de 1000 cópias/mL (Tabela 3).

Tabela 3 - Dados dos exames laboratoriais das pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Exames laboratoriais	n (%)
Linfócitos T CD4 (células/mm³)	
<200	113 (18,0)
200-499	204 (32,4)
>500	311 (49,4)
Dados ausentes	2 (0,2)
Carga Viral (cópias/mL)	
<200	466 (74,1)
200 – 999	38 (6,0)
≥1000	125 (19,9)
Genotipagem prévia	
Sim	25 (4,0)
Não	604 (96,0)

Relacionado à terapêutica utilizada, evidenciou-se que 333 (52,9%) fazia uso do esquema ARV contendo dois IRTN e um IRTNN, 52 (8,3%) faziam uso do de esquemas contendo dois IRTN e um IP, e 147 (23,4%) faziam uso de esquemas diferenciados contendo mais classes de ARV e/ou mais que três ARV, como pode ser observado Tabela 4.

Tabela 4 - Dados dos esquemas terapêuticos das pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Esquemas Terapêuticos	n (%)
2 ITRN + ITRNN	341 (62,7)
2 ITRN + IP	88 (16,2)
2 ITRN + 2 IP	37 (6,8)
IP + IRTN	26 (4,8)
2 IP + IRTN	15 (2,8)
IRTN + IP +II	4 (0,8)
2 IRTN + IP +II	6 (1,1)
2 IP + II + 2 IRTN	3 (0,5)
IRTNN + IP + 2 IRTN	3 (0,5)
IRTNN + 2IP +2IRTN	3 (0,5)
3 IRTN + IP + II+ IRTNN	4 (0,8)
IP + II	2 (0,4)
3 IRTNN + IP	3 (0,5)
IRTNN + IRTN	2 (0,3)
3 IRTN + 2 IP	4 (0,8)
IRTNN + IRTN + IP	2 (0,3)
1 IF + 3 IRTN + II + IP	1 (0,1)

ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de protease, II - inibidores de integrase, IF - Inibidores de fusão.

Dentre as 629 coletas realizadas com as pessoas que vivem com HIV, foi possível realizar 121 (18,4%) genotipagens. Destas 116 foram realizadas pelo Instituto Adolfo Lutz e 5 foram realizadas pelo serviço durante a pesquisa. Os exames de genotipagens evidenciaram que o principal subtipo circulante na região sul de Santa Catarina é o subtipo C (71,9%), seguido pelo subtipo B (18,2%), subtipo F (5,8%), subtipo B+C (2,5%) e duas formas recombinantes circulantes o CRF 02_AG (0,8%) e CRF 45_CPX (0,8%), conforme observado na Figura 5 e Apêndices B e C.

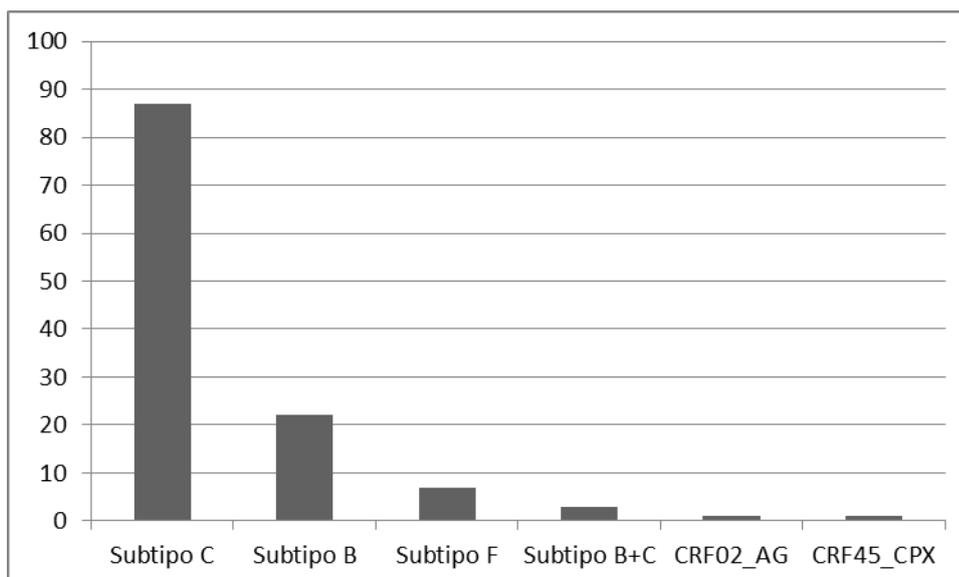


Figura 5 – Número absoluto dos subtipos do HIV-1 encontrados nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017 (n=121).

Os resultados das genotipagens evidenciaram que a mutação M184V foi a mais evidente nos ITRN. Na classe dos ITRNN as mutações mais marcantes foram K103N, seguida da K103KN. Nos IP a mutação principal foi a M46IM e na mutação menor a mais evidente foi L10V e a T74S, conforme ilustrado na Tabela 5 e Apêndices B e C.

Tabela 5 - Principais mutações do HIV-1 evidenciadas nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

(continua)

	Mutação ITRN	n (%)	Mutação ITRNN	n (%)	Mutação IP	n (%)
Principais Mutações	K70AEKT	1 (1,7)	K103N	20(26,4)	MAIOR	
	M184V	18 (30,5)	K103KN	6 (8,0)	M46IM	3 (10)
	K219KR	1 (1,7)	E138A	3 (3,9)	I47V	2 (6,8)
	M184MV	2 (3,4)	V179D	3 (3,9)	V32I	2 (6,8)
	K219EK	1 (1,7)	V106M	5 (6,7)	N88NS	1 (3,3)
	D67DN	1 (1,7)	A98G	6 (7,9)	M46I	1 (3,3)
	D67G	1 (1,7)	V108I	3 (3,9)	V82A	1 (3,3)
	K70KR	1 (1,7)	K101E	3 (3,9)	I50L	1 (3,3)
	L74V	1 (1,7)	Y188L	2 (2,7)	MENOR	
	T215F	2 (3,4)	P225H	2 (2,7)	L10V	3 (10)
	M41L	2 (3,4)	G190A	2 (2,7)	T74S	3 (10)

(conclusão)

Mutação ITRN	n (%)	Mutação ITRNN	n (%)	Mutação IP	n (%)
K65R	3 (5,0)	E138EG	1 (1,3)	K20I	2 (6,7)
L74I	1 (1,7)	V179DV	1 (1,3)	M46V	2 (6,7)
V75I	1 (1,7)	G190AG	1 (1,3)	L33I	1 (3,3)
K219E	1 (1,7)	K238T	1 (1,3)	K20T	2 (6,7)
T215N	1 (1,7)	G190GA	1 (1,3)	N83DN	1 (3,3)
D67N	6 (10,1)	K238N	1 (1,3)	A71T	1 (3,3)
T215Y	1 (1,7)	E138K	1 (1,3)	F53Y	1 (3,3)
K65KR	1 (1,7)	K101HKNQ	1 (1,3)	T74P	1 (3,3)
T69D	1 (1,7)	K103S	1 (1,3)	L33F	1 (3,3)
K70R	4 (6,8)	V108IV	1 (1,3)	Q58E	1 (3,3)
K219Q	2 (3,4)	Y181C	1 (1,3)		
A62V	2 (3,4)	Y181YH	1 (1,3)		
Y115F	1 (1,7)	H221Y	1 (1,3)		
T215TS	1 (1,7)	V108I	1 (1,3)		
T215P	1 (1,7)	V106IMV	1 (1,3)		
M184I	1 (1,7)	V179IV	1 (1,3)		
		K101P	1 (1,3)		
		V179VD	1 (1,3)		
		V179F	1 (1,3)		
		Y181YC	1 (1,3)		
		Y188L	1 (1,3)		

ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de protease.

Dentre os ARV a alta resistência foi observada na classe do IP no atazanavir/r e nelfinavir/r. Na classe dos ITRN foram evidenciados alta resistência nos ARV lamivudina e entricitabine, e na classe dos ITRNN os ARV com alta resistência foram nevirapina, seguido do efavirenz, como poder ser observado na Tabela 6 e Apêndices B e C.

Tabela 6 - Principais resistências aos antirretrovirais evidenciados nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Antirretrovirais	Potencial baixo	Resistência n (%)		
		Baixa	Intermediária	Alta
IP				
Atazanavir/r	5 (9,1)		1 (3,1)	2 (1,5)
Darunavir/r	1 (1,8)		1 (3,1)	
Lopinavir/r	2 (3,6)	1 (1,7)	1 (3,1)	
Fosamprenavir/r	4 (7,3)			1 (0,7)
Indinavir/r	5 (9,1)	1 (1,7)	1 (3,1)	
Nelfinavir/r	4 (7,3)	7 (12,1)		2 (1,5)
Tipranavir/r		1 (1,7)		1 (0,7)
Saquinavir/r	1 (1,8)	1 (1,7)		
ITRN				
Abacavir		14 (24,1)	5 (15,6)	6 (4,4)
Zidovudina	1 (1,8)	2 (3,5)	4 (12,5)	3 (2,2)
Emtricitabine			3 (9,4)	22 (16,0)
Lamivudina			3 (9,4)	24 (17,5)
Tenofovir		4 (6,9)	1 (3,1)	
D4T Stavudina	1 (1,8)	2 (3,5)		
DDI	5 (9,1)	3 (5,2)		
IRTNN				
Efavirenz	5 (9,1)	4 (6,9)	3 (9,4)	33 (24,1)
Etravirine	14 (25,4)	5 (8,6)	2 (6,3)	2 (1,5)
Nevirapine	4 (7,3)	1 (1,7)	5 (15,6)	35 (25,5)
Rilpivirina	3 (5,5)	12 (20,7)	2 (6,3)	6 (4,4)

ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de protease.

Os resultados das genotipagem e fenotipagem virtual evidenciaram algumas divergências em relação à presença de resistência, tanto nas pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento, como nos que estão em TARV e nos diferentes subtipos encontrados, conforme demonstrado nas Tabelas 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13.

Nas pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento, observou-se que o percentual de discordância foi maior na classe dos ITRNN (Tabela 7).

Tabela 7 – Comparação entre a genotipagem e a fenotipagem virtual das pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Classes TARVS	ARV	Concordante		Discordante		TOTAL n (%)
		GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	
ITRNN	Efavirenz	45 (81,8)	4 (7,3)		6 (10,9)	55 (100,0)
	Etravirine	49 (89,1)			6 (10,9)	55 (100,0)
	Nevirapina	46 (83,6)	3 (5,5)		6 (10,9)	55 (100,0)
	Rilpivirina	49 (89,1)			6 (10,9)	55 (100,0)
ITRN	Abacavir	55 (100,0)				55 (100,0)
	Didanosina	55 (100,0)				55 (100,0)
	Lamivudina	55 (100,0)				55 (100,0)
	Estavudina	55 (100,0)				55 (100,0)
	Tenofovir	52 (94,6)		2 (3,6)	1 (1,8)	55 (100,0)
	Zidovudina	55 (100,0)				55 (100,0)
IP	Atazanavir	54 (98,2)			1 (1,8)	55 (100,0)
	Darunavir	55 (100,0)				55 (100,0)
	Indinavir	53 (96,4)			2 (3,6)	55 (100,0)
	Lopinavir	54 (98,2)			1 (1,8)	55 (100,0)
	Nelfinavir	53 (96,4)			2 (3,6)	55 (100,0)
	Saquinavir	55 (100,0)				55 (100,0)
	Tipranavir	55 (100,0)				55 (100,0)
	Fosamprenavir	53 (96,4)			2 (3,6)	55 (100,0)

ARV - antirretroviral, ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de protease, GT - Genotipagem, FV - Fenotipagem virtual, R - Resistência, S - Sensibilidade.

Nas pessoas que vivem com HIV em uso de TARV, observou-se que o maior percentual de discordância entre a genotipagem e a fenotipagem virtual foi na classe dos ITRNN seguido do ITRN, e o maior percentual de concordância foi no grupo dos IP (Tabela 8).

Tabela 8 - Comparação entre a genotipagem e a fenotipagem virtual das pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Classes TARVS	ARV	Concordante		Discordante		TOTAL n (%)
		GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	
ITRNN	Efavirenz	26 (42,6)	26 (42,6)		9 (14,8)	61 (100,0)
	Etravirine	44 (72,1)			17 (27,9)	61 (100,0)
	Nevirapina	23 (37,8)	25 (41)		13 (21,3)	61 (100,0)
	Rilpivirina	45 (73,8)			16 (26,2)	61 (100,0)
ITRN	Abacavir	35 (57,4)	13 (21,3)		13 (21,3)	61 (100,0)
	Didanosina	50 (82,0)			11 (18,0)	61 (100,0)
	Lamivudina	36 (59,0)	22 (36,1)		3 (4,9)	61 (100,0)
	Estavudina	59 (96,7)			2 (3,3)	61 (100,0)
	Tenofovir	49 (80,3)	5 (8,2)		7 (11,5)	61 (100,0)
	Zidovudina	52 (85,2)	5 (8,2)		4 (6,6)	61 (100,0)
IP	Atazanavir	55 (90,2)			6 (9,8)	61 (100,0)
	Darunavir	59 (96,7)			2 (3,3)	61 (100,0)
	Indinavir	57 (93,4)			4 (6,6)	61 (100,0)
	Lopinavir	59 (96,7)			2 (3,3)	61 (100,0)
	Nelfinavir	53 (86,9)	1 (1,6)		7 (11,5)	61 (100,0)
	Saquinavir	59 (96,7)			2 (3,3)	61 (100,0)
	Tipranavir	60 (98,4)			1 (1,6)	61 (100,0)
	Fosamprenavir	59 (96,7)			2 (3,3)	61 (100,0)

ARV - antirretroviral, ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de protease, GT - Genotipagem, FV - Fenotipagem virtual, R - Resistência, S - Sensibilidade.

Nas pessoas que vivem com HIV pertencentes ao subtipo B, observou-se grande percentual de concordância entre a genotipagem e a fenotipagem virtual, principalmente na classe dos IP (Tabela 9).

Tabela 9 - Comparação entre a genotipagem e a fenotipagem virtual das pessoas que vivem com HIV que possuem o subtipo B no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Classes TARVS	ARV	Concordante		Discordante		TOTAL n (%)
		GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	
ITRNN	Efavirenz	14 (63,6)	8 (36,4)			22 (100,0)
	Etravirine	18 (81,8)			4 (18,2)	22 (100,0)
	Nevirapina	12 (54,5)	8 (36,5)		2 (9)	22 (100,0)
	Rilpivirina	18 (81,8)			4 (18,2)	22 (100,0)
ITRN	Abacavir	19 (86,5)	2 (9)		1 (4,5)	22 (100,0)
	Didanosina	22 (100,0)				22 (100,0)
	Lamivudina	20 (91,0)	2 (9)			22 (100,0)
	Estavudina	21 (95,5)			1 (4,5)	22 (100,0)
	Tenofovir	20 (91,0)	1 (4,5)		1 (4,5)	22 (100,0)
	Zidovudina	20 (91,0)	1 (4,5)		1 (4,5)	22 (100,0)
IP	Atazanavir	22 (100,0)				22 (100,0)
	Darunavir	22 (100,0)				22 (100,0)
	Indinavir	22 (100,0)				22 (100,0)
	Lopinavir	22 (100,0)				22 (100,0)
	Nelfinavir	22 (100,0)				22 (100,0)
	Saquinavir	22 (100,0)				22 (100,0)
	Tipranavir	22 (100,0)				22 (100,0)
	Fosamprenavir	22 (100,0)				22 (100,0)

ARV - antirretroviral, ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de protease, GT - Genotipagem, FV - Fenotipagem virtual, R - Resistência, S- Sensibilidade.

Nas pessoas que vivem com HIV pertencentes ao subtipo B+C, observou-se grande percentual de concordância entre a genotipagem e a fenotipagem virtual, principalmente na classe dos IP (Tabela 10).

Tabela 10 - Comparação entre a genotipagem e a fenotipagem virtual das pessoas que vivem com HIV, que possuem o subtipo B+C, no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Classes TARVS	ARV	Concordante		Discordante		TOTAL n (%)
		GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	
ITRNN	Efavirenz	1 (33,3)	1 (33,3)		1 (33,4)	3 (100,0)
	Etravirine	3 (100,0)				3 (100,0)
	Nevirapina	1 (33,3)	1 (33,3)		1 (33,4)	3 (100,0)
	Rilpivirina	2 (66,6)			1 (33,4)	3 (100,0)
ITRN	Abacavir	2 (66,6)	1 (33,4)			3 (100,0)
	Didanosina	3 (100,0)				3 (100,0)
	Entricitabine	2 (66,6)			1 (33,4)	3 (100,0)
	Lamivudina	2 (66,6)	1 (33,4)			3 (100,0)
	Estavudina	2 (66,6)			1 (33,4)	3 (100,0)
	Tenofovir	2 (66,6)			1 (33,4)	3 (100,0)
	Zidovudina	1 (33,4)			2 (66,6)	3 (100,0)
IP	Atazanavir	3 (100,0)				3 (100,0)
	Darunavir	3 (100,0)				3 (100,0)
	Indinavir	3 (100,0)				3 (100,0)
	Lopinavir	3 (100,0)				3 (100,0)
	Nelfinavir	3 (100,0)				3 (100,0)
	Saquinavir	3 (100,0)				3 (100,0)
	Tipranavir	3 (100,0)				3 (100,0)
	Fosamprenavir	3 (100,0)				3 (100,0)

ARV- antirretroviral, ITRN- Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN- Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP- Inibidores de protease, GT- Genotipagem, FV- Fenotipagem virtual, R- Resistência, S- Sensibilidade.

Nas pessoas que vivem com HIV pertencentes ao subtipo F, observou-se o percentual de discordância entre a genotipagem e a fenotipagem virtual, semelhante entre as três classes de TARV (Tabela 11).

Tabela 11 - Comparação entre a genotipagem e a fenotipagem virtual das pessoas que vivem com HIV que possuem o subtipo F no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Classes TARVS	ARV	Concordante		Discordante		TOTAL n (%)
		GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	
ITRNN	Efavirenz	6 (85,7)	1 (14,3)			7 (100,0)
	Etravirine	6 (85,7)			1 (14,3)	7 (100,0)
	Nevirapina	6 (85,7)	1(14,3)			7 (100,0)
	Rilpivirina	6 (85,7)			1 (14,3)	7 (100,0)
ITRN	Abacavir	5 (71,4)	2 (28,6)			7 (100,0)
	Didanosina	6 (85,7)			1 (14,3)	7 (100,0)
	Entricitabine	6 (85,7)			1 (14,3)	7 (100,0)
	Lamivudina	5 (71,4)	2 (28,6)			7 (100,0)
	Estavudina	6 (85,7)			1 (14,3)	7 (100,0)
	Tenofovir	7 (100,0)				7 (100,0)
	Zidovudina	7 (100,0)				7 (100,0)
IP	Atazanavir	6 (85,7)	1 (14,3)			7 (100,0)
	Darunavir	6 (85,7)			1 (14,3)	7 (100,0)
	Indinavir	6 (85,7)			1 (14,3)	7 (100,0)
	Lopinavir	6 (85,7)			1(14,3)	7 (100,0)
	Nelfinavir	6 (85,7)	1 (14,3)			7 (100,0)
	Saquinavir	6 (85,7)			1 (14,3)	7 (100,0)
	Tipranavir	7 (100,0)				7 (100,0)
	Fosamprenavir	7 (100,0)				7 (100,0)

ARV - antirretroviral, ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de protease, GT - Genotipagem, FV - Fenotipagem virtual, R - Resistência, S - Sensibilidade.

Nas pessoas que vivem com HIV pertencentes a CRF02_AG e CRF_CPX, observou-se apenas discordância com o ARV nelfinavir (Tabela 12).

Tabela 12 - Comparação entre a genotipagem e a fenotipagem virtual das pessoas que vivem com HIV que possuem CRF02_AG e CRF45_cpx no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Classes TARVS	ARV	Concordante		Discordante		TOTAL n (%)
		GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	
ITRNN	Efavirenz	2 (100,0)				2 (100,0)
	Etravirine	2 (100,0)				2 (100,0)
	Nevirapina	2 (100,0)				2 (100,0)
	Rilpivirina	2 (100,0)				2 (100,0)
ITRN	Abacavir	2 (100,0)				2 (100,0)
	Didanosina	2 (100,0)				2 (100,0)
	Entricitabine	2 (100,0)				2 (100,0)
	Lamivudina	2 (100,0)				2 (100,0)
	Estavudina	2 (100,0)				2 (100,0)
	Tenofovir	2 (100,0)				2 (100,0)
	Zidovudina	2 (100,0)				2 (100,0)
IP	Atazanavir	2 (100,0)				2 (100,0)
	Darunavir	2 (100,0)				2 (100,0)
	Indinavir	2 (100,0)				2 (100,0)
	Lopinavir	2 (100,0)				2 (100,0)
	Nelfinavir	1 (50,0)			1 (50,0)	2 (100,0)
	Saquinavir	2 (100,0)				2 (100,0)
	Tipranavir	2 (100,0)				2 (100,0)
	Fosamprenavir	2 (100,0)				2 (100,0)

ARV - antirretroviral, ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de protease, GT - Genotipagem, FV - Fenotipagem virtual, R - Resistência, S - Sensibilidade.

Nas pessoas que vivem com HIV pertencentes ao subtipo C, observou-se o percentual de discordância entre a genotipagem e a fenotipagem virtual na classe dos ITRNN seguido da classe do ITRN (Tabela 13).

Tabela 13 - Comparação entre a genotipagem e a fenotipagem virtual das pessoas que vivem com HIV que possuem subtipo C no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Classes TARVS	ARV	Concordante		Discordante		TOTAL n (%)
		GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	GT/FV-S n (%)	GT/FV-R n (%)	
ITRNN	Efavirenz	49 (59,8)	21 (25,6)		12 (14,6)	82 (100,0)
	Etravirine	66 (80,5)			16 (19,5)	82 (100,0)
	Nevirapina	49 (59,8)	20 (24,4)		13 (15,8)	82 (100,0)
	Rilpivirina	66 (80,5)			16 (19,5)	82 (100,0)
ITRN	Abacavir	62 (75,6)	8 (9,8)		12 (14,6)	82 (100,0)
	Didanosina	75 (91,5)			7 (8,5)	82 (100,0)
	Entricitabine	62 (75,6)			20 (24,4)	82 (100,0)
	Lamivudina	62 (75,6)	17 (20,7)		3 (3,7)	82 (100,0)
	Estavudina	80 (97,6)			2 (2,4)	82 (100,0)
	Tenofovir	72 (87,8)	4 (4,9)	3 (3,7)	3 (3,7)	82 (100,0)
	Zidovudina	75 (91,5)	5 (6,1)		2 (2,4)	82 (100,0)
IP	Atazanavir	75 (91,5)			7 (8,5)	82 (100,0)
	Darunavir	81 (98,8)			1 (1,2)	82 (100,0)
	Indinavir	77 (93,9)			5 (6,1)	82 (100,0)
	Lopinavir	79 (96,3)			3 (3,7)	82 (100,0)
	Nelfinavir	72 (87,8)		1 (1,2)	9 (11)	82 (100,0)
	Saquinavir	81 (98,8)			1 (1,2)	82 (100,0)
	Tipranavir	81 (98,8)			1 (1,2)	82 (100,0)
	Fosamprenavir	78 (95,1)			4 (4,9)	82 (100,0)

ARV - antirretroviral, ITRN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, ITRNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de protease, GT - Genotipagem, FV - Fenotipagem virtual, R - Resistência, S - Sensibilidade.

O presente estudo demonstrou que a resistência aos antirretrovirais foi maior no sexo feminino, nas pessoas que já trocaram o esquema ARV e que não apresentam boa adesão a terapêutica, conforme demonstrado na Tabela 14.

Tabela 14 - Principais associações relacionadas as resistências aos antirretrovirais, das pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

	Resistência		Valor de p*
	Sim n(%)	Não n(%)	
Adesão			<0,001
Sim	28 (37,3%)	47 (62,7%)	
Não	29 (74,4%)	10 (25,6%)	
Sexo			0,028
Masculino	30 (41,7)	42 (58,3)	
Feminino	27 (62,8)	16 (37,2)	
Troca antirretroviral			<0,001
Sim	30 (83,3)	6 (16,7)	
Não	27 (34,2)	52 (65,8)	
CD4			0,170
<200	26 (57,8)	19 (42,2)	
200 a 499	22 (50,0)	22 (50,0)	
>500	9 (34,6)	17 (65,4)	
Carga Viral			0,935
<200	3 (42,9)	4 (57,1)	
200 a 999	4 (50,0)	4 (50,0)	
>1000	50 (50,0)	50 (50,0)	
Idade			0,989
18-29	16 (47,1)	18 (52,9)	
29-39	15 (50,0)	15 (50,0)	
39-49	13 (54,2)	11 (45,8)	
49-59	11 (47,8)	12 (52,2)	
>60	2 (50,0)	2 (50,0)	

A resistência do HIV aos ARV apresentou associação estatisticamente significativa com maior tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV ($p < 0,001$) e menor contagem de linfócitos T CD4 ($p = 0,031$).

Dentre o total de participantes do estudo, 60 eram virgens de tratamento, dentre estes foi possível realizar 45 recoletas após 6 meses de uso de TARV. A não recoleta em 15 participantes ocorreu por situações de abandono de tratamento (8), óbito (3) ou transferências para outros serviços (4). Das 45 recoletas foi

possível realizar genotipagem em 3 amostras. Com isso, ressalta a boa adesão ao tratamento pelos indivíduos da amostra. Estes dados são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Análises genótípicas das pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento e após 6 meses de uso de TARV no sul de Santa Catarina, no período de 2015 a 2017.

Identificação	Carga viral	Subtipo	Mutações associadas à resistência (Virgem de Tratamento)			TARV com resistência	Carga Viral	Mutações associadas a resistência (Após seis meses de TARV)			TARV com resistência
			IRTNN	IRTN	IP			IRTNN	IRTN	IP	
611	4.625	C	A98G			EFV, ETR, NVP, RPV	6.977	A98G, Y181YC, Y188L			ABC, FTC, 3TC, EFV, ETR, NVP, RPV
529	49.859	B					10.720	K103N			EFV, NVP
40	168.563	F					234.279				L10V (menor)

EFV - Efavirenz, ETR - Etravirine, NVP - Nevirapina, RPV - Risperonavir, ABC - Abacavir, 3TC - Lamivudina, FTC - Fosamprenavir, IRTNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IRTN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - inibidores de protease.

A árvore filogenética identificou que 78% das pessoas que viviam com HIV apresentavam o subtipo C, 21,1% o subtipo B, 6,1% o subtipo F, 2,6% o subtipo B+C, 0,9% CRF02-AG e 0,9% CRF56-CPX.

A análise demonstrou que o subtipo B apresenta hipoteticamente um único ancestral comum, da mesma forma que o subtipo C, porém este apresenta uma distância evolutiva maior. É possível observar que o subtipo B+C apresenta ancestralidade com o subtipo C. Diferente do observado para os subtipos F e as formas recombinantes circulantes CRF02-AG e CRF45-CPX que apresentam ancestralidade com a família do subtipo B (Figura 6).

A análise envolveu 116 sequências nucleotídicas do gene *pol* do HIV do sul de Santa Catarina. A árvore de consenso de *bootstrap* inferida de 1.000 réplicas é formada para representar a história evolutiva das taxas analisadas¹²⁵. Ramificações correspondentes a partições reproduzidas em menos de 50% de réplicas de *bootstrap* são reduzidas. A porcentagem de árvores replicadas em que a taxa associada agrupada no teste de *bootstrap* (1000 réplicas) é demonstrado próximo às ramificações¹²⁵. As distâncias evolutivas foram calculadas usando o método *p-distance*¹²⁵ e estão nas unidades do número de diferenças de base por local. Todas as posições ambíguas foram removidas para cada par de sequências. Houve um total de 1.071 posições no conjunto de dados final. Análises evolutivas foram conduzidas em MEGA6¹²⁶.

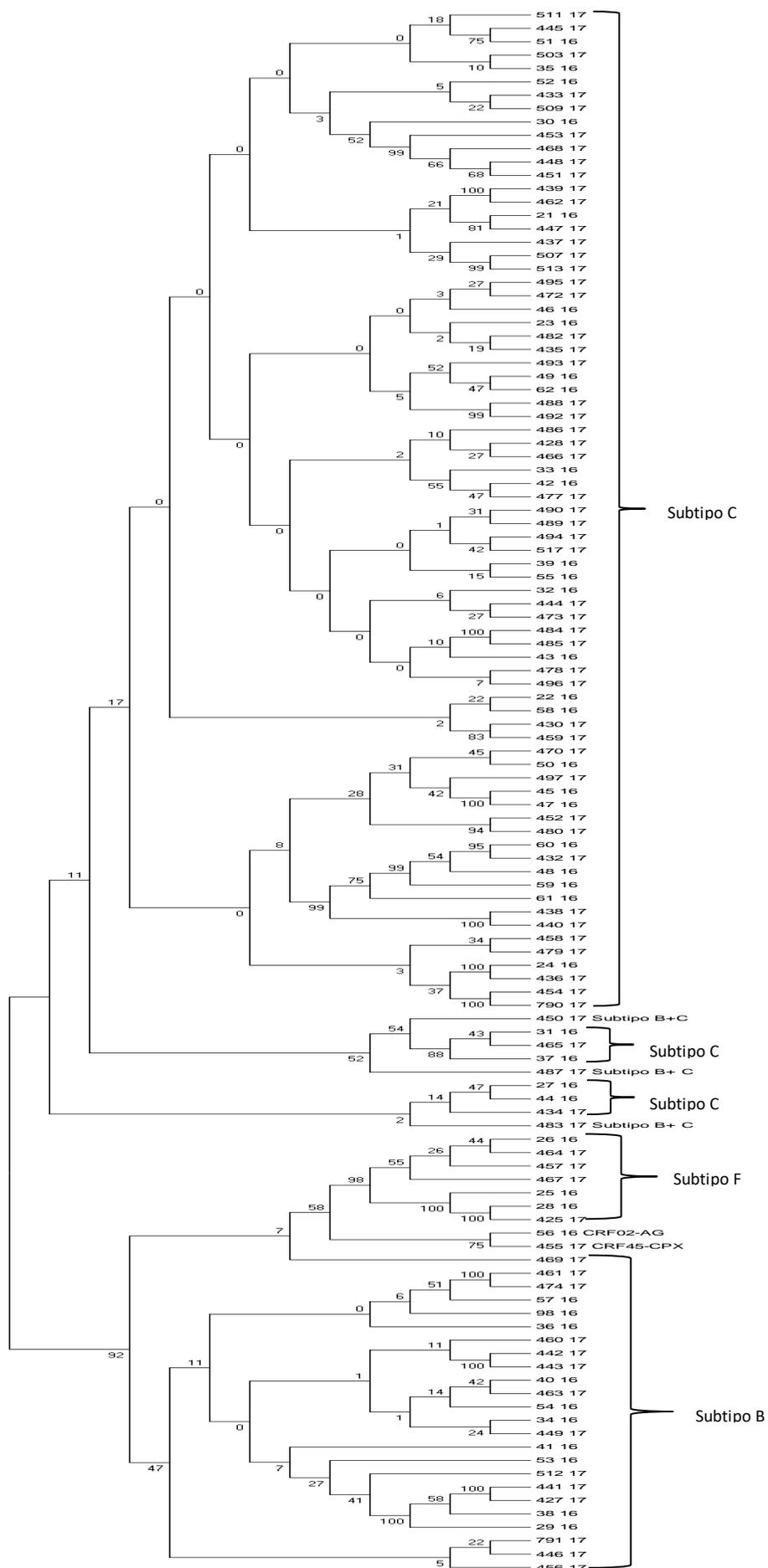


Figura 6 - Árvore filogenética construída pelo método Neighbor-Joining¹²⁷.

5. DISCUSSÃO

Este estudo descreve a epidemiologia molecular do HIV nas pessoas que vivem com HIV atendidas no CAES de Tubarão, sul de Santa Catarina, Brasil. Em termos de diversidade molecular o presente estudo corrobora com estudos anteriores que relatam o predomínio do subtipo C no Estado de Santa Catarina¹²⁹.

5.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS

Os dados do presente estudo referentes às características sociodemográficas das pessoas que vivem com HIV, são semelhantes aos dados encontrados por outros autores, predominando a infecção no sexo masculino, em adultos jovens, de cor branca e com baixa escolaridade^{20,130,131}.

Relacionado ao sexo masculino, desde o início da epidemia observa-se que os homens apresentam maior incidência da doença tanto no parâmetro mundial como no nacional^{20,130}. Esse fator pode estar relacionado ao comportamento sexual, ou seja, sexo desprotegido e com inúmeras parceiras. Outro fator que pode estar contribuindo para este dado é o aumento da incidência da doença entre os homens que fazem sexo com homens, porém esta incidência é menor quando comparado nos homens com comportamento heterossexual²⁰. Estudo realizado com universitários do Estado do Ceará evidenciou que o sexo masculino apresenta maior número de parcerias nas relações sexuais em comparação ao sexo feminino e muitos dos participantes do estudo não faziam uso do preservativo nas relações sexuais¹³². Outro estudo realizado em Florianópolis (SC) revelou maior número de pessoas que vive com HIV no sexo masculino¹³⁰.

Em relação à faixa etária houve predomínio das pessoas que vivem com HIV na faixa etária de 39 a 49 anos, o que difere dos dados nacionais, tendo maior prevalência na faixa etária de 20 a 34 anos²⁰. Estudo realizado em Florianópolis evidenciou prevalência na faixa etária de 35 a 50 anos, corroborando com os dados encontrados no presente estudo¹³⁰.

O presente estudo evidenciou a cor branca como mais prevalente em comparação ao não branco. Este dado é concordante com dados sobre a epidemia de aids no Brasil, havendo maior número de casos de HIV/aids entre pessoas de

cor branca. Contudo, os dados nacionais verificam que nos últimos 10 anos a doença apresentou queda de 21,9% entre brancos²⁰, com aumento da infecção pelo HIV nas pessoas não brancas. Isso pode estar relacionado à maior vulnerabilidade que a população negra/parda sofre, e esta vulnerabilidade aumenta à medida que fatores sociais e biológicos fazem parte do contexto da marginalização social¹³³. Na região sul de Santa Catarina há um predomínio maior de brancos devido à imigração no ano de 1877. O território foi desmembrado em 29 municípios com colonização principalmente de descendentes italianos, portugueses, germânicos, alemães e poloneses¹³⁴. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) evidenciaram que na região sul do Brasil aproximadamente 77% da população se declara branca e 23% não branca¹³⁵. Essa miscigenação de raças é a hipótese mais plausível para definir a prevalência da cor branca no sul do Brasil, por este motivo a maior incidência da infecção pelo HIV nesta região ocorre em pessoas da raça branca.

A maioria dos participantes do estudo apresentou escolaridade menor que oito anos de estudo, evidenciando a queda na escolaridade quando comparado ao início da epidemia, no qual os casos de aids ocorriam com maior frequência nas pessoas com maior escolaridade¹³⁶. Os dados nacionais evidenciam maior percentual de notificação de infecção pelo HIV/aids em pessoas com ensino médio completo, ou seja, com mais de oito anos de estudo. O aumento da escolaridade entre pessoas que vivem com HIV tem sido evidenciado nos últimos dez anos²⁰. Portanto, realidade discordante ao encontrado no presente estudo. Pessoas com menor escolaridade tem menor acesso à educação e informações a respeito da epidemia além de situação socioeconômica desfavorável, aumentando a vulnerabilidade para doenças infecciosas¹³⁷. A baixa escolaridade pode ser observada também nas pessoas de baixa renda o que dificulta o acesso ao serviço de saúde, comprometendo o aprendizado em relação a medidas protetivas e dificultando o diagnóstico precoce das doenças^{137,138}.

O presente estudo verificou que a maioria dos participantes era heterossexual, seguido dos homossexuais. Dados nacionais evidenciam um aumento da epidemia em homens que fazem sexo com homens, estes números são crescentes e aumentam as chances de contrair o HIV²⁰. Estudo realizado na China evidenciou que a transmissão sexual do HIV em homens que fazem sexo com homens aumentou e ultrapassou a transmissão entre heterossexuais. O

mesmo estudo revela ainda que a transmissão da doença é maior entre os homens heterossexuais quando comparado às mulheres heterossexuais⁸⁴. O número de parceiros sexuais sem o uso de preservativo e a prática sexual anal de homens que fazem sexo com homens estão ligados diretamente com a transmissão da doença. O presente estudo é condizente com a literatura científica de que a transmissão sexual do HIV é a principal forma de aquisição do vírus^{20,84,86,87}.

Estudo realizado no Camboja com usuários de drogas ilícitas evidenciou que muitos participantes da pesquisa relataram ter tido relação sexual enquanto estavam sobre o efeito de entorpecentes e apenas pequena parcela utilizou preservativo durante o sexo. Além da dificuldade de adesão ao sexo seguro, o compartilhamento de seringas e agulhas aumenta as chances de transmissão do HIV⁸⁵.

Este estudo mostrou que muitas pessoas que vivem com HIV fazem uso dos preservativos nas relações sexuais, porém um terço das pessoas estudadas não faz uso de preservativo em todas as relações sexuais. Estudo evidencia que um terço da população com HIV continua tendo relações sexuais sem o uso de preservativo. Essa prática contribui para o aparecimento de novas infecções, além de aumentar os riscos de reinfecções com novas cepas de HIV, transmitindo cepas mutantes que interferem no tratamento adequado da doença. O não uso do preservativo é um fator preocupante, pois interfere diretamente no controle da transmissão do HIV^{86,87}.

5.2 EXAMES LABORATORIAIS

Aproximadamente 50% das pessoas deste estudo apresentavam contagem de linfócitos T CD4 acima de 500 células/mm³. Isso revela que entre a amostra estudada há boa resposta imunológica ao tratamento ARV. Entretanto, 18% dos participantes estavam com contagem de linfócitos T CD4 menor que 200 células/mm³. O presente estudo evidenciou que aproximadamente 75% das pessoas apresentavam a carga viral plasmática menor que 200 cópias/mL e 20% superior a 1.000 cópias/mL.

A carga viral plasmática elevada, ou seja, maior que 1.000 cópias/mL pode ser explicada pela presença de pessoas recentemente diagnosticadas com a infecção pelo HIV. Muitas ainda não haviam iniciado a terapia ARV. Todavia, alguns dos

participantes também apresentavam carga viral plasmática elevada e estavam em uso de TARV, o que pode significar que alguns participantes poderiam não estar respondendo à terapêutica devido à resistência aos ARV ou uso incorreto do tratamento farmacológico. Estudo realizado em Florianópolis revelou que 71% das pessoas que vivem com HIV apresentavam linfócitos T CD4 maior ou igual a 350 células/mm³ e 85% carga viral plasmática indetectável¹³⁰. A comparação entre o presente estudo e o realizado em Florianópolis demonstra que mesmo tendo um percentual elevado de carga viral indetectável, existem pessoas que vivem com HIV que necessitam de especial atenção no controle da infecção.

5.3 RESISTÊNCIA EM VIRGENS DE TRATAMENTO

Dentre as pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento, em apenas três foi possível realizar nova genotipagem após seis meses de uso de TARV. Nessas pessoas, a viremia plasmática não foi suprimida e foi possível observar algumas mutações associadas à resistência aos ARV. Dos três pacientes analisados, em um não foi observado mutação associada à resistência. Na ausência de resistência, mas com viremia plasmática elevada, sugere-se a não adesão ao tratamento. Diversos ARV possuem efeitos adversos que faz com que os pacientes não tenham tolerância ao esquema posológico proposto, muitas pessoas que vivem com HIV podem apresentar alterações como: náuseas, vômitos, diarreia, alteração no paladar, anorexia, constipação, cefaleia, sonolência, insônia, dificuldade de concentração, exantema, entre outros^{117,139-141}.

Além disso, o fato da pessoa que vive com HIV possuir presença de mutação associada à resistência, o esquema terapêutico de primeira linha não é mais efetivo, exigindo troca para esquemas mais potentes. Sendo necessário a tomada de vários comprimidos, em diferentes horários e com alguns cuidados para evitar interações medicamentosas que podem dificultar a compreensão por parte do paciente. Como já foi demonstrado, a baixa escolaridade dificulta o entendimento do esquema posológica e a importância da adesão correta^{110,117,133}.

Alguns pacientes também não têm hábitos saudáveis e apesar do diagnóstico, continuam em uso de drogas, álcool e cigarro, má nutrição e sedentarismo, o que demonstra a falta de preocupação com o autocuidado, no entendimento do processo saúde doença^{85,142}. Para se detectar previamente as

mutações associadas à resistência, uma das estratégias é realizar teste de resistência a cada seis meses ou a cada ano, para confirmar a falha terapêutica sem que esta tenha comprometido o sistema imunológico^{110,117}.

Nas outras duas pessoas que vivem com HIV observou-se a presença de mutação e com isso a efetividade da TARV ficou comprometida, sendo necessária a troca do esquema ARV. É de suma importância orientar as pessoas que vivem com HIV sobre a importância da adesão a terapêutica e o acompanhamento no serviço especializado, evitando o aparecimento de doenças oportunistas e a imunossupressão. O surgimento e a disseminação de altos níveis de resistência aos ARV podem comprometer as estratégias lançadas para o controle da epidemia¹⁴³.

Observou-se na coleta em uma das pessoas que vive com HIV a presença de mutação associada à resistência antes do início do uso do TARV, sendo uma indicação de infecção por vírus mutante ou diagnóstico tardio¹¹⁰. Estudo realizado no Camboja demonstrou que a principal mutação encontrada nas pessoas que viviam com HIV, virgens de tratamento, era a K103N, o que resultava em resistência a nevirapina e ao efavirenz. Este dado corroborou com os dados encontrados no presente estudo. Todavia, o surgimento de mutações associadas à resistência ocorre rapidamente na classe ITRNN nas pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento. Entretanto, atenção especial deve ser dada a pessoa que iniciou recentemente o uso do TARV da classe ITRN, pois as mutações nesta classe também são relativamente comuns. Para tanto, os ensaios genotípicos pré-tratamento devem ser considerados, a fim de reduzir custos, otimizar a TARV e promover impacto positivo sob a morbidade e a mortalidade causada pela aids^{143,144}.

5.4 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

O uso de TARV pode ocasionar efeitos adversos e a não adesão ao tratamento culmina no insucesso terapêutico, e promove o desenvolvimento de mutações associadas à resistência. O aparecimento de resistência exige mudanças nos esquemas terapêuticos, além das cepas resistentes poderem ser transmitidas através da transmissão vertical, relação sexual, compartilhamento de seringas e

agulhas, levando a infecções já resistentes a primeira linha de tratamento, dificultando o manejo clínico dos pacientes¹⁴⁵.

O presente estudo evidenciou que a maioria das pessoas que vivem com HIV faziam uso do esquema de primeira linha de tratamento. Atualmente, toda a pessoa que vive com HIV deve iniciar o uso da TARV logo após o diagnóstico²². O início imediato da TARV combinada propicia melhor resposta no tratamento em termos de sobrevida e qualidade de vida, supressão viral e manutenção imunológica. O sucesso do tratamento ARV pode ser limitado pelo surgimento da resistência aos ARV e essa resistência pode ser transmitida a indivíduos recém-infectados. A resistência aos ARV é considerada um problema de saúde pública, pois pode comprometer a efetividade da TARV, contribuindo para o insucesso da terapia de primeira linha¹³⁷.

No presente estudo as pessoas que viviam com HIV que não estavam em uso da terapia de primeira linha pode ter ocorrido devido a presença de mutações associadas à resistência e que impedem a efetividade da TARV. Nestas circunstâncias, a troca da terapêutica é necessária para manter a carga viral plasmática suprimida. Vários fatores podem ter interferido na troca deste esquema, como a presença de reações adversas ocasionada pela medicação e o aparecimento de mutações associadas à resistência. Para tanto, a inserção recente dos ITRN na primeira linha de tratamento pode melhorar a resposta clínica da pessoa que vive com HIV, resultando na supressão da viremia e o sucesso do tratamento¹⁴⁶.

O uso da TARV foi identificado em 88,1% da população em estudo, e aproximadamente a metade dos participantes já haviam trocado o esquema ARV. A má adesão ao tratamento ARV foi observada em aproximadamente 21,0% dos entrevistados. O uso do ARV nas doses e horários prescritos é de fundamental importância para o sucesso do tratamento, para supressão da carga viral plasmática e manutenção dos níveis de linfócitos T CD4, com melhor garantia de resposta clínica satisfatória^{93,94,97}.

A resistência aos ARV foi maior entre pacientes sem boa adesão ao tratamento ou que já haviam realizado troca do esquema terapêutico. Diante disto, pode-se supor que a troca pode ser decorrente da falha virológica ou imunológica. A falha terapêutica interfere na prescrição desde a presença de resistência até reações adversas causadas pelo TARV. A não adesão ao tratamento aumenta as

chances de ocorrer mutações associadas à resistência, pois a cada pausa nas tomadas do ARV o ciclo reprodutivo do vírus é ativado, favorecendo a presença de mutações^{137,93,94}.

5.5 GENOTIPAGEM

Este estudo evidenciou a partir dos resultados das genotipagens que aproximadamente 72% dos subtipos circulantes da região sul de Santa Catarina pertenciam ao subtipo C, seguido do subtipo B com aproximadamente 18 %. Graf e colaboradores em estudo analisando genotipagens pertencentes a moradores dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, evidenciaram que mais de 50% dos estudados pertenciam ao subtipo C, seguido do subtipo B, corroborando com os dados encontrados no presente estudo¹²⁹. Embora, estes achados evidenciem maior frequência do subtipo C no sul do Brasil na epidemia do HIV, isso não significa que este subtipo esteja se disseminando em toda extensão territorial do país. Diversos estudos comprovam que o subtipo B é mais prevalente no Brasil¹⁴⁷⁻¹⁴⁹. Contudo, os dados encontrados revelam um crescente número de infecções pelo subtipo C do HIV no sul do Brasil. A entrada do subtipo C do HIV no sul do Brasil pode ser explicada pela existência de portos no litoral, que recebem navios estrangeiros. O sul do Brasil tem sua economia pautada no setor produtivo, com frequente comércio internacional. Assim, há grande fluxo de pessoas nesta região por causa de relações de exportação de produtos, turismo e rota da rodovia BR-101 que liga a região sul a outras regiões do Brasil e do Mercosul. Outra situação que deve ser levada em consideração em relação à transmissão e disseminação do subtipo C é que a região sul do Brasil possui região litorânea com muitas praias e assim atrai diversos turistas para feiras e eventos tradicionais, especialmente durante o carnaval. Nessas ocasiões, há um aumento no uso de álcool e drogas ilícitas, encontros sexuais, prostituição, elevando o risco de contaminação e disseminação do HIV.

Este estudo evidenciou ainda duas formas recombinantes circulantes a CRF02_Ag e CRF45_CPX, que circulam predominantemente na África Central e Ocidental, onde provavelmente tem sua origem. A CRF02_Ag é originária do subtipo G¹⁵⁰⁻¹⁵². Neste estudo demonstrou-se que 2,5% dos subtipos identificados eram B+C, isso pode ser explicado devido à recombinação inter-subtipos nos

subtipos B e C, ou seja, pela combinação de dois modelos distintos de RNA viral, contendo informações genéticas de ambos^{82,153}.

O presente estudo identificou diversas mutações associadas à resistência a partir da realização dos exames de genotipagem. As mutações M184V, D67N, K103N, K103KN, M46IM e I47V foram evidenciadas em maior destaque. A mutação M184V pode comprometer a eficácia da terapêutica em uso, influenciar no ciclo de replicação viral e comprometer o controle da viremia plasmática. Este mesmo estudo mostra que está mutação foi identificada em pessoas recentemente infectadas. A mutação K103N é decorrente do uso de efavirenz, o que pode gerar pouca atuação deste fármaco na capacidade de replicação viral¹⁵⁴. Vale ressaltar que o perfil de mutações associadas à resistência mostrou uma alta prevalência de M184V e K103N. Isto está de acordo com achados de outros pesquisadores e deve-se ao amplo acesso a terapia ARV na última década¹⁵⁵⁻¹⁵⁷. A mutação M184V pode diminuir a processividade da transcriptase reversa, a capacidade de iniciar reações de transcriptase reversa e a capacidade de participar na troca de modelos. Esta mutação causa alto nível de resistência a lamivudina^{156,158-159}.

Estudo realizado em Washington com casais verificou que a principal forma de contaminação no parceiro ocorreu por relação sexual desprotegida e 48% das mutações detectadas nos parceiros transmissores também foi encontrada no parceiro receptor¹⁶⁰. As mutações podem ser decorrentes do uso incorreto da TARV. O não uso de preservativo entre pessoas que vivem com HIV aumenta as chances de reinfecção por cepas mutantes, contribuindo para a resistência aos ARV.

Estudo realizado no norte do Brasil identificou as mutações M184V (80,1%) e D67N (25,5%) como as mais prevalentes entre as classes dos ITRN, e a mutação K103N (40,6%) mais prevalente na classe dos ITRNN, corroborando com os dados encontrados no presente estudo⁵⁹.

Dentre os ARV, o presente estudo demonstrou alta resistência na classe do IP no atazanavir/r e nelfinavir/r. Na classe dos ITRN foi evidenciada alta resistência a lamivudina e entricitabine, e na classe dos ITRNN foi à nevirapina seguido do efavirenz. A resistência ao TARV é um dos principais obstáculos na eficácia do tratamento ARV. A resistência à lamivudina e a entricitabine pode ser explicada pelo aparecimento da mutação M184V que foi evidente no presente estudo. Esta mutação exerce forte influência na eficácia destes ARV, ocasionando o aumento da

viremia. Estes fármacos fazem parte da primeira linha de tratamento da infecção pelo HIV, ou seja, são prescritos rotineiramente. Pessoas que vivem com HIV recentemente infectadas podem ter herdado a mutação associada à resistência a estes ARV e, como consequência, não terão a supressão da viremia plasmática¹⁶¹⁻¹⁶³.

Outra mutação importante evidenciada neste estudo foi a K103N que está associada à resistência dos ITRNN. Isto pode ter ocorrido pelo aumento do uso do efavirenz e da nevirapina nos últimos anos^{156,158}. Estudos evidenciam que as principais mutações encontradas a partir das genotipagens nas classes dos ITRN e ITRNN foram as mutações M184V e K103N, corroborando com os dados encontrados no presente estudo^{159,164,165}.

O acesso universal ao TARV e o monitoramento do tratamento acontecem no Brasil desde 1997. As diretrizes brasileiras recomendam os regimes baseados em ITRNN como primeira linha de tratamento desde o ano 2000. Isso pode ter influenciado nas resistências aos ITRNN^{166,167}. Todavia, as mutações associadas à resistência aos ARV despertam atenção sobre o uso ampliado destas medicações e sugere a possibilidade de se ter novas mutações cada vez mais resistentes aos ARV. Futuramente, pode não haver muitas opções terapêuticas adequadas para suprimir a viremia.

Para tanto, a realização da genotipagem nas pessoas virgens de tratamento poderia ser uma opção para prevenir a prescrição inadequada de ARV, reduzindo custos desnecessários com fármacos sem efetividade.

5.6 FENOTIPAGEM VIRTUAL

O presente estudo evidenciou algumas discordâncias quando comparadas a genotipagem com fenotipagem virtual. Essas discordâncias foram maiores nas que pessoas que vivem com HIV e que já estão em uso do TARV, do que entre pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento. Observou-se, ainda, que as pessoas que vivem com HIV que possuíam o subtipo B a discordância foi menor, em comparação com os subtipos C, F, B+C e as formas recombinantes circulantes. Estas discordâncias podem ser explicadas devido ao grande número de fenotipagens que fazem parte do banco de dados de Stanford derivados do subtipo B, que é o subtipo mais prevalente no mundo, o que difere da região sul do Brasil

onde o subtipo C é o mais encontrado. O subtipo B do HIV é comumente utilizado como consenso para gerar os resultados de fenotipagem virtual e este fator pode ser uma das explicações das discordâncias. Estudos evidenciaram diferentes graus de discordâncias entre diversos sistemas de interpretação no que se refere à resistência ARV em subtipos não-B^{154,145,168}. Diante do exposto, é reconhecido que mais sequências dos subtipos não-B são necessárias para que os bancos de dados sejam mais completos e permitam a comparação com a genotipagem.

Outro fator que pode estar relacionado com o grande percentual de discordância é que muitas genotipagens apresentam resultados com baixo nível de resistência, resistência intermediária e alta. Porém, nos resultados de fenotipagem virtual pode-se identificar apenas se há ou não a resistência ao ARV e este fato pode ter influenciado o resultado final.

Estudo realizado na Ásia concluiu que ocorreram discordâncias entre os resultados dos testes genotípicos e a fenotipagem virtual nas cepas do HIV para o subtipo CRF_AE¹⁴⁵. No presente estudo, nas pessoas que vivem com HIV virgens de tratamento o maior percentual de concordância ocorreu entre a genotipagem e a fenotipagem virtual na classe dos ITRN, e o maior percentual de discordância ocorreu na classe dos ITRNN. Nas pessoas que viviam com HIV e estavam em uso de TARV o maior percentual de concordância ocorreu na classe dos IP e o maior percentual de discordância ocorreu na classe dos ITRNN. Observou-se ainda, que as maiores discrepâncias ocorreram nas pessoas que vivem com HIV em tratamento. Este fator pode ser explicado devido as pessoas já fazerem uso do TARV e, assim, podem desenvolver um percentual maior de mutações associadas à resistência, principalmente quando não tem adesão adequada ao tratamento.

5.7 ANÁLISE FILOGENÉTICA

O presente estudo evidenciou a prevalência do subtipo C na região sul de Santa Catarina. A distribuição dos subtipos do HIV no Brasil, devido às suas dimensões continentais, é mais complexa quando comparado a outros países da América Latina. No Brasil encontramos diferentes subtipos em diferentes regiões do país. Especificamente na região sul foi observado aumento crescente no subtipo C^{56,169}. Estudo realizado em três Estados brasileiros identificou que Santa Catarina

apresentou uma prevalência de 42% do subtipo C, corroborando com os dados encontrados no presente estudo¹⁷⁰.

O HIV é caracterizado pela grande variabilidade genética, rápida evolução e grande diversidade. A recombinação genética contribui para a significativa variabilidade do HIV¹⁷¹. Estudo realizado no Brasil identificou que o subtipo C forma um grupo monofilico muito forte em comparação ao subtipo C de outras regiões do mundo, com a presença de aminoácidos específicos. Este mesmo estudo identificou um crescente número de mutações associadas à resistência secundária, sendo algumas sequências relacionadas ao subtipo C¹⁷². Este fator pode explicar a presença das mutações associadas à resistência no sul de Santa Catarina identificadas no presente estudo e as diferentes distâncias evolutivas observadas entre as amostras do subtipo C. Para tanto, a introdução do subtipo C do HIV no sul do Brasil pode ter ocorrido a partir de um evento isolado ou da mistura de cepas similares.

5.8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Este estudo apresenta como limitação a amostragem por conveniência que foi utilizada, pois os pacientes estudados foram recrutados no momento da coleta dos exames de rotina de CD4 e carga viral, isso limitou o estudo, pois não foi possível ter acesso a todas as pessoas que vivem com HIV cadastradas no serviço. Outro fator importante que limitou o estudo foi a não realização de busca ativa dos pacientes faltosos ou em abandono de tratamento, por determinação do serviço de saúde. O fato de muitas pessoas que vivem com HIV apresentarem carga viral indetectável impediu a realização do exame de genotipagem e de fenotipagem virtual que foi realizado com banco com dados secundários. Apesar disso, ressalta-se que a carga viral indetectável é o desfecho esperado no tratamento de pessoas que vivem com HIV.

Dentre os aspectos positivos do estudo foi o tamanho amostral, que foi expressivo para a região, além da identificação do genótipo circulante e a identificação das principais mutações associadas à resistência. Estes dados contribuem para o trabalho da equipe que presta assistência as pessoas que vivem com HIV, propiciando trocas de esquemas terapêuticos que estavam inadequados, bem como fomentar a comunidade científica com dados do sul do Brasil.

6. CONCLUSÃO

Este estudo conclui que a infecção pelo HIV foi maior em homens, brancos, com idade entre 39 a 49 anos e baixa escolaridade. A principal via de infecção pelo HIV foi por relação sexual e a mais prevalente em participantes heterossexuais.

A maior parte da amostra tinha contagem de linfócitos T CD4 >500 células/mm³ e a carga viral <200 cópias/ML, em uso de TARV de primeira linha, prioritariamente dois ITRN e um ITRNN. O principal subtipo circulante do HIV encontrado na região sul de Santa Catarina foi o subtipo C e as principais mutações associadas à resistência foram K103N e M184V, com resistência aos ITRNN - efavirenz e nevirapina.

A comparação entre a genotipagem e a fenotipagem virtual demonstrou que as discordâncias foram menores no subtipo B. A resistência foi maior nas pessoas que vivem com HIV do sexo feminino, que não apresentaram boa adesão ao TARV e que já haviam realizado troca do esquema terapêutico. A resistência também foi maior em pessoas com mais tempo de infecção pelo HIV e com baixa contagem de linfócitos T CD4.

A análise filogenética demonstrou que os subtipos B e C apresentavam um único ancestral comum, porém, o subtipo C apresentou uma distância evolutiva maior em comparação ao subtipo B.

6.1 PERSPECTIVAS FUTURAS

Este estudo apresenta como perspectiva futura a realização do teste de avidez que irá identificar se as pessoas que vivem com HIV na região do sul do Brasil são diagnosticadas na fase aguda ou na fase crônica da infecção. Além de contribuir para o desenvolvimento de ações vinculadas ao serviço de saúde com estratégias de promoção e prevenção do HIV.

Os dados encontrados serão socializados com as equipes de saúde que atendem esta população na região e com a comunidade científica, a partir da publicação de manuscritos e apresentação de temas livres em congressos com essa temática.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization [Internet]. Geneva: Aids. 2015. Acesso em 10/2/2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/>.
2. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983;220:868-71.
3. Ministério da Saúde [Internet]. Brasília: Manual técnico para diagnóstico da infecção pelo HIV. Acesso em 15/1/2016. Disponível em: http://www.pncq.org.br/uploads/2014/manual_tecnico_hiv_2014_final_pdf_p_31450.pdf.
4. Pahari S, Roy S, Mandal A, Kuila S, Panda S. Adherence to anti-retroviral therapy & factors associated with it: A community based cross-sectional study from West Bengal, India. *Indian J Med Res*. 2015;142(3):301-10.
5. Pattery T, Verlinden Y, Wolf H, Nauwelaers D, Van Baelen K, Mc Kenna P, et al. Development and performance of conventional HIV-1 phenotyping (antivirogram) and genotype-based calculated phenotyping assay (virco type HIV-1) on protease and reverse transcriptase genes to evaluate drug resistance. *Intervirology*. 2012;55(2):138-46.
6. Van Houtte M, Picchio G, Van Der Borgh K, Pattery T, Lecocq P, Bacheler L. A comparison of HIV-1 drug susceptibility as provided by conventional phenotyping and by a phenotype prediction tool based on viral genotype. *J Med Virol*. 2009;81(10):1702-9.
7. Centro de Genomas [Internet]. São Paulo: Carta Molecular. Acesso em 10/5/2016. Disponível em: www.centrodegenomas.com.br/arquivo/1/carta_molecular_n25.pdf.
8. Centers for Disease Control of Prevention [Internet]. Los Angeles: Pneumocystis pneumonia - Los Angeles. Acesso em 25/6/2016. Disponível em: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/june_5.htm.
9. Hymes KB, Cheung T, Greene JB, Prose NS, Marcus A, Ballard H, et al. Kaposi's sarcoma in homosexual men-a report of eight cases. *Lancet*. 1981; 2(8247):598-600.
10. Ministério da Saúde [Internet]. Brasília: História da Aids. Acesso em 25/6/2016. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/historia-da-aids>.
11. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, Shearer GM, Kaplan M, Haynes BF, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science*. 1984;224(4648):500-3.

12. Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos-Ferreira MO, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*. 1986;233(4761):343-6.
13. Kiwanuka N, Laeyendecker O, Robb M, Kigozi G, Arroyo M, McCutchan F, et al. Effect of human immunodeficiency virus Type 1 (HIV-1) subtype on disease progression in persons from Rakai, Uganda, with incident HIV-1 infection. *J Infect Dis*. 2008;197(5):707-13.
14. Piot P, Quinn TC, Taelman H, Feinsod FM, Minlangu KB, Wobin O, et al. Acquired immunodeficiency syndrome in a heterosexual population in Zaire. *Lancet*. 1984;2(8394):65-9.
15. Quinn TC, Mann JM, Curran JW, Piot P. AIDS in Africa: an epidemiologic paradigm. 1986. *Bull World Health Organ*. 2001;79(12):1159-67.
16. Lima MLC, Moreira ACG. Aids e feminização os contornos da sexualidade. *Rev Mal-Estar Subj*. 2008;3(1):103-118.
17. Piot P, Bartos M, Ghys PD, Walker N, Schwartlander B. The global impact of HIV/AIDS. *Nature*. 2001;410(6831):968-73.
18. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (Unaids) [Internet]. Geneva: Global Aids Update 2016. Acesso em 15/6/2016. Disponível em: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-AIDS-update-2016_en.pdf.
19. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (Unaids) [Internet]. Unaids. Acesso em 7/5/2018. Disponível em: <http://www.unaids.org/>.
20. Ministério da Saúde [Internet]. Brasília: Boletim Epidemiológico HIV-AIDS 2017. Acesso em 15/3/2018. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-hivaids-2017>.
21. World Health Organization [Internet]. Geneva: Consolidated Guidelines on HIV prevention, diagnosis, treatment and care for key populations. Acesso em 2/5/2016. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/128048/1/9789241507431_eng.pdf?ua=1.
22. Ministério da Saúde [Internet]. Brasília: Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos. Acesso em 18/5/2018. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2013/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-adultos>.
23. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, et al. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 2008;451(7181):990-3.

24. Locatelli S, Peeters M. Cross-species transmission of simian retroviruses: how and why they could lead to the emergence of new diseases in the human population. *Aids*. 2012;26(6):659-73.
25. Sharp PM, Hahn BH. Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011;1(1):1-22.
26. Gao F, Yue L, White AT, Pappas PG, Barchue J, Hanson AP, et al. Human infection by genetically diverse SIVSM-related HIV-2 in west Africa. *Nature*. 1992;358(6386):495–9.
27. Faria NR, Hodges-Mameletzis I, Silva JC, Rodés B, Erasmus S, Paolucci S, et al. Phylogeographical footprint of colonial history in the global dispersal of human immunodeficiency virus type 2 group A. *J Gen Virol*. 2012;93(Pt 4):889–99.
28. Tienen CV, Van Der Loeff MS, Zaman SM, Vincent T, Sarge-Njie R, Peterson I, et al. Two distinct epidemics: the rise of HIV-1 and decline of HIV-2 infection between 1990 and 2007 in rural Guinea-Bissau. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010;53(5):640–47.
29. McMichael AJ, Borrow P, Tomaras GD, Goonetilleke N, Haynes BF. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(1):11-23.
30. Codogan M, Dalgleish AG. HIV immunopathogenesis and strategies for intervention. *Lancet*. 2008;8(11):675-84.
31. Lackard JT, Cohen DE, Mayer KH. Human immunodeficiency virus superinfection and recombination: current state of knowledge and potential clinical consequences. *Clin Infect Dis*. 2002;34: 1108–1114.
32. Niu MT, Stein DS, Schnittman SM. Primary human immunodeficiency virus type 1 infection: review of pathogenesis and early treatment intervention in humans and animal retrovirus infections. *J Infect Dis*. 1993;168(6):1490-501.
33. Metroka CE, Cunningham-Rundles S, Pollack MS, Sonnabend JA, Davis JM, Gordon B, et al. Generalized lymphadenopathy in homosexual men. *Ann Intern Med*. 1984;99(5):296-305.
34. Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, Margolick JB, Tassoni CJ, Gupta P, et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med*. 1997;126(12):946-54.
35. Lucas S, Nelson AM. HIV and the spectrum of human disease. *J Pathol*. 2015;235(2):229-41.
36. Pinto ME, Struchiner CJ. A diversidade do HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia. *Cad Saúde Pública*. 2006; 22(3):473-484.

37. Hahn BH, Shaw GM, De Cock KM, Sharp PM. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science*. 2000;287(5453):607-14.
38. Faria NR, Rambaut A, Suchard MA, Baele G, Bedford T, Ward MJ, et al. HIV epidemiology. The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. *Science* 2014;346(6205):56–61.
39. Worobey M, Gemmel M, Teuwen DE, Haselkorn T, Kunstman K, Bunce M, et al. Direct evidence of extensive diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960. *Nature*. 2008;455(7213):661–664.
40. Esbjornsson J, Mild M, Audelin A, Fonager J, Skar H, Bruun Jorgensen L, et al. HIV-1 transmission between MSM and heterosexuals, and increasing proportions of circulating recombinant forms in the Nordic countries. *Virus Evol* 2016;2(1):vew010.
41. Grabowski MK, Lessler J, Redd AD, Kagaayi J, Laeyendecker O, Ndyanabo A, et al. The role of viral introductions in sustaining community-based HIV epidemics in rural Uganda: evidence from spatial clustering, phylogenetics, and egocentric transmission models. *Plos Med*. 2014;11(3):e1001610.
42. Frost SD, Pillay D. Understanding drivers of phylogenetic clustering in molecular epidemiological studies of HIV. *J Infect Dis*. 2015;211(6):856-858.
43. Poon AF, Joy JB, Woods CK, Shurgold S, Colley G, Brumme CJ, et al. The impact of clinical, demographic and risk factors on rates of HIV transmission: a population-based phylogenetic analysis in British Columbia, Canada. *J Infect Dis*. 2015;211(6):926-935.
44. Aldous JL, Pond SK, Poon A, Jain S, Qin H, Kahn JS, et al. Characterizing HIV transmission networks across the United States. *Clin Infect Dis*. 2012;55(8):1135-1143.
45. Brenner B, Wainberg MA, Roger M. Phylogenetic inferences on HIV-1 transmission: implications for the design of prevention and treatment interventions. *Aids*. 2013;27(7):1045–1057.
46. Wertheim JO, Leigh Brown AJ, Hepler NL, Mehta SR, Richman DD, Smith DM, et al. The global transmission network of HIV-1. *J Infect Dis*. 2014;209(2):304-313.
47. Fisher M, Pao D, Brown AE, Sudarshi D, Gill ON, Cane P, et al. Determinants of HIV-1 transmission in men who have sex with men: a combined clinical, epidemiological and phylogenetic approach. *Aids*. 2010;24(11):1739-1747.
48. Almeida FJ, Berezin EM, Rodrigues R, Sáfaci MAP, Arnoni MV, Oliveira C, et al. Diversity and prevalence of antiretroviral genotypic resistance mutations among HIV-1 infected children. *J Pediatr*. 2009;85(2):104-9.

49. Arruda LB, Webwe LI, Santos M, Kawakubo EM, Martínez AMB. Testing a subtype-specific GP41 amplification method for genotyping individuals infected by human immunodeficiency virus type-1 in the Brazilian population of Itajaí, South Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2013;55(2):91-9.
50. Rotta I, Almeida SM. Genotypical diversity of HIV clades and central nervous system impairment. *Arq Neuropsiquiatr*. 2011;69(6):964-72.
51. Yan N, Lieberman J. Gaining a foothold: How HIV avoids innate immune recognition. *Curr Opin Immunol*. 2011;23(1):21-8.
52. Ayind D, Maudet C, Transy C, Margottin-Goguet F. Limelight on two HIV/SIV accessory proteins in macrophage infection: Is vpx overshadowing vpr?. *Retrovirology*. 2010;7(35):1-12.
53. Trono D. When accessories turn out to be essential. *Nat Med*. 1998;4(12):1368-9.
54. Tristem M, Marshall C, Karpas A, Hill F. Evolution of the primate lentiviruses: evidence from vpx and vpr. *Embo J*. 1992;11(9):3405-12.
55. Mourez T, Simon F, Plantier JC. Non-M variants of human immunodeficiency virus type 1. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26(3):448-61.
56. Brindeiro RM, Diaz RS, Sabino EC, Morgado MG, Pires IL, Brigido L, et al. Brazilian network for HIV drug resistance surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. *Aids*. 2003;17(7):1063-9.
57. Leal E, Martins LO, Janini M, Diaz RS. Evolutionary dynamics of HIV-1 BF and CB recombinants and its parental counterparts in South America. *Retrovirology Res Treat*. 2008;1:1-14.
58. Grinberg G, Giron LB, Knoll RK, Galinskas J, Camargo M, Arif MS, et al. High prevalence and incidence of HIV-1 a counseling and testing center in the city of Itajaí, Brazil. *Braz J Infec Dis*. 2015;19(6):631-5.
59. Lopes CAF, Soares MA, Falci DR, Sprinz E. The evolving genotypic profile of HIV-1 mutations related to antiretroviral treatment in the North Region of Brazil. *Biomed Res Int*. 2015;2015:1-6.
60. Westin MR, Biscione FM, Fonseca M, Ordones M, Rodrigues M, Greco DB, Tupinambás U. Resistance-associated mutations 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.
61. Couto-Fernandes JC, Silva-de-Jesus C, Veloso VG, Rachid M, Gracie RSG, Chequer-Fernandez SL, 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.

62. Li Y, Kappes JC, Conway JA, Price RW, Shaw GM, Hahn BH. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 cloned directly from uncultured human brain tissue: identification of replication-competent and -defective viral genomes. *J Virol.* 1991;65(8):3973-85.
63. Mohammadi P, Ciuffi A, Beerenwinkel N. Dynamic models of viral replication and latency. *Curr Opin Aids HIV.* 2015;10(2):90-5.
64. Herzig E, Voronin N, Kucherenko N, Hizi A. A novel Leu92 mutant of HIV-1 reverse transcriptase with a selective deficiency in strand transfer causes a loss of viral replication. *J Virol.* 2015;89(16):8119-29.
65. Kaul DR. Donor-derived infection: epidemiology and outcomes. *Curr Infect Dis Rep.* 2012;14(6):676-82.
66. Shattock RJ, Moore JP. Inhibiting sexual transmission of HIV-1 infection. *Nat Rev Microbiol.* 2003;1(1):25-34.
67. Haase AT. Perils at mucosal front lines for HIV and SIV and their hosts. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(10):783–92.
68. Haase AT. Targeting early infection to prevent HIV-1 mucosal transmission. *Nature.* 2010;464(7286):217-23.
69. Cornett JK, Kirn TJ. Laboratory diagnosis of HIV in adults: a review of current methods. *Clin Infect Dis.* 2013;57(5):712-8.
70. Da Motta LR, Vanni AC, Kato SK, Borges LGA, Sperhackle RD, Ribeiro RMM, et al. Evaluation of five simple rapid HIV assays for potential use in the Brazilian national HIV testing algorithm. *J Virol Methods.* 2013;194(1-2):132-7.
71. Lu W, Meharaj V, Vyboh K, Cao W, Li T, Routy JP. CD4:CD8 ratio a frontier marker of clinical outcomes, immune dysfunction and viral reservoir size virologically suppressed HIV-positive patients. *J Int AIDS Soc.* 2015;18(1):20052.
72. Plana M, Garcia F, Gallart T, Tortajada C, Soriano A, Palou E, et al. Immunologic benefits of antiretroviral therapy in very early stages of asymptomatic chronic HIV-1 infection. *Aids.* 2000;14(13):1921-33.
73. Hemelaar J. Implications of HIV diversity for the HIV-1 pandemic. *J Infect.* 2013;66:391-400.
74. Hu WS, Hughes SH. HIV-1 reverse transcription. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2:a006882.
75. Palmer S, Maldarelli F, Wiegand A, Bernstein B, Hanna GJ, Brun SC, et al. Low-level viremia persists for at least 7 years in patients on suppressive antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci Usa.* 2008;105(10):3879–3884.

76. Shaw GM, Hunter E. HIV transmission. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012; 2(11):a006965.
77. Coffin J, Swanstrom R. HIV pathogenesis: dynamics and genetics of viral populations and infected cells. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013; 3(1):a012526.
78. Karn J, Stoltzfus M. Transcriptional and Posttranscriptional Regulation of HIV-1 Gene Expression. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012; 2(2): a006916.
79. Malim MH, Bieniasz PD. HIV Restriction Factors and Mechanisms of Evasion. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(5): a006940.
80. Svarovskaia ES, Cheslock SR, Zhang WH, Hu WS, Pathak VK . Retroviral mutation rates and reverse transcriptase fidelity. *Front Biosci.* 2003;8:117-134.
81. Robertson DL, Sharp PM, McCutchan FE, Hahn BH. Recombination in HIV-1. *Nature.* 1995;374:124–126.
82. Wainberg MA, Zaharatos GJ, Brenner BG. Development of antiretroviral drug resistance. *N Engl J Med.* 2011;365(7):637–646.
83. Delaugerre C, Valantin MA, Mouroux M, Bonmarchand M, Carcelain G, Duvivier C, Tubiana R, Simon A, Bricaire F, Agut H, et al. Re-occurrence of HIV-1 drug mutations after treatment re-initiation following interruption in patients with multiple treatment failure. *Aids.* 2001;15(16):2189–2191.
84. Yang S, Chiu AP, Lin Q, Zeng Z, Li y, Zhang Y, et al. HIV epidemics in Shenzhen and Chongqing, China. *Plos One.* 2018;13(2):e0192849.
85. Mburu G, Ngin C, Tuot S, Chhoun P, Paik, Yi S. Patterns of HIV testing, drug use, and sexual behaviors in peoples who use drugs: findings from a community-based outreach program in Phnom Penh, Cambodia. *Addict Sci Clin Pract.* 2017;12(27):1-10.
86. Kalichman S, Pellowski J, Turner C. Prevalence of sexually transmitted co-infections in people living with HIV/Aids: systematic review with implications for using HIV treatments for prevention. *Sexually transmitted infections.* 2011;87(3):183-190.
87. Casalino E, Choquet C, Leleu A, Hellmann R, Wargon M, Juillien G, et al. Trends in condom use and risk behaviours after sexual exposure to HIV: a seven-year observational study. *Plos One.* 2014;9(8):e104350.
88. Snedecor SJ, Sudharshan L, Nedrow K, Bhanegaonkar A, Simpson KN, Haider S. Burden of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance in HIV-1-infected patients: a systematic review and meta-analysis. *Aids Res Hum Retroviruses.* 2014;30(8):753-68.

89. Brenner BG, Roger M, Moisi DD, et al. Transmission networks of drug resistance acquired in primary/early stage HIV infection. *Aids*. 2008;22(18):2509–2515.
90. Maldarelli F, Palmer S, King MS, et al. ART suppresses plasma HIV-1 RNA to a stable set point predicted by pretherapy viremia. *Plos Pathog*. 2007;3:e46.
91. Perelson AS, Essunger P, Cao Y, Vesanen M, Hurley A, Saksela K, et al. Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. *Nature*. 1997;387(6629):188–191.
92. Bezabhe WM, Chalmers L, Bereznicki LR, Peterson GM. Adherence to Antiretroviral Therapy and Virologic Failure: A Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(15):e3361.
93. Cohen MS, Chen YK, McCauley M, Gamble T, Hosseinipour MC, Kumarasamy N, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med*. 2011;365(6):493-505.
94. Dourado I, Veras MASM, Barreiro D, Brito AM. Tendência da epidemia de Aids no Brasil após a terapia antirretroviral. *Rev Saude Publica*. 2006; 40(Supl):9-17.
95. Yehia BR, Fleishman JA, Metlay JP, Moore RD, Gebo KA. Sustained Viral Suppression in HIV-Infected Patients Receiving Antiretroviral Therapy. *Jama*. 2012;308(4):339-42.
96. Murray JM, Kelleher AD, Cooper DA. Timing of the components of the HIV life cycle in productively infected CD4+ T cells in a population of HIV-infected individuals. *J Virol*. 2011;85(20):10798-805.
97. Durand CM, Blankson JN, Siliciano RF. Developing strategies for HIV-1 eradication. *Trends Immunol*. 2012;33(11):554–62.
98. World Health Organization [Internet]. Geneva: Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pré- exposure prophylaxis for HIV. Acesso em 16/6/2016. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186275/1/9789241509565_eng.pdf?ua=1.
99. Neely MN, Benning L, Xu J, Strickler HD, Greenblatt RM, Minkoff H, et al. Cervical shedding of HIV-1 RNA among women with low levels of viremia while receiving highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;44(1):38–42.
100. Fiore JR, Suligoi B, Saracino A, Di Stefano M, Bugarini R, Lepera A, et al. Correlates of HIV-1 shedding in cervicovaginal secretions and effects of antiretroviral therapies. *Aids*. 2003;17(15):2169–2176.

101. Cu-Uvin S, Caliendo AM, Reinert S, Chang A, Juliano-Remollino C, Flanigan TP, et al. Effect of highly active antiretroviral therapy on cervicovaginal HIV-1 RNA. *Aids*. 2000;14(4):415–421.
102. Marcelin A-G, Tubiana R, Lambert-Niclot S, Lefebvre G, Dominguez S, Bonmarchand M, et al. Detection of HIV-1 RNA in seminal plasma samples from treated patients with undetectable HIV-1 RNA in blood plasma. *Aids*. 2008;22(13):1677–1679.
103. Liuzzi G, Chirianni A, Bagnarelli P, Clementi M, Piazza M. A combination of nucleoside analogues and a protease inhibitor reduces HIV-1 RNA levels in semen: implications for sexual transmission of HIV infection. *Antivir Ther*. 1999;4(2):95–99. 74.
104. Coombs RW, Reichelderfer PS, Landay AL. Recent observations on HIV type-1 infection in the genital tract of men and women. *Aids*. 2003;17(4):455-480.
105. Vernazza PL, Troiani L, Flepp MJ, et al. Potent antiretroviral treatment of HIVinfection results in suppression of the seminal shedding of HIV. The Swiss HIV Cohort Study. *Aids*. 2000;14(2):117–121.
106. Tovanabutra S, Robison V, Wongtrakul J, Sennum S, Suriyanon V, Kingkeow D, et al. Male viral load and heterosexual transmission of HIV-1 subtype E in northern Thailand. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;29(3):275–283.
107. Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, Serwadda D, Li C, Wabwire-Mangen F, et al. Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med*. 2000;342(13):921–929.
108. Bender MA, Kumarasamy N, Mayer KH, Wang B, Walensky RP, Flanigan T, et al. Cost-effectiveness of tenofovir as first-line antiretroviral therapy in India. *Clin Infect Dis*. 2010;50(3):416-25.
109. World Health Organization [Internet]. Geneva: Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Recommendations for a public health approach. Acesso em 1/6/2016. Disponível em: <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/download/en/>
110. Jiamsakul A, Sungkanuparph S, Lei M, Kantor R, Praparattanapan J, Li PC, et al. HIV multi-drug resistance at first- line antirretroviral failure and subsequent virological response in Ásia. *Int J Sida Soe*. 2014;17(1):19053.
111. Boettiger DC, Nguyen VK, Durier N, Bui HV, Heng Sim BL, Azwa I, et al. Efficacy of second- line antiretroviral therapy among people living with HIV/AIDS in Asia: results from the TREAT Asia HIV observational database. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015;68(2):186-95.

112. Ministério da Saúde [Internet]. Brasília. Maraviroque para pacientes em terapia antirretroviral. Acesso em 10/5/2018. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Incorporados/Maraviroque-AIDS-final.pdf>.
113. Gulick RM, Lalezari J, Goodrich J, Clumeck N, Dejesus E, Horban A, et al. Maraviroc for previously treated patients with R5 HIV-1 infection. *N Engl J Med*. 2008, 359(14):1429-41.
114. Meintjes G, Dunn L, Coetsee M, Hislop M, Leisegang R, Regensberg L, et al. Third-line antiretroviral therapy in Africa: effectiveness in Southern African retrospective cohort study. *Aids Res Ther*. 2015;12(39):2-7.
115. Evans D, Hirasen K, Berhanu R, Malete G, Ive P, Spencer D, et al. Predictors of switch to and early outcomes on third-line antiretroviral therapy at a large public-sector clinic in Johannesburg, South Africa. *Aids Res Ther*. 2018, 15(10):1-12.
116. Liu J, Yan J, Yang W, Xue X, Sun G, Liu C, et al. Analysis of HIV-1 drug resistance among 1 922 individuals experiencing virological failure of first-line antiretroviral therapy in Henan province. *Zhonghua Yu fang Yi XueZa Zhi*. 2015;49(11):950-5.
117. Ministério da Saúde [Internet]. Brasília: Recomendações para terapia antirretroviral em adultos infectados pelo HIV. Acesso em 21/10/2014. Disponível em: <http://www.ensp.fiocruz.br/portal-ensp/judicializacao/pdfs/491.pdf>.
118. Simon V, Ho DD, Abdool Karim Q. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Lancet*. 2006;368(9534):489–504.
119. Ministério da Saúde [Internet]. Brasília: Avaliação externa de qualidade: Relatório global décima quarta avaliação externa da qualidade dos testes de genotipagem de HIV 14AEQ14/Geno. Acesso em 20/1/2016. Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/page/2012/51642/relatorio_final_14aeq14_genoviv_pdf_12424.pdf.
120. Luz PM, Morris BL, Grinsztejn B, Freedberg KA, Veloso VG, Walensky RP, et al. Cost- effectiveness of genotype testing for primary resistance in Brazil. *J Acquir Immune Syndr*. 2015;68(2):152-61.
121. Lohse N, Hansen AB, Pedersen G, Kronborg G, Gerstoft J, Sorensen HT, et al. Survival of persons with and without HIV infection in Denmark, 1995-2005. *Ann Intern Med*. 2007;146(2):87-95.
122. Boyod MA, Moore CL, Molina JM, Wood R, Madero JS, Wolff M. Baseline HIV- 1 resistance, virological outcomes, and emergent resistance in the SECOND- LINE trial: an exploratory analysis. *Lancet*. 2015;2(2):e42-51.
123. Max Planck Institut Informatik [internet]. Acesso 9/5/2018. Disponível em: <http://www.genoviv.org/index.php>.

124. HIV-Grade [internet]. Acesso 9/5/2018. Disponível em: <http://www.hiv-grade.de/cms/grade/homepage/>.
125. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985;39:783-791.
126. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 2013;30:2725-2729.
127. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 1987;4:406-425.
128. Nei M, Kumar S. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press. 2000.
129. Graf T, Fritsch HM, Medeiros RM, Junqueira DM, Almeida SEM, Pinto AR. Comprehensive Characterization of HIV-1 Molecular Epidemiology and Demographic History in the Brazilian Region Most Heavily Affected by AIDS. *J Virol*. 2016;90(18):8160-8.
130. Justina LBD, Luiz MC, Maurici R, Schuelter-Trevisol F. Prevalence and factors associated with lipodystrophy in AIDS patients. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014;47(1):30-7.
131. UNAIDS [Internet]. Geneva: Ending the aids epidemic by 2030. Acesso em 29/4/2018. Disponível em: <http://www.unaids.org/en>.
132. Junior JSPF, Freitas LV, Rabelo STO, Pinheiro AKB, Lopes EM, Ximenes LB. Perfil e práticas sexuais de universitários da área da saúde. *Esc Anna Nery R Enferm*. 2007;11(1):58-65.
133. Wilaon PA, Nanin J, Amesty S, Wallace S, Cherenack EM, Fullilove R. Using Syndemic Theory to Understand Vulnerability to HIV Infection among Black and Latino Men in New York City. *J Urban Health*. 2014;91(5):983-998.
134. Vettoretti A. História de Tubarão das origens ao século XX. Incopel 1992. Tubarão. p. 260.
135. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) [Internet]. Brasil. População chega a 205,5 milhões, com menos brancos e mais pardos e pretos. Acesso em 24/5/2018. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/18282-pnad-c-moradores.html>.
136. Eidam CL, Lopes AS, Guimarães MDC. Estilo de vida e atividade física habitual de portadores do vírus da imunodeficiência humana - HIV. *RUBS*. 2006;2(1):34-45.

137. Ribeiro MCSA, Baratal RB, Almeida MF, Silva ZP. Perfil sociodemográfico e padrão de utilização de serviços de saúde para usuários e não-usuários do SUS–PNAD 2003. *Ciênc. Saúde Coletiva*. 2006;11(4):1011-22.
138. Morales LS, Rogowski J, Freedman VA, Wickstrom SL, Adams JL, Escarce JJ. Sociodemographic differences in use of preventive services by women enrolled in Medicare+Choice plans. *Prev Med*. 2004;39(4):738-45.
139. Tadesse WT, Mekonnen AB, Tesfaye WH, Tadesse YT. Self-reported adverse drug reactions and their influence on highly active antiretroviral therapy in HIV infected patients: a cross sectional study. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2014;15:32.
140. Weldegebreal F, Mitiku H, Teklemariam Z. Magnitude of adverse drug reaction and associated factors among HIV-infected adults on antiretroviral therapy in Hiwot Fana specialized university hospital, eastern Ethiopia. *Pan Afr Med J*. 2016; 24:255.
141. Lartey M, Asante-Quashie A, Essel A, Kenu E, Ganu V, Neequaye A. Adverse drug reactions to antiretroviral therapy during the early art period at a tertiary hospital in Ghana. *Pan Afr Med J*. 2014;18:25.
142. Tsuyuki K, Surratt HL. Antiretroviral drug diversion links social vulnerability to poor medication adherence in substanceabusing populations. *Aids Behav*. 2015;19(5):869-81.
143. Gupta RK, Jordan MR, Sultan BJ, Hill A, Davis DH, Gregson J, et al. Global trends in antiretroviral resistance in treatment-naive individuals with HIV after rollout of antiretroviral treatment in resource-limited settings: a global collaborative study and meta-regression analysis. *Lancet*. 2012;380(9849):1250-8.
144. Barennes H, Guillet S, Limsreng S, Him S, Nouhin J, Hak C, et al. Virological failure and HIV-1 drug resistance mutations among naive and antiretroviral pre-treated patients entering the ESTHER program of Calmette Hospital in Cambodia. *Plos One*. 2014;9(8):e105736.
145. Jiamsakul A, Chaiwarith R, Durier N, Sirivichayakul S, Kiertiburanakul S, Van Den Eede P. Comparison of Genotypic and Virtual Phenotypic Drug Resistance Interpretations with Laboratory-based Phenotypes among CRF01_AE and Subtype B HIV-infected individuals. *J Med Virol*. 2016;88(2):234-43.
146. Ferreira ACG, Coelho LE, Grinsztejn E, Jesus CS, Guimarães ML, Veloso VG, et al. Transmitted drug resistance in patients with acute/recent HIV infection in Brazil. *Braz J Infect Dis* 2017;21(4):396-401.
147. Soares EAJM, Martínez AMB, DSouza TM, Santos AFA, da Hora V, Silveira J, et al. HIV-1 subtype C dissemination in Southern Brazil. *Aids*. 2005;19:S81-86.

148. Avanzi VM, Vicente BA, Beloto NCP, Gomes-da-Silva MM, Ribeiro CEL Tuon FF, et al. Profile of HIV subtypes in HIV/HBV- and HIV/HCV-coinfected patients in Southern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2017;50(4):470-77.
149. Corado AL, Bello G, Leão RA, Granja F, Naveca FG. HIV-1 genetic diversity and antiretroviral drug resistance among individuals from Roraima state, northern Brazil. *Plos One.* 2017;12(3):e0173894.
150. Carr JK, Salminen MO, Albert J, Sanders-Buell E, Gotte D, Birx DL, et al. Full genome sequences of human immunodeficiency virus type 1 subtypes G and A/G intersubtype recombinants. *Virology.* 1998;247(1):22-31.
151. Niama FR, Vidal N, Bazepeo SE, Mpoudi E, Toure-Kane C, Parra HJ, et al. CRF45_AKU, a circulating recombinant from Central Africa, is probably the common ancestor of HIV type 1 MAL and HIV type 1 NOGIL. *Aids Res Hum Retroviruses.* 2009;25(12):1345-53.
152. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. *Aids.* 2011;25(5):679-89.
153. Kiwelu IE, Novitsky V, Margolin L, Baca J, Manongi R, Sam N, et al. Frequent intra-subtype recombination among HIV-1 circulating in Tanzania. *Plos One.* 2013;8(8):e71131.
154. Wainberg MA, Moisi D, Oliveira M, Toni TD, Brenner BG. Transmission dynamics of the M184V drug resistance mutation in primary HIV infection. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(10):2346-49.
155. 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):1660–69.
156. Hill A, McBride A, Sawyer AW, 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.
157. 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.
158. Taiwo B. Understanding transmitted HIV resistance through the experience in the USA. *Int J Infect Dis.* 2009;13(5):552-9.
159. Götte M, Arion D, Parniak MA, Wainberg MA. The M184V mutation in the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 impairs rescue of chain-terminated DNA synthesis. *J Virol.* 2000;74(8):3579-85.

160. Stekler JD, Milne R, Payant R, Beck I, Herbeck J, Maust B, et al. Transmission of HIV-1 drug resistance mutations within partner-pairs: A cross-sectional study of a primary HIV infection cohort. *Plos Med*. 2018;15(3):e1002537.
161. Buckton AJ, Prabhu D, Motamed C, Harris RJ, Hill C, Murphy G, et al. Increased detection of the HIV-1 reverse transcriptase M184V mutation using mutation-specific minority assays in a UK surveillance study suggests evidence of unrecognized transmitted drug resistance. *HIV Med*. 2011;12(4):250-4.
162. Rusconi S, De Pasquale MP, Milazzo L, Kurtagic S, Bulgheroni E, Citterio P, et al. Loss of lamivudine resistance in a zidovudine and lamivudine dual-resistant HIV-1 isolate after discontinuation of in vitro lamivudine drug pressure, *Antivir Ther*. 1998;3(4):203-7.
163. Metzner KJ, Bonhoeffer S, Fischer M, Karanickolas R, Allers K, Joos B, et al. Emergence of minor populations of human immunodeficiency virus type 1 carrying the M184V and L90M mutations in subjects undergoing structured treatment interruptions. *J Infect Dis*. 2003;188(10):1433-43.
164. Karade SK, Kulkarni SS, Ghate MV, Patil AA, Londle R, Salvi SP. Antiretroviral resistance following immunological monitoring in a resource-limited setting of western India: A cross-sectional study. *Plos One*. 2017;12(8):e0181889.
165. Farrokhi M, Moallemi S, Shirkoohi R, Golmohammadi R, Ahsani-Nasab S, Sardashti S, et al. Antiretroviral Drug Resistance Mutations among HIV Treatment Failure Patients in Tehran, Ira. *Iran J Public Health*. 2017;46(9):1256-1264.
166. Ananworanich J, Sirivichayakul S, Pinyakorn S, Crowell TA, Trichavaroj R, Weerayingyong J, et al. High prevalence of transmitted drug resistance in acute HIV-infected Thai men who have sex with men. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015;68(4):481-485.
167. Dai L, Li N, Wei F, et al: Transmitted antiretroviral drug resistance in the men who have sex with men HIV patient cohort, Beijing, China, 2008–2011. *Viral Immunol*. 2014;27(8):392-7.
168. Jiamsakul A, Kantor R, Li PCK, Sirivichayakul S, Sirisanthana T, Kantipong P, Lee CKC, et al. Comparison of predicted susceptibility between genotype and virtual phenotype HIV drug resistance interpretation systems among treatment-naive HIV-infected patients in Asia: TASER-M cohort analysis. *BMC Res Notes*. 2012;5(582):2-9.
169. Osmanov S, Pattou C, Walker N, Schwardländer B, Esparza J. The WHO-UNAIDS Network for HIV Isolation, and Characterization. Estimated Global Distribution and Regional Spread of HIV-1 Genetic Subtypes in the Year 2000. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;29(2):184-90.

170. Breda A, Fernandes CL, Almeida SEM, Rossetti MLR, Rodrigues R, Brigido L. Bioinformatics Tools for HIV-1 Identification Southern Brazilian States. *BSB*. 2005;3594:27-29.
171. Soares EAJM, Santos RP, Pellegrini JA, Sprinz E, Tanuri A, Soares MA. Epidemiologic and Molecular Characterization of Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Southern Brazil. *JAIDS*. 2003;34(5):520-26.
172. Soares MA, Oliveira T, Brindeiro RM, Diaz RS, Sabino EC, Brigido L. A specific subtype C of human immunodeficiency virus type 1 circulates in Brazil. *AIDS*. 2003;17(1):11–21.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Roteiro da Entrevista (>18 anos)

DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS

1. Número: _ _ _ _ _ _ _ _	Num _ _ _ _ _ _ _ _
2. Nome:	Iniciais:
3. Prontuário: _ _ _ _ _ _ _ _	Pront _ _ _ _ _ _ _ _
4. Data da entrevista:	Dataen _ _ _ / _ _ _ / 2015
5. Data de nascimento:	DN _ _ _ / _ _ _ / 19 _ _ _
6. Idade:	Idade _ _ _ anos
7. Sexo: 1.[] Masculino 2.[] Feminino	Sexo _ _
8. Cor ou raça: 1.[] Branco 2.[] Não branco 9.[] Ignorado	Cor _ _
9. Estudou até que ano? Passou de ano? _____	_ _ _ anos completos
10. Estado civil 1.[] Casado 2.[] Solteiro 3.[] Amasiado 4.[] Viúvo 5.[] Separado/divorciado	Estcivil _ _
11. Qual a sua orientação sexual? (1) Heterossexual (2) Homossexual (3) Bissexual (4) Não responde	Orisex _ _
12. Você já usou drogas? (1) Nunca usou (2) Você já usou/ usa	Drog _ _
13. Você já usou droga injetável? (1) Sim (2) Não	Droginj _ _
14. Se sim, já compartilhou seringas e agulhas? (1) Sim (2) Não	Comsea _ _
15. Após o diagnóstico você compartilha seringa ou agulha. (1) Sim (2) Não (3) As vezes	Diagserag _ _
16. De que forma você adquiriu HIV? (1) Transfusão de sangue (2) Mãe biológica HIV positiva (3) Acidente ou contato com sangue infectado pelo vírus do HIV (4) Estupro (5) Relação sexual sem uso de preservativo (6) Não sabe	ContHIV _ _
17. Seu parceiro possui o vírus HIV? (1) Sim (2) Não	ParcHIV _ _
18. Após o diagnóstico você utiliza preservativo nas relações sexuais? (1) Sim (2) Não (3) As vezes	Diagpreser _ _
19. Há quanto tempo você possui o HIV? _____	Dia _ _ _ _ _ Mês _ _ _ _ _ Ano _ _ _ _ _
20. Você utiliza os medicamentos antirretrovirais? (1) Sim (2) Não	Antir _ _
21. Você já trocou de medicamento antirretroviral? (1) Sim. Por que: _____ (2) Não	Trocanti _ _ _____

QUESTIONÁRIO PARA AVALIAÇÃO DA ADESÃO AO TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL TESTE DE MORISKY-GREEN (TMG)

22. Você às vezes tem problemas em se lembrar de tomar a sua medicação? 0. <input type="checkbox"/> Não 1. <input type="checkbox"/> Sim	TMG1 __
23. Você às vezes se descuida de tomar seu medicamento? 0. <input type="checkbox"/> Não 1. <input type="checkbox"/> Sim	TMG2 __
33. Quando está se sentindo melhor, você às vezes para de tomar seu medicamento? 0. <input type="checkbox"/> Não 1. <input type="checkbox"/> Sim	TMG3 __
24. Às vezes, se você se sentir pior ao tomar a medicação, você para de tomá-la? 0. <input type="checkbox"/> Não 1. <input type="checkbox"/> Sim	TMG4 __

ASPECTOS CLÍNICOS E DA INFECÇÃO PELO HIV – REVISÃO PRONTUÁRIOS

25. Linfócitos TCD4+: Data: __ / __ / __	CD4 __ _ __ céls/mm ³		
26. Carga viral: Data: __ / __ / __	CV __ _ __ cópias/ml		
27. Genotipagem Data: __ / __ / __	Geno:		
28. Data do diagnóstico de HIV:	DATADIAG __ / __ / __ _ __		
29. Uso de antirretrovirais: 0. <input type="checkbox"/> Não 1. <input type="checkbox"/> Sim	ART __		
30. Início da terapia antirretroviral:	DATAINART __ / __ / __ _ __		
31. Tempo de uso da terapia antirretroviral:	TEMPART __ _ __ anos __ _ __ meses		
32. Esquemas terapêuticos			
Droga ARV	Data Início	Data término	Uso
Abacavir - ABC	__ / __ / __	__ / __ / __	ABC __
Amprenavir - APV	__ / __ / __	__ / __ / __	APV __
Atazanavir - ATV	__ / __ / __	__ / __ / __	ATV __
Darunavir - DRV	__ / __ / __	__ / __ / __	DRV __
Didanosina - DDI	__ / __ / __	__ / __ / __	DDI __
Efavirenz - EFZ	__ / __ / __	__ / __ / __	EFZ __
Enfuvirtida - T-20	__ / __ / __	__ / __ / __	T20 __

Estavudina - D4T	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	D4T _
Fosamprenavir - FPV	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	FVP _
Indinavir - IDV	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	IDV _
Lamivudina - 3TC	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	3TC _
Lopinavir + ritonavir - LPV/r	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	LVP r _
Nevirapina - NVP	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	NVP _
Raltegravir - RAL	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	RAL _
Ritonavir - RTV	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	RTV _
Saquinavir - SQV	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	SQV _
Tenofovir - TDF	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	TDF _
Zidovudina + Lamivudina - AZT+3TC	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	AZT3TC _
Zidovudina - AZT	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	AZT _
Talidomida - TAL	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	TAL _
33. Outros medicamentos antirretrovirais não listados: _____ _____			Outros _
34. Esquema de terapia atual:	1. [] 2 ITRN + 1 ITRNN 2. [] 2 ITRN + 1 IP 3. [] Outro Qual? _____		Esquema _
35. Apresentou falha terapêutica. (1) Sim (2) Não			Falhavir _
36. Se sim quando? _ _ / _ _ / _ _			Tempo _ _

EXAMES LABORATORIAIS**37. Genotipagem**

Data: |_|_|_|/|_|_|_|/ |_|_|_|

Genótipo:**Mutações:****Resistência:****38. Fenotipagem**

Data: |_|_|_|/|_|_|_|/ |_|_|_|

APÊNDICE B - Principais mutações associadas ao subtipo, carga viral e CD4 identificadas nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina

(continua)

IDENT	IDADE	CD4	CARGA VIRAL	SUBTIPO	MUTAÇÃO IP	RESISTÊNCIA	MUTAÇÃO NRTI	MUTAÇÃO NNRTI	RESISTÊNCIA
10	47	200	382631	C				V179D	EFV, ETR, NVP, RPV
19	29	230	8768	C	K20I	NFV		E138EG, V179DV, G190AG	ETR, RPV EFV, NVP
35	45	52	469661	F	K20T	IDV, SQV, ATV, NFV	K70AEKT, M184V	K101E, K103KN, E138K	D4T, DDI, ETR, TDF, ABC 3TC, EFV, NVP, RPV, FTC
39	57	159	116562	C	M46IM	ATV, FPV, IDV, LPV, NFV			
59	36	317	1199	C	T74S	NFV			
60	36	356	2759	C				V108I	EFV, NVP
79	20	263	53904	C			K219KR		AZT, D4T
111	59	99	32812	C	M46IM	ATV, FPV, IDV, LPV, NFV		K101E	EFV, ETR NVP, RPV
114	52	116	149500	C			M184V	K103N	ABC, DDI, 3TC, FTC, EFV, NVP
118	29	434	10737	B				K103KN	EFV, NVP
126	29	104	57762	B				A98G, K103KN	ETR, RPV EFV, NVP
147	59	556	1809	C	N83DN	ATV, IDV, NFV, SQV, TPV			ABC, DDI, 3TC, FTC
153	30	167	160367	C					
154	20	456	38102	C	M46V	ATV, FPV, IDV, NFV		K103N	EFV, NVP
156	38	6	177979	C			M184MV	K101HKNQ, Y188L	ABC, DDI, ETR, 3TC, FTC, EFV, NVP, RPV
165	45	23	163010	C				K103KN	EFV, NVP
186	54	146	161175	C		NFV	M184V, K219EK	K103S, V1081IV	ABC, DDI, EFV 3TC, FTC, NVP
189	21	574	1728	CRF 02_AG	K201, F53Y	NFV			

(continua)

IDENT	IDADE	CD4	CARGA VIRAL	SUBTIPO	MUTAÇÃO IP	RESISTÊNCIA	MUTAÇÃO NRTI	MUTAÇÃO NNRTI	RESISTÊNCIA
193	38	90	24517	B			D67DN, K70KR, M184V	K103N	ABC, AZT, 3TC, FTC, EFV, NVP
202	20	167	1764	C	M46V	ATV, FPV, IDV, NFV	M184MV	K103N	ABC, DDI, 3TC, FTC, EFV, NVP
235	41	104	44032	C			M184V	K103N	ABC, DDI, 3TC, FTC, EFV, NVP
245	45	666	1216	B+C			L74V, M184V, T215F	K101E, Y181C, G190A	AZT, ABC, FTC, 3TC, EFV, ETR, NVP, RPV
248	48	42	122669	C	I15V, M36I, H69K, L89M, I93L		K65R, K103N, Y181C, M184V		ETV, DDI, 3TC, ABC, TDF, ABC
250	32	539	1588	F	V321, M461, V82A	DRV, ATV, LPV	M41L, M184V		FTC, 3TC
274	30	50	7394	C				K103N	EFV, NVP
290	40	271	41636	C				V179D	EFV, RPV, ETR, NVP
294	36	92	103844	C			K65R	V106M, Y188L	ETR, ABC, FTC, 3TC, TDF, EFV, NVP, RPV
300	31	107	11260	C				V106M	EFV, NVP
308	50	107	67808	B			M41L, L74I, V75I, M184V, T215Y	K103N, V108I, H221Y, P225H	TDF, ETR, RPV, ABC, AZT, FTC, 3TC, EFV, NVP
333	30	654	2064	C			M184V	K103N, V108I	ABC, FTC, 3TC, EFV, NVP
334	47	283	408	C			K65KR	G190A	RPV, ETR, ABC, FTC, 3TC, TDF, NVP
351	38	219	11420	C				E138A	ETR, RPV
355	46	187	138744	C				K103N	EFV, NVP
419	57	253	7084	C			M184V	K103N, V108I	ABC, FTC, 3TC, EFV, NVP
425	50	53	22453	C	I15V, G16E, M36I, H69K, L89M, I93L		G190E		NVP, EFZ
430	25	583	1422	C			D67N, T69D	K103N	AZT, EFV, NVP

IDENT	IDADE	CD4	CARGA VIRAL	SUBTIPO	MUTAÇÃO IP	RESISTÊNCIA	MUTAÇÃO NRTI	MUTAÇÃO NNRTI	RESISTÊNCIA
441	21	192	49296	B			E138A		ETR, RPV
444	62	196	10297	C			D67N, K70R, M184V, T215N, K219E	K101P, K103N	ABC, AZT, FTC, 3TC, TDF, EFV, ETR, NVP, RPV
447	29	457	303	B				K103N, E138A	ETR, RPV EFV, NVP
523	28	323	2204	C				V179VD	EFV, ETR, NVP, RPV
538	36	195	16966	C	I50L, K20T, T74P	ATV	D67N, K70R, M184V, T215F, K219Q		TDF ABC, AZT, FTC, 3TC
543	51	144	25373	C			A62V, K65R, Y115F, M184V, T215TS	K103N, V106M, V179F	ETR, RPV ABC, FTC, 3TC, TDF, EFV, NVP
549	55	295	1539	C	I15V, H69K, V82I, L89I, I93L L63S	LPV	V118I, M184V		DDI, ABC
551	48	610	5373	B					
552	49	461	1630	C			D67N, K70R, M184V	K103N	ABC, AZT FTC, 3TC, EFV, NVP
555	48	407	1059	C					ABC FTC, 3TC
559	25	309	33580	C		ATV, DRV, IDV, LPV, FPV, NFV, TPV			
570	38	235	59245	C			K65R, D67G	K238T	ABC, FTC, 3TC, EFV, NVP TDF
572	41	406	102295	C					
575	40	153	86710	C	I47V	ATV, DRV, LPV			
583	22	401	23276	C				K103N	EFV, NVP
596	38	626	854	C			D67N, K70R, M184V, K219Q	A98G, K103N, P225H	TDF, ETR, RPV, AZT ABC, FTC, 3TCEFV, NVP
611	67	607	4625	C				A98G	EFV, ETR, RPV, NVP
615	50	28	341098	C			A62V, M184V	V106M, V179D, G190GA	ABC, ETR, RPV FTC, 3TC, EFV, NVP

(conclusão)

IDENT	IDADE	CD4	CARGA VIRAL	SUBTIPO	MUTAÇÃO IP	RESISTÊNCIA	MUTAÇÃO NRTI	MUTAÇÃO NNRTI	RESISTÊNCIA
618	46	342	6954	B +C			D67N	V106M	AZT EFV, NVP
620	28	160	1484	B				K103KN	EFV, NVP
624	23	716	2536	C				K238N	EFV, NVP
632	26	164	64428	C			M184V	K103N	ABC, FTC, 3TC, EFV, NVP
633	39	309	20586	C				A98G	EFV, ETR, RPV, NVP
634	38	126	487855	B				K103N	EFV, NVP
635	31	167	127400	B				K103N	EFV, NVP

IRTNN - Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, IRTN - Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, IP - Inibidores de proteases.

APENDICE C - Panorama das genotipagens com ausência de mutação associada à resistência, relacionando ao subtipo, carga viral e CD4 identificadas nas pessoas que vivem com HIV no sul de Santa Catarina.

(continua)

IDENT	IDADE	CD4	CARGA VIRAL	SUBTIPO	EM USO DE TARV/ VIRGEM DE TRATAMENTO
8	43	632	2718	C	Virgem de tratamento
16	49	421	6001	C	Em uso de TARV
29	33	5	604772	F	Virgem de tratamento
37	27	354	1167	B	Em uso de TARV
40	30	344	168563	F	Virgem de tratamento
41	27	161	38542	B	Virgem de tratamento
61	44	313	44792	C	Virgem de tratamento
70	28	133	788409	C	Virgem de tratamento
75	58	29	512542	B	Virgem de tratamento
99	28	191	144164	C	Virgem de tratamento
112	27	616	1341	B	Virgem de tratamento
127	51	881	2602	C	Em uso de TARV
135	68	215	15560	C	Virgem de tratamento
137	49	116	56412	C	Em uso de TARV
145	24	149	1592627	C	Virgem de tratamento
168	50	118	41573	C	Em uso de TARV
176	22	368	106346	C	Virgem de tratamento
181	27	253	2595	B	Em uso de TARV
184	45	460	12226	B	Virgem de tratamento
195	53	603	67960	C	Em uso de TARV

(continua)

IDENT	IDADE	CD4	CARGA VIRAL	SUBTIPO	EM USO DE TARV/ VIRGEM DE TRATAMENTO
208	23	3	155335	C	Virgem de tratamento
217	53	115	4623	C	Em uso de TARV
222	21	434	110834	C	Virgem de tratamento
246	56	213	37840	B	Em uso de TARV
281	31	71	156210	C	Em uso de TARV
283	50	189	540039	F	Em uso de TARV
297	26	632	736	C	Virgem de tratamento
322	27	645	976	C	Virgem de tratamento
345	35	266	28193	C	Virgem de tratamento
350	51	662	749	C	Virgem de tratamento
373	33	272	326375	C	Virgem de tratamento
389	38	420	5611	C	Virgem de tratamento
398	26	221	132203	C	Virgem de tratamento
470	34	735	1044	C	Em uso de TARV
506	31	561	993	C	Virgem de tratamento
520	19	727	12188	C	Virgem de tratamento
521	54	148	222758	C	Virgem de tratamento
524	50	827	1539	C	Virgem de tratamento
529	47	575	49859	B	Virgem de tratamento
533	43	300	2301	B	Virgem de tratamento
535	31	173	202468	B	Virgem de tratamento
548	29	517	44443	C	Virgem de tratamento

(conclusão)

IDENT	IDADE	CD4	CARGA VIRAL	SUBTIPO	EM USO DE TARV/ VIRGEM DE TRATAMENTO
550	35	236	87335	C	Virgem de tratamento
558	48	130	2619	C	Em uso de TARV
562	42	149	92504	F	Virgem de tratamento
567	58	469	66944	C	Virgem de tratamento
568	22	990	1059	C	Em uso de TARV
576	41	652	682057	C	Em uso de TARV
578	37	106	6477	B	Em uso de TARV
579	30	393	21507	B+C	Em uso de TARV
584	38	163	100544	C	Virgem de tratamento
595	47	615	7266	C	Virgem de tratamento
597	55	448	1517	C	Em uso de TARV
600	37	307	51683	C	Virgem de tratamento
612	62	441	109407	CRF45_CPX	Virgem de tratamento
621	24	401	28153	B	Virgem de tratamento
622	24	477	180400	F	Em uso de TARV
623	29	109	32132	C	Virgem de tratamento
631	50	631	64878	C	Virgem de tratamento
636	38	174	342760	C	Virgem de tratamento

ANEXO A - Parecer substanciado do CEP**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: IMPACTO ECONÔMICO DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EM PORTADORES DO HIV EM FALHA TERAPÊUTICA IDENTIFICADOS A PARTIR DA

Pesquisador: Fabiana Schuelter Trevisol

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 47126215.2.0000.5369

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA-UNISUL

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.206.709

Apresentação do Projeto:

O seguinte trabalho tem por objetivo avaliar o custo-efetividade a partir da genotipagem e fenotipagem do HIV e estimar a sensibilidade aos antirretrovirais em pacientes soropositivos atendidos em Tubarão (SC), e sua associação com o esquema terapêutico atual e marcadores sorológicos. Método: Será desenvolvido um estudo transversal, com 303 portadores do HIV atendidos no Centro de Atendimento Especializado em Saúde (CAES) do município de Tubarão, Santa Catarina. Os portadores serão submetidos à entrevista para coleta de dados epidemiológicos e revisão nos prontuários para coleta dos dados adicionais. Será coletada amostra de sangue para a execução da genotipagem. A partir dos resultados da genotipagem as cepas resistentes aos antirretrovirais serão selecionadas para realizar-se a fenotipagem. Após os resultados da genotipagem e fenotipagem serão calculados os gastos que se teve com os antirretrovirais nos pacientes com falha terapêutica.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar o custo-efetividade da terapia antirretroviral com base nos

resultados de genotipagem e fenotipagem do HIV em pacientes soropositivos adultos residentes em municípios da Região Sul de Santa Catarina.

Objetivo Secundário: Verificar as características epidemiológicas e clínicas dos pacientes soropositivos; Identificar o genótipo de cada paciente infectado pelo HIV; Identificar o fenótipo viral em pacientes infectados pelo HIV com presença de cepas resistentes aos antirretrovirais, detectadas pelo exame de genotipagem; Predizer a susceptibilidade aos antirretrovirais a partir da genotipagem e da fenotipagem dos pacientes soropositivos; Verificar o esquema terapêutico atual, adesão ao tratamento e possível falha virológica em portadores do HIV. Verificar o impacto financeiro da infecção pelo HIV em pacientes com falha virológica. Avaliar o custo-efetividade da geno(feno)tipagem em portadores do HIV em falha terapêutica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Pesquisa relevante com riscos mínimos para os sujeitos envolvidos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa respeita os preceitos éticos vigentes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos apresentados corretamente.

Recomendações:

Incluir no TCLE espaço para assinatura dos pesquisadores envolvidos e espaço para número de documento do sujeito de pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma.

Considerações Finais a critério do CEP:

Protocolo de pesquisa em consonância com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Cabe ressaltar que compete ao pesquisador responsável: desenvolver o projeto conforme delineado; quando aplicável, aplicar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido previamente assinado pelos pesquisadores responsáveis. elaborar e apresentar os relatórios parciais e final; apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento; manter os dados da pesquisa em arquivo,

físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa; encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto; realizar a devolutiva dos resultados da pesquisa aos participantes, e justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
TCLE/Termos de Assentimento/Justificativa de Ausência	TCLE Chaiana.doc	09/07/2015 22:24:47		Aceito
Outros	Folha Unisul Chaiana.doc	09/07/2015 22:25:16		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	chaiana.pdf	11/07/2015 17:28:40		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	chaianapront.pdf	11/07/2015 17:31:30		Aceito
Folha de Rosto	conep chaiana.pdf	11/07/2015 17:41:55		Aceito
Projeto Detalhado/Brochura Investigador	Projeto Geno(feno)tipagem.doc	11/07/2015 18:23:35		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB INFORMAÇÕES_BÁSICAS DO PROJETO_552479.pdf	11/07/2015 18:24:32		Aceito

Situação do Parecer: Aprovado.

Necessita Apreciação da CONEP: Não.

PALHOCA, 30 de Agosto de 2015.

Fernando Hellmann
(Coordenador)