

# A IMPORTÂNCIA DA GENOTIPAGEM DO HIV-1 NA TERAPIA ANTI-RETROVIRAL

Vera Mileide Trivellato Grassi <sup>1</sup>; Luiz Carlos de Mattos<sup>1, 2</sup>.

<sup>1</sup>Academia de Ciência e Tecnologia de São Jose do Rio Preto

<sup>2</sup>Professor do Departamento de Biologia Molecular da Faculdade de Medicina de São Jose do Rio Preto.

## RESUMO

A síndrome da Imunodeficiência Humana é uma doença causada por um vírus com alto poder de mutação e essas mutações afetam o tratamento, pois causam resistência aos medicamentos usados, os anti-retrovirais e com o uso do exame da genotipagem podemos identificar o padrão da mutação e indicar um melhor tratamento para o paciente.

## ABSTRACT

The human immunodeficiency syndrome is a disease caused by a vírus with high power of changing and these changes affect the treatment because it causes resistance to drug use, the anti-retrovirais and with the use of genotyping of the examination can identify the pattern of change and indicate better treatment for the patient.

PALAVRA CHAVE: AIDS, HIV, Genotipagem, Anti-retroviral.

## INTRODUÇÃO

Com o advento da AIDS, muito foi estudado sobre o vírus causador desta síndrome, o HIV, que foi isolado em 1983 no Instituto Paster de Paris e simultaneamente um grupo de pesquisadores no Centers for disease control and preventiona CDC dos Estados Unidos relatou o isolamento de um vírus linfotrópico de célula T humana (LEVY et al.; 1996; CUNNINGHAM et al. 1996.).

O HIV é um retrovírus não-oncogênico, um lentivírus, membro da família **Retroviridae**. Sua complexidade genômica e sua heterogeneidade explicam sua patogenicidade. Como um vírus pertencente à família dos lentivirus está associado a infecções persistentes com longos períodos de latência clínica.

Em 1986 um novo vírus muito semelhante a este foi descoberto e assim a AIDS passou a estar relacionada a mais de um tipo de vírus, e o primeiro vírus a ser isolado passou a ter a denominação de HIV-1 e o segundo de HIV-2, esses dois vírus apesar de relacionados tem diferenças significativas em sua estrutura genômica e também na patogenia. Nesse trabalho abordaremos apenas o HIV-1

## ESTRUTURA VIRAL

O HIV-1 é retrovirus complexo de formato esférico, com aproximadamente, 10nm de diâmetro, constituído de uma membrana lipídica ou envelope, que envolve o nucleocapsídeo viral de formato cônico (LUCIW, 1996). Apresenta um genoma de, aproximadamente, 10kb

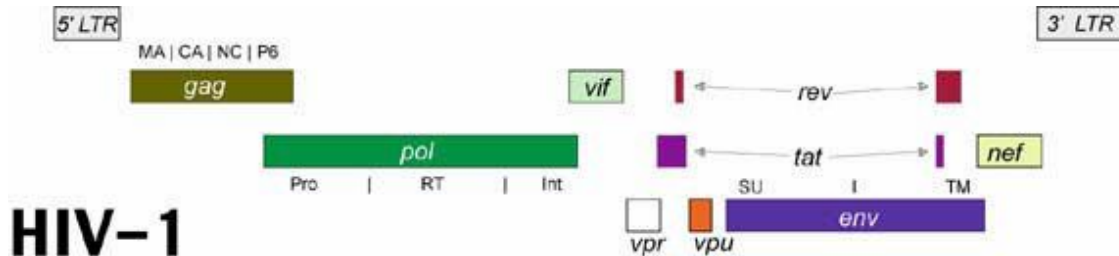
(LUCIW, 1996), que codifica diversas proteínas. As proteínas do envelope são codificadas pelo gene *env*, as proteínas do core são codificadas pelo gene *gag* e as proteínas com atividade enzimática são codificadas pelo gene *pol*. As proteínas estruturais do HIV são importantes, uma vez que é contra elas que se produz a maior parte dos anticorpos detectados pelas técnicas laboratoriais rotineiras. Já as proteínas com atividade enzimática, têm a função de transcriptase reversa, ligase e endonuclease e são responsáveis pela diversidade genotípica do HIV-1.

O HIV-1 é um vírus com uma alta taxa de mutação, e isso faz com que praticamente cada partícula viral contenha um genoma diferente das demais. A diversidade do HIV é em torno de 6% num mesmo indivíduo podendo chegar a 50% entre a população no geral, com esta alta taxa de variação é esperado que o vírus tenha características biológicas diferentes e também essa variação dificulta uma classificação coerente das cepas.

O HIV – 1 é prevalente nas Américas, Europa Ocidental, e África. A classificação das variantes do HIV 1 em nove subtipos filogenicos é baseada nas análises das seqüências dos genes *env* (que codifica a síntese do envelope do retrovírus) e *gag* (que codifica as proteínas estruturais do HIV). Esses subtipos são classificados de A, B, C, D, E, F, G, H e I, e pertencem ao grupo M (major). O outro grupo chamado de O abriga as linhagens altamente divergentes do HIV 1. Um novo vírus designado N de novo, foi recentemente descrito.

No Brasil encontramos os subtipos: B, que é o mais expressivo, e os subtipos C, D, e F.

## O GENOMA DO VÍRUS HIV-1



O HIV-1 apresenta DNA genômico composto por genes estruturais *gag*, *pol* e *env*, que são comuns a todos os retrovírus (ROSEN & PAVLVIKS, 1990), além de dois genes regulatórios, *tat* e *rev*, e de quatro acessórios, *nef*, *vif*, *vpr* e *vpu*, que regulam a replicação do HIV através da produção de suas proteínas características. (CUNNINGHAM *et al.* 1996). Nas terminações 3' e 5', há longas seqüências repetidas denominadas *long terminal repeats* - LTRs. (WIGG *et al.*, 2002).

## BIOSÍNTESE VIRAL

O ciclo de replicação do HIV – 1 possui as seguintes etapas:

Adsorção e Fusão

A primeira etapa é a interação de proteínas do envelope viral com receptores da superfície da célula. Por intermédio de um segundo receptor ou co-receptor o HIV-1 realiza o processo de adsorção e conseqüente fusão do seu envelope com a membrana citoplasmática da célula infectada.

#### Desnudamento

Após a fusão do envelope viral com a membrana da célula a ser infectada, o complexo nucleoproteico é liberado no citoplasma.

Durante a adsorção, fusão e desnudamento ocorrem uma série de alterações estruturais e conformacionais com as proteínas componentes do vírus, essas alterações são disparadas pela ligação aos receptores e se propagam de proteína a proteína através dos pontos de associação entre elas na estrutura viral. As alterações conformacionais possuem dois objetivos. O primeiro é agir como um sinal para o início da transcriptase reversa e o outro é o de promover a desmontagem do nucleocapsídeo para a liberação do genoma viral no citoplasma.

#### Transcrição Reversa

No citoplasma, pela ação da enzima transcriptase reversa ocorre à transcrição das fitas de RNA em uma fita complementar negativa de DNA. A transcrição reversa também atua como ribonuclease H degradando a fita de RNA e, a seguir, sintetizando uma fita positiva de DNA, originando um duplo filamento. Durante a síntese do DNA, ocorre a duplicação das seqüências de cada extremidade do genoma (U3 e U5) que fixam os LTRs em ambas as extremidades. Dessa maneira, o DNA sintetizado é maior do que o RNA viral.

#### Integração:

A fita de DNA de duplo filamento é transportada para o núcleo da célula, onde pode ocorrer a integração (provírus) no genoma da célula, através da enzima viral integrase, ou a permanência na forma circular não integrada.

#### Expressão Gênica

O provírus é transcrito em RNAs mensageiros virais, que vão para o citoplasma. Eles darão origem a proteínas não estruturais que serão responsáveis pela regulação da transcrição de outros RNAs mensageiros, para a síntese das proteínas estruturais dos vírus. O transcrito primário do HIV-1 é um RNA mensageiro idêntico ao RNA viral que é traduzido em proteínas *gag* e *gag-pol*.

#### Empacotamento e Brotamento

Produtos de outros RNAs mensageiros processados originam várias proteínas regulatórias e acessórias que podem afetar a replicação do HIV em diferentes tipos de células. No citoplasma, ocorre a reunião das poliproteínas estruturais, que são sintetizadas por ribossomos livres, com os RNAs virais e migram para a membrana, em locais onde há acúmulo de glicoproteínas virais, saindo das células pelo mecanismo de brotamento.

## Maturação

No momento em que as partículas virais estão sendo liberadas no meio extracelular, elas são imaturas e não infecciosas, mas logo após a sua liberação, a protease viral sofre auto-ativação, passando a clivar as poliproteínas geradas pelos genes *gag* e *gag-pol*, de modo que a partícula viral apresenta o nucleocapsídeo em forma de cone, sendo então considerada infecciosa.

Após a destruição de várias células T, o indivíduo é considerado com AIDS. Ele desenvolverá uma ou mais infecções oportunistas, devido à fragilidade do sistema imune, podendo ir a óbito por causa de tais infecções.

## MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS:

A infecção pelo HIV pode ser dividida nos seguintes estágios: Infecção aguda, fase assintomática ou latência clínica, fase sintomática inicial, fase sintomática intermediária, fase sintomática tardia e infecção avançada ([www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br), site acessado em 15/02/2008).

A classificação da infecção pelo HIV baseia-se em parâmetros clínicos e imunológicos e o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), em 1994, propôs as seguintes categorias:

Categoria N - Assintomática, ou seja, ausência de sinais e/ou sintomas, ou com apenas uma das condições da categoria A.

Categoria A - São aqueles pacientes que apresentam sintomas e/ou sinais leves, podendo apresentar duas ou mais manifestações abaixo listadas, porém sem nenhuma das categorias B e C: linfonodopatia; hepatoesplenomegalia; esplenomegalia; parotidite; infecções persistentes ou recorrentes de vias aéreas superiores (otite média ou sinusite).

Categoria B - Pacientes que apresentam sinais e/ou sintomas moderados, como, por exemplo: anemia, neutropenia ou trombocitopenia; meningite bacteriana, pneumonia ou sepse; candidíase oral; miocardiopatia; infecção por Citomegalovírus; diarreia recorrente ou crônica; hepatite; estomatite pelo vírus Herpes simplex; pneumonite ou esofagite por HSV; nefropatia; herpes zoster; pneumonia intersticial linfocítica (LIP); nocardiose; febre persistente; toxoplasmose e varicela disseminada ou complicada.

Categoria C – AIDS - Pacientes que apresentam sinais e/ou sintomas graves, exceto LIP, como, por exemplo: infecções bacterianas graves, múltiplas ou recorrentes: septicemia, pneumonia, meningite, infecções osteo-articulares, abscessos de órgãos internos; candidíase esofágica ou pulmonar; coccidioomicose disseminada; criptococose extra-pulmonar; criptosporidíase ou isosporíase com diarreia; CMV em locais além do fígado, baço ou linfonodos; infecção por HSV, leucoencefalopatia multifocal progressiva; úlceras mucocutâneas, pneumonite ou esofagite; sarcoma de Kaposi; linfoma primário do cérebro e outros linfomas; histoplasmose disseminada; *Mycobacterium tuberculosis* disseminada ou extra-pulmonar; *Mycobacterium avium* ou *M. kansasii* disseminados; *Mycobacterium* ou outras espécies disseminadas; pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*; salmonelose disseminada recorrente; toxoplasmose cerebral, encefalopatia pelo HIV.

## OS ANTI-RETROVIRAIS.

A nova geração de drogas antiretrovirais contra o HIV causou grandes mudanças no tratamento da AIDS (CARIDE et al. 2000). A terapia para o controle do HIV inclui:

- Inibidores análogos nucleosídeos da transcriptase reversa (INRTs), são a eleszidovudina (AZT), didanosina (ddI), zalcitabina (ddC), lamivudina (3TC), estavudina (d4T) e abacavir (ABC), que agem de forma similar, como terminadoras da cadeia da reação da transcriptase reversa após a fosforilação pelas quinases intracelulares, impedindo a adição de novos nucleotídeos à cadeia de DNA que está sendo sintetizada (TANTILLO et al. 1994).

- inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa (INNRTs) são a delavirdina (DLV), efavirenz (EFV) e nevirapina (NVP) e agem inibindo alostericamente a replicação do HIV-1 pelo deslocamento dos resíduos catalíticos relativos de aspartato do sítio de ligação da polimerase (TANTILLO et al. 1994; SIMONETTI et al.; 2003).

- inibidores da protease (IP) são indinavir (IDV), amprenavir (APV), nelfinavir (NFV), ritonavir (RTV), saquinavir (SQV) e lopinavir/ritonavir. Eles não necessitam uma ativação intracelular e sim de uma ligação forte ao sítio ativo da protease competindo com o substrato natural e produzindo virions inativos e não-infecciosos prevenindo a divisão de poliproteínas virais precursoras *Gag* e *Gag-Pol* em proteínas estruturais e enzimas virais (SIMONETTI et al. 2003).

O Tratamento Antiretroviral Altamente Ativo (HAART) é uma combinação de várias drogas incluindo dois inibidores análogos da transcriptase reversa ou dois inibidores análogos não-nucleosídeos e uma ou mais drogas inibidora da protease.

Com esse tipo de tratamento a morbidade e a mortalidade nos casos de AIDS tem diminuído muito.

O objetivo deste tipo de terapia é que a replicação viral fique a níveis indetectáveis e essa redução permite que o sistema imune seja reconstruído o que ajuda clinicamente o paciente (CARIDE et al. 2000; STINGELE et al. 2001). A diminuição da carga viral também reduz o risco de transmissão, pois reduz a quantidade de vírus tanto no sangue quanto nas secreções (WAINBERG & FRIEDLAND, 1998). A combinação de três ou mais drogas demonstrou ser a melhor opção para pacientes virgens de tratamento e para pacientes já tratados, pois nesses conseguiu-se reduzir a quantidade de RNA viral no sangue abaixo dos limites de detecção, ou seja, menos de 20 cópias/ml. É rara a completa supressão da replicação do HIV-1 apenas com o uso de mono e biterapias, por esta razão é recomendável combinação de três ou mais drogas no mínimo (WAINBERG & FRIEDLAND, 1998).

## MECANISMOS DE VARIAÇÃO VIRAL

As variações genéticas existem em todos os vírus RNA, mas tem sido mais bem caracterizadas para o HIV-1 pela alta taxa de replicação viral e elevada taxa de substituições incorretas de correção, que resulta em mutações, outro fato para o surgimento das variantes é a rápida seleção de vírus com capacidades replicativas diferentes devido à pressão imune, seleção de co-receptores e/ou de drogas anti-retrovirais.

As mutações podem ser definidas em diversas classes e cada uma delas envolve alteração em um único ou em múltiplos nucleosídeos.

- substituições:

São mutações pontuais que resultam na substituição de um único nucleosídeo. Podem ser na porção codificante do gene que criariam códons prematuros de parada, resultando num polipeptídeo truncado e fenótipo mutante, ou em regiões não codificantes, que alterariam seqüências regulatórias funcionais, levando ao aumento ou diminuição da expressão gênica.

- Inserções:

São mutações decorrentes da adição ou remoção de um ou mais nucleosídeos. Podem ser na região codificante e envolver múltiplos de três nucleosídeos resultando na produção de polipeptídeos com comprimento incorreto, ou inserções e deleções não envolvendo múltiplos de três nucleosídeos o que resulta em mutações com deslocamento do quadro de leitura, levando a alteração efetivamente do código. Tanto inserções como deleções podem também afetar a expressão do gene se alteram seqüências regulatórias associadas do gene.

## TERAPIA E RESISTÊNCIA AOS ANTIRETROVIRAIS

Desde 1996 vem se usando a terapia anti retroviral (TARV) e com ela estamos combatendo a evolução do quadro clínico da AIDS (BAXTER et al. 2000). O sucesso da terapia anti-HIV depende da habilidade das drogas em suprimir a replicação viral (HERTOGS et al. 1998; WEGNER et al. 2000). Porém, o aparecimento da resistência viral aos agentes antiretrovirais usados para no tratamento da infecção pelo vírus da Imunodeficiência Humana é uma causa importante de falência terapêutica e limita as opções dos esquemas antiretrovirais alternativos. Essa resistência pode ser consequência da falha terapêutica o anti retroviral deixa de atuar devido à falta de boa adesão ao tratamento, mas também o anti retroviral pode parar de funcionar porque o vírus fica resistente, depois de muito contato com a droga. A resistência então é causa da falha terapêutica.

Existem três tipos de falha terapêutica:

- a clínica: que é quando o paciente passa a apresentar sintomas
- a imunológica: que é caracterizada pela queda dos linfócitos CD4
- a virológica: que é caracterizada pelo aparecimento do vírus no sangue.

Carga viral indetectável é a prova de que o HIV esta sendo destruído eficazmente pelo esquema adotado. Assim, sempre que o HIV começa a ser detectado de novo num paciente usando TARV, estamos diante de uma falha virológica.

Foram descritas mais de cem mutações associadas à resistência, abrangendo as regiões codificadoras da protease e da transcriptase reversa. Mutações resistentes á estes inibidores tem sido identificadas até em pacientes não tratados, e a resistência a drogas aparece antes da falha do tratamento (HERTOGS et al. 1998).

A maior preocupação da saúde pública está em determinar até quando a terapia está, realmente, reduzindo a carga viral, não somente no sangue, mas também nos fluídos genitais, que são os principais veículos de transmissão do HIV em todo mundo (WAINBERG & FRIEDLAND, 1998).

A incompleta supressão da replicação viral causada pelo regime inicial inadequado de drogas pode diminuir os benefícios clínicos do paciente e pode promover o desenvolvimento de resistência a drogas que podem inativar o próximo tratamento. O uso do regime com diversas drogas e o aumento da prevalência de resistência entre o HIV-1 em pacientes infectados tem aumentado a probabilidade de resistentes ao HIV-1 a uma ou mais classes de drogas antiretrovirais serem transmitidas (WEGNER et al. 2000).

No Brasil, pesquisa realizada com 500 pacientes da Rede Nacional de Genotipagem (Renageno) demonstrou que somente 7% não apresentavam resistência a nenhum dos antiretrovirais. Outro estudo feito na Escola Paulista de Medicina, com 791 pacientes, revelou que 94,7% eram resistentes aos inibidores análogos nucleosídicos da transcriptase reversa (INRTs), 58% aos inibidores da protease e 48% aos inibidores análogos não nucleosídicos da transcriptase reversa (INNRTs). Na Europa e na América do Norte, a prevalência da resistência primária a zidovudina é variável e oscila entre 0% e 10% das cepas isoladas (HIRSCH et al. 2000).

Num paciente infectado por vírus RNA, a população viral pode ser descrita como uma “semi-espécie”, o que pressupõe a existência de variantes virais geneticamente diferentes, que evoluíram a partir do vírus inoculado de início. Essas variantes são geradas porque os mecanismos de revisão do DNA, que preservam a composição genética dos organismos com genomas de DNA de fita dupla, não existem nos vírus de RNA. Desse modo, à medida que os vírus RNA de fita simples replicam-se, cada genoma recém-copiado difere do vírus primitivo em média por um nucleotídeo (HIRSCH et al. 2000).

Quando a pressão seletiva dos agentes antivirais for aplicada contra as “semi-espécies” virais deste paciente, estas com resistência aos medicamentos, que até então eram numericamente insignificantes, tornam-se predominantes. O desenvolvimento destas cepas selecionadas pelas drogas ocorre por uma série de substituições de aminoácidos nos alvos atingidos pelas enzimas protease (PR) e a transcriptase reversa. Esta última, responsável pela transcrição reversa do RNA viral *in vivo*, apresenta uma elevada taxa de erro por incorporação de nucleotídeos no genoma. Logo, a droga terapêutica não cria as mutações, mas seleciona aquelas pré-existentes. Apesar destas mutações estarem presentes em grande parte do genoma do vírus, o uso da terapia antiretroviral potente tem melhorado substancialmente o quadro clínico da infecção pelo HIV-1 (HIRSCH et al. 2000).

É muito importante classificar as mutações de resistência em primárias e secundárias. As mutações primárias são geralmente selecionadas numa fase precoce do processo de acumulação das mutações de resistência, são relativamente específicas para cada inibidor, dificultando a ligação deste, podendo produzir um efeito detectável na sensibilidade do vírus aos agentes antiretrovirais. As mutações secundárias acumulam-se nos genomas virais que já apresentaram uma ou mais mutações primárias (HIRSCH et al. 2000).

Uma importante consideração referente a este assunto é o conceito de “barreira genética”, pois para alguns medicamentos antiretrovirais, como a lamivudina, a nevirapina e alguns inibidores não nucleosídicos da transcriptase reversa, uma única mutação pode conferir níveis elevados de resistência, e quando usados em combinação que suprimem, apenas,

parcialmente a replicação do HIV, os mutantes resistentes predominam depois de algumas semanas.

Deve-se, portanto, reservar estas drogas para o uso em conjunto com outros agentes, pois sua utilização em esquemas menos supressores resultaria mais rapidamente em níveis elevados de resistência. Em contraste estão a zidovudina, o indinavir e os inibidores de protease, que possuem um processo geneticamente complexo, envolvendo a acumulação de diversas mutações, pois só tem potencial de conferir resistência quando outras mutações estão presentes, denominadas resistência cruzada (HIRSCH et al. 2000).

Dados demonstraram que o desenvolvimento de mutações relacionadas à zidovudina é suprimida quando um inibidor de protease é combinado com zidovudina/lamivudina. A informação genotípica deve ser considerada como uma rotina na escolha de uma nova terapia para pacientes (MAGUIRE et al. 2000)

Os principais padrões de mutações encontradas no Brasil, independente do subtipo, são K70R, M184V, e T215F/Y. Com menos frequência, encontram-se a L210W, Q151M, Y115F, G333D/E, F116Y, L74I, entre outras. Algumas delas, como a mutação M184V, M41L/T215Y, foram encontradas em isolados de pacientes com carga detectável e com baixa viremia e em células do sangue periférico, partículas virais contendo a mutação M184V relacionada com resistência a lamivudina. Atualmente, as mutações mais encontradas são M184V, K65R, e M41L/T215Y (NETTLES et al. 2004; CARIDE et al.; 2000).

As mutações resistentes às drogas identificadas no período de falha do tratamento estão associadas à baixa resposta a combinação das drogas utilizadas. Há fortes evidências de que o tratamento guiado pelo conhecimento das mutações resistentes pode ser muito mais efetivo. A alternância de terapia com duas ou mais drogas pode ser uma boa estratégia para a prevenção ou retardo do aparecimento desta resistência.

#### GENOTIPAGEM VIRAL:

A genotipagem viral é uma forma direta e rápida para identificar o padrão genético das mutações virais que podem conferir resistência biológica a uma ou mais drogas das diferentes classes terapêuticas (HERTOGS *et al.*, 1998). Ela aponta no genótipo viral as mutações já anteriormente descritas na bibliografia como sendo responsáveis ou associadas ao comportamento viral de resistência. Este teste se tornou uma excelente alternativa ao alto custo e demora na confecção dos testes de fenotipagem. ([www.roche.com.br](http://www.roche.com.br) -15/02/2008). Em geral, são necessárias amostras de plasma com mais de 10.000 cópias/ml de RNA do HIV para se obter bons resultados (HIRSCH, *et al.*, 1999).

Os ensaios para detectar mutações do genoma viral do HIV-1 estão baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) como primeira etapa metodológica (HIRSCH *et al.*, 1999). Na segunda etapa, existem dois métodos para seqüenciar o fragmento amplificado: seqüenciamento automático com terminadores dideoxynucleotídeos fluorescentes e seqüenciamento por hibridização de alta densidade em micro-chips de DNA (“micro array DNA chips”).



O seqüenciamento automático com terminadores dideoxinucleotídeos fluorescentes é o método mais utilizado, pois sua vantagem reside no fato de acessar diretamente a seqüência dos genes alvo de mutações de resistência.

São analisadas as seqüências de DNA dos genes da protease viral completa e da transcriptase reversa (RT) em sua porção inicial. Após seqüenciamento automático do cDNA dos genes da RT e protease virais, as duas seqüências obtidas são comparadas com as respectivas seqüências de um isolado viral-referência já publicado, reconhecidamente sensível às drogas utilizadas.

A genotipagem tem como objetivo ajudar os clínicos na escolha (BAHIA *et al.*, 2004) de um regime efetivo para o tratamento antiviral. Deve-se analisar a mutação identificada, a interpretação da susceptibilidade às drogas e a sugestão para o tratamento (BAXTER *et al.*, 2000).

Caso haja um aumento na prevalência de mutações em uma população em particular, o teste de resistência a drogas antiretrovirais deve ser considerado na escolha do regime inicial de antiretrovirais (WEGNER *et al.*, 2000) e de rotina (MAGUIRE *et al.*, 2000).

Quando se trata de falha virológica o exame de genotipagem é sempre recomendado, pois quando se opta pela introdução da TARV recomenda-se nova carga viral após três a quatro semanas. O objetivo é documentar se o tratamento está funcionando ou não. Ela tem que cair ao menos 1 log. O efeito máximo ocorrerá em seis meses, quando se espera que fique indetectável. Depois a cada três ou quatro meses precisa-se repetir o exame. Se neste exame a carga viral ficar positiva é necessário mudar o tratamento, pois há a falha virológica. Nestes casos o médico ou tenta mudar o esquema de tratamento ou faz um exame de genotipagem.

Para o paciente fazer o teste este deve apresentar a falha terapêutica virológica e estar em uma das situações abaixo relacionadas:

- Primeira falha terapêutica dupla;
- Primeira falha terapêutica tripla contendo ITRNN;
- Primeira ou segunda falha com IP.

Além disso, alguns cuidados são fundamentais, como a carga viral precisa ter sido feita há no máximo dois meses, pois às vezes o exame é antigo e não está refletindo o momento atual do paciente e também tem que ser sempre na vigência do tratamento, pois quando o anti retroviral é suspenso, o vírus resistente começa a ficar invisível, pois o vírus com mutação tem que competir com os vírus não resistentes pelos linfócitos CD4, o teste então perde a sensibilidade. (Tratamento Hoje)

## CONCLUSÃO:

A genotipagem é uma realidade, e a tendência é esse exame ser usado cada vez mais na clínica. Assim aconselhamos o uso do teste com bastante critério, tanto na realização quanto na interpretação, pois este é o melhor instrumento para o resgate terapêutico.

Hoje podemos concluir que com o uso dos antiretrovirais, os pacientes não morrem mais de AIDS, mas nem todos conseguem seguir com o tratamento por conta da resistência aos antiretrovirais e com a genotipagem podemos ao menos ter uma esperança desses pacientes conseguirem voltar ao tratamento. A genotipagem acaba sendo a melhor escolha para detectarmos as mutações que causam resistência aos antiretrovirais.

#### BIBLIOGRAFIA:

ANTONI, B.A.; STEIN, S.B.; RABSON, A.B. - Regulation of Human Immunodeficiency Virus Infection: Implications for Pathogenesis In: MOROSCH, K. M.; MURPHY, F.A.; SHATKIN, A. J. *Advance in Virus Research*. San Diego, California, Academic Press, Inc, 1994. P. 53-145.

BAHIA, F.; PEDROSO C.; NETTO, E.M.; FIGUEIREDO, R.; NETO, L. P.; BRITES, C. Evaluation of the Genotypic Pattern of HIV-1 Resistance in AIDS Patients Failing Antiretroviral Therapy. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. 8: 281-289, 2004.

BAXTER, J.D.; MAYERS, D.L.; WENTWORTH, D.N.; NEATON, J.D.; HOOVER, M. L.; WINTERS, M.A.; MANNHEIMER, S.B.; THOMPSON, M.A.; ABRAMS, D.I.; BRIZZ, B.J.; IOANNIDIS, J.P.A; MERIGAN, T.C. A Randomized Study of Antiretroviral Management Based on Plasma Genotypic Resistance Testing in Patients Failing Therapy. **AIDS**, 14: F83-F93, 2000.

BIRK, M.; ALEMAN, S.; COMANDINI, V.U.; SONNERBORG, A. - Proviral HIV- 1 Dynamics and Evolution in Patients Receiving Efficient Long-term Antiretroviral Combination Therapy. **HIV Med**, 1:205-875, 2000.

CARIDE, E.; BRINDEIRO, R. HERTOQS, K.; LARDER, B.; DEHERTOGH, P.; MACHADO, E.; SÁ, C.A. M.; SILVA, W.A.E.; SION, F.S. ; PASSIONI, L.F.C.; MENEZES, J.A. ; CALAZANSA A.R.; TANURI, A. – Drug-Resistance Reverse Transcriptase Genotyping and Phenotyping of B and Non-B Subtypes (F and A) of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Found IN Brazilian Patients Failing HAART. **Virology**, 275: 107-115, 2000.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. – Interpretation and Use of the Western Blot Assay for Serodiagnosis of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infections. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, 38: 1-7, 1989.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL - 1993 Revised Classification System for HIV Infection and Surveillance Case Definitions for AIDS Among Adolescents and Adults. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, 41: RR-17, 1992.

COFFIN, J.M. – The Virology of AIDS. **AIDS** 4 (suppl. 1): S1-8, 1990.

CUNNINGHAM, A.L.; DWYER, D.E.; MILLS, J.; MONTAGNIER, L. –Structure and Function of HIV. **MJA**, 164:161-171, 1996.

CUNNINGHAM, P.H.; SMITH, D.G.; SATCHELL, C.; COOPER, D.A.; BREW, B. Evidence for Independent Development of Resistance to HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors in the Cerebrospinal Fluid. **AIDS**, 14: 1949-1954, 2000.

FARAH, Solange Bento. *DNA Segredos e Mistérios*. São Paulo. Sarvier, 1997.

HASELETINE, W.A. – Silent HIV Infections. – **The New England Journal of Medicine**, 320: 1487-1489, 1989.

HERTOGS, K.; DEBÉTHUNE, M.P.; MILLER, V.; IVENS, T.; SCHEL, P.; CAUWENBERGE, A.V.; EYNDE, C.V.D.; GERWEN, V.V.; AZIJN, H.; HOUTTE, M.V.; PEETERS, F.; STASZEWSKI, S.; CONANT, M.; BLOOR, S.; KEMP, S.; LARDER, B.; PAUWELS, R. A Rapid Method for Simultaneous Detection of Phenotypic Resistance to Inhibitors of Protease and Reverse Transcriptase in Recombinant Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates from Patients Treated with Antiretroviral Drugs. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 42: 269-276, 1998.

HIRSCH, M.S.; CONWAY, B.; DÁQUILA, R.T.; JOHNSON, V.A.; VÉZINET, F.B.; CLOTET, B.; DEMETER, L.M.; HAMMER, S.M.; JACOBSEN, D.M.; KURITZKES, D.R.; LOVEDAY, C.; MELLORS, J.W.; VELLA,S.; RICHMAN,D.D.-Testes de Resistência aos Agentes Anti-retrovirais nos Adultos HIV-Positivos. **JAMA Brasil**, 1: 1642-1655 1999.

HIRSCH, M.S.; BRUN-WEZINET, F.; D'ÁQUILA, R.T. e cols. - Antiretroviral Drug Resistance Testing in Adult HIV-1 Infection: Recommendation of an International AIDS Society-USA Panel. **Jama**, 283: 2417-2426, 2000.

LEVY, J.A. Heterogeneity in Transmission and Pathogenesis. In *AIDS in the World II*. Edited by Mann J.M., TARANTOLA D.J.M. New York: Oxford University Press 177-185, 1996.

LUCIW, P. A. – Human immunodeficiency Viruses and Their Replication. In: Fields, B.N.; HOWLEY, P.M.; KNIPE, D.M. (ed). *Fundamental Virology*. 3 ed.; Lippincott-Raven publishers, Philadelphia, p. 845-916, 1996.

MAGUIRE, M.; GARTLAND, M.; MOORE, S.; HILL, A.;TISDALE,M.; HARRIGAN,R.; KLEIM, J. – Absence of Zidovudine Resistance in Antiretroviral -Naive Patients Following Zidovudine/Lamivudine/Protease Inhibitor Combination Therapy: Virological Evaluation of the AVANTI 2 and AVANTI 3 Studies. **AIDS**,14:1195-1201, 2000.

NETTLES, R.E.; KIEFFER, T.L.; SIMMONS, R.P.; COFRANCESCO, J.J.; MOORE, R.D.; GALLANT, J.E.; PERSAUD, D.; SILICIANO, R.F. Genotypic Resistance in HIV-1 Infected Patients with Persistently Detectable Low-Level Viremia while Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy. **Clinical Infectious Diseases**, 39: 1030-1037, 2004.

ROSEN, C.A.& PAVLAKIS, G.N.- *Tat e rev*: Positive Regulators of HIV-1 Gene Expression. **AIDS**, 4: 499-509, 1990.

SIMONETTI, S.R.R.; SCHATZMAYR, H.G.; SIMONETTI, J.P. – human Immunodeficiency Virus Type 1: Drug Resistance in Treated and Untreated Brazilian Children. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**,98: 831-837, 2003.

STINGELE, K.; HAAS, J.; ZIMMERMANN, T.; STINGELE, R.; HUBSCH-MULLER, C.; FREITAG, M.; STORCH-HAGENLOCHER, B.; HARTMANN, M.; WILDEMANN, B. – Independent HIV Replication in Paired CSF and Blood Viral Isolates during Antiretroviral Therapy. **Neurology**, 56 (3): 335-361, 2001.

TANTILLO, C.; DING, J.; JACOBO- MOLINA, A.; NANNI, R.G.; BOYER, P.L.; HUGHES S.H.; PAWWELLES, R.; ANDRIES, K.; JANSSEN, P.A.; ARNOLD, E. Locations of Anti-AIDS Drug Binding Sites and Resistance Mutations in the Three-Dimensional Structure of HIV-1 Transcriptase Reverse Implications for Mechanisms of Drug Inhibition and Resistance. **Journal Molecular Biology**, 243: 369-387, 1994.

[WWW.AIDS.GOV.BR](http://WWW.AIDS.GOV.BR)

[WWW.GOOGLE.COM.BR](http://WWW.GOOGLE.COM.BR)

[WWW.AJC.PT/CIENCIAJ/N23/INVIVO/PHP](http://WWW.AJC.PT/CIENCIAJ/N23/INVIVO/PHP)

[WWW.ROCHE.COM.BR](http://WWW.ROCHE.COM.BR)

WAINBERG, M.A.; FRIEDLAND, G. – Public Implications of Antiretroviral Therapy and Drug Resistance. **JAMA**, 279: 1977-1983, 1998.

WEGNER, S.A.; BRODINE, S.K.; MASCOLA, J.R.; TASKER, S.A.; SHAFFER, R.A.; STARKEY, M.J.; BARILE, A.; MARTIN, G.J.; ARONSON, N.; EMMONS, W.W.; STEPHAN, K.; BLOOR, S.; VINGERHOETS, J.; HERTOOGS, K.; LARDER, B. Prevalence of Genotyping and Phenotyping Resistance to Anti-Retroviral Drugs in a Cohort of Therapy-Naive HIV-1 Infected US Military Personnel. **AIDS**, 14: 1009-1015, 2000.

WIGG, M.D.- Antivirais.In: SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M.T.V.; WIGG, M. D. – **Introdução a Virologia Humana**. Rio de Janeiro Guanabara Koogan, 2002. p - .

