

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS

MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS

INFECCIOSAS

ISABEL CRISTINA FERREIRA TAVARES

**PERFIL GENOTÍPICO DE RESISTÊNCIA DO HIV EM
PACIENTES COM FALHA VIROLÓGICA AO
ESQUEMA ANTIRRETROVIRAL DE PRIMEIRA
LINHA NA COORTE DE PACIENTES COM HIV/AIDS
DO INSTITUTO DE PESQUISA EVANDRO CHAGAS 6
FIOCRUZ**

Rio de Janeiro

2013

Perfil Genotípico de Resistência do HIV em pacientes com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha na coorte de pacientes com HIV/AIDS do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas-Fiocruz

ISABEL CRISTINA FERREIRA TAVARES

Dissertação de mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Dr^a Beatriz Gilda Jegerhorn Grinsztejn

Co-orientador: Dr. Estevão Portela Nunes

Rio de Janeiro
2013

ISABEL CRISTINA FERREIRA TAVARES

**PERFIL GENOTÍPICO DE RESISTÊNCIA DO HIV EM
PACIENTES COM FALHA VIROLÓGICA AO ESQUEMA
ANTIRRETROVIRAL DE PRIMEIRA LINHA NA COORTE
DE PACIENTES COM HIV/AIDS DO INSTITUTO DE
PESQUISA EVANDRO CHAGAS Ó FIOCRUZ**

Dissertação de mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Dra. Beatriz Gilda Jegerhorn Grinsztejn

Co-orientador: Dr. Estevão Portela Nunes

Aprovada em 18/12/2013

BANCA EXAMINADORA

Dr^a Mariza Morgado (Presidente)

Dr. José Carlos Couto Fernandez

Dr. Gustavo Albino Pinto Magalhães

Dr^a Raquel Brandini de Boni (Suplente)

Aos meus pais Armando e Idalina, os meus grandes exemplos de vida

Ao meu marido Luiz Fernando, que sempre me deu todo amor e todo o apoio em tudo o que fiz .

À minha pequena Catarina

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar sempre meu caminho.

À Dra. Beatriz Grinsztejn, por toda a ajuda e carinho desde que iniciei na pesquisa clínica.

Ao Dr. Estevão Portela Nunes (co-orientador), por todos os ensinamentos e paciência desde a minha formação como infectologista.

À Dra. Luciane Velasque, pelo acolhimento, compreensão e paciência em todo esse período.

À Dra. Sandra Wagner, por sempre me ajudar não só na tese, mas desde a minha chegada nos ensaios clínicos.

À toda a equipe do Laboratório de AIDS e Imunologia Molecular que me acolheram com muito carinho e me ajudaram no processamento das genotipagens: Dr^a Mariza Morgado, Dr. José Carlos Couto Fernandez, Priscila Guimarães, Suwellen Dias e Isabela Alonso.

Ao Dr. Ronaldo Ismério, pela ajuda com o banco de dados.

Ao curso de Pós-Graduação em pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do IPEC e seus professores, pela oportunidade de completar mais uma etapa da minha formação acadêmica.

A toda a equipe do Serviço de documentação e estatística (SED) do IPEC pela pronta ajuda em disponibilizar os prontuários.

Aos meus incríveis amigos Rodrigo Escada, Marcellus Dias, Mari Tuyama, Maria Pia Diniz, Luiza Carneiro e Ana Cristina Ferreira, por todo o apoio e ajuda nesses anos de muito trabalho.

Aos colegas dos Ensaio Clínicos, que colaboraram de forma direta ou indireta para a conclusão desse objetivo.

A todos os meus pacientes que foram uma das minhas maiores motivações para a realização deste trabalho.

Tavares, I C. **Perfil Genotípico de Resistência do HIV em pacientes com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha na coorte de pacientes com HIV/AIDS do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas-Fiocruz.** Rio de Janeiro; 2013. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) ó Instituto de Pesquisa Evandro Chagas.

RESUMO

Introdução: Ao longo dos trinta anos de identificação do HIV como agente etiológico, muitas mudanças ocorreram, principalmente em relação ao tratamento dos pacientes. O adequado monitoramento e a detecção precoce das falhas virológicas desde o primeiro esquema antirretroviral possibilita escolhas mais adequadas do esquema de segunda linha através da obtenção do perfil das mutações relacionadas à classe de antirretroviral que foi utilizada como primeiro esquema. **Objetivos:** Descrever o perfil genotípico por ocasião da primeira falha virológica em uso de um esquema inicial de cART; Avaliar o impacto do perfil mutacional no momento da primeira falha no uso potencial da etravirina em esquemas antirretrovirais subsequentes; Descrever o perfil da população baseando-se no escore de mutações da etravirina e analisar os fatores relacionados à redução na sensibilidade a esta droga; Avaliar a prevalência de genotipagens com de vírus selvagem e analisar os fatores associados à sua ocorrência; Descrever os fatores relacionados à mutação K65R na primeira falha à cART.

Métodos: Estudo com coleta de dados a partir de prontuários médicos e exames de genotipagem de pacientes com HIV acompanhados no IPEC que tiveram a falha virológica ao esquema antirretroviral inicial no período de 2000 a 2012. Este estudo foi revisto e aprovado pelo Comitê de Ética do IPEC.

Resultados: Foram incluídos 166 pacientes nesse estudo. O subtipo viral predominante foi o B (65,3%). Nos 113 pacientes que usaram esquemas baseados em ITRNN (66,5%), a mutação mais frequente para esta classe foi a 103N. Entre os 17 pacientes que fizeram uso de IP sem *booster*, as mutações mais frequentes na protease foram a 30N, 32I e 46ILV e entre os 36 pacientes que fizeram uso de IP com *booster* as mutações mais frequentes na protease foram a 82ATF, 90M e 46ILV. A mutação para ITRN mais frequente nos três grupos foi a 184VI. Os pacientes que usaram ITRNN foram os que tiveram maior percentual de mutações para ITRN e os que usaram IP com *booster* foram os que tiveram menor percentual de mutação para duas classes. Trinta e dois pacientes (17,6%) apresentaram genotipagem com vírus selvagem, sendo esta associada à presença de carga viral no momento da genotipagem > 50.000 cópias/ml e ao uso de IP com *booster* e sem *booster*. Em relação à etravirina, observou-se uma menor proporção de indivíduos com perfil de sensibilidade plena e uma maior proporção de indivíduos com perfil de resistência (principalmente de nível intermediário) entre os pacientes que utilizaram tenofovir, sendo essa diferença significativa em relação ao total de pacientes avaliados ($p=0,004$). Quarenta e sete pacientes usaram Tenofovir sendo que 31,9% apresentaram a K65R

Conclusões: O perfil genotípico da primeira falha entre os pacientes da coorte do IPEC no período avaliado mostrou uma alta prevalência de 184V/I e 103N. Contrariamente, a prevalência de mutações para a protease foi baixa. A carga viral no momento da genotipagem > 50.000 cópias/ml e o uso de IP com *booster* e sem *booster* foram considerados fatores associados à maior presença de genotipagens com vírus selvagem. Foi evidenciado um perfil mutacional relativamente favorável à utilização da Etravirina em esquemas de futuro resgate na coorte de pacientes do IPEC, pela moderada frequência das mutações que comprometem a atividade deste antirretroviral.

Palavras-chave: HIV, Resistência viral, cART, coorte

Tavares, I C. **Genotypic resistance profile of HIV in patients with virological failure to first-line antiretroviral regimen in a cohort of patients with HIV / AIDS Clinical Research Institute Evandro Chagas-Fiocruz.** Rio de Janeiro, 2013. Dissertation (MSc in Clinical Research in Infectious Diseases) ó Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

ABSTRACT

Introduction: Over thirty years of HIV epidemic, many changes have occurred, especially in terms of patients treatment. Proper monitoring and early detection of virological failures from the first antiretroviral regimen allows better choices for second-line regimen by obtaining the profile of mutations related to antiretroviral class that are being used as the first line.

Objectives: To describe the genotypic profile at the first virologic failure while using the first line cART; evaluate the impact of the mutational profile at the time of first failure in the potential subsequent use of etravirine for salvage regimens; describe the profile of the population relying etravirine's mutations and analyze the factors related to reduced sensitivity to this drug; evaluate the prevalence as well as the associated risk factors of genotyping with the presence of wild-type virus; describe the factors related to the presence of K65R mutation at the first failure to cART.

Methods: The study included data collection from medical records and genotyping of HIV patients followed at IPEC who had presented virologic failure for initial antiretroviral regimen in the period of 2000 to 2012. The present study was approved by IPEC's Ethics Committee.

Results: 166 patients were included in this study. The predominant virus subtype was B (65.3 %). Among the 113 patients using NNRTI -based regimens, the most frequent mutation to NNRTI was 103N. Among the 17 patients who used an unboosted PI, the most prevalent mutations in protease were 30N, 32I and 46ILV. Among the 36 patients who used boosted PI the most frequent mutations in protease were 82ATF, 90M and 46ILV. The most frequent NRTI mutation into the three groups was 184VI. Among patients who used NNRTI we found a higher percentage of mutations to NRTIs and among those who used boosted PI fewer mutations to NRTIs were found. Thirty-two patients (17.6%) had wild type virus, which is associated with the presence of viral load > 50.000 copies/ml at the time of genotyping and with the use of unboosted and boosted PI. Regarding etravirine, there was a lower proportion of individuals with full sensitivity profile and a higher proportion of individuals with resistance profile (primarily intermediate level) among patients who used tenofovir, with a significant difference in relation to total evaluated patients ($p = 0.004$). Forty-seven patients used Tenofovir of which 31.9 % had presented K65R.

Conclusions: The genotypic profile of the first failure among patients in the IPEC cohort showed a higher prevalence of 184V/I and 103N. A small number of mutations to protease was evidenced. The overall prevalence of genotyping with wild type virus was 17.6 %. A viral load > 50,000 copies/ml at the time of genotyping as well as PI use (both, boosted and non-boosted) were found to be associated with an increased presence of with wild type virus factors. A relatively favorable mutational profile to the future use of etravirine in salvage regimens in the IPEC cohort was evidenced by the moderate frequency of mutations that compromise this antiretroviral activity.

Keywords : HIV , viral resistance, cART, cohort

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Pág.
Figura 1: Escore ponderado da etravirina	27
Figura 2: Seleção dos indivíduos	29
Figura 3: Distribuição dos antirretrovirais segundo sua classe na coorte dos pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ	33
Figura 4: Frequência de mutações primárias para ITRNN em pacientes que usaram ITRNN na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.	34
Figura 5: Frequência de mutações primárias para IP em pacientes que usaram IP sem booster e com booster na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ	35
Figura 6: Frequência de mutações primárias para ITRN em pacientes que usaram as três classes de ARV na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ	36

LISTA DE TABELAS

	Pág
Tabela 1: Estudos de falha virológica ao cART de primeira linha	20
Tabela 2: Características sócio-demográficas dos pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.	30
Tabela 3: Aspectos clínico-laboratoriais e do uso de antirretrovirais dos pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.	31
Tabela 4: Distribuição das mutações de acordo com os esquemas utilizados na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ	37
Tabela 5: Análise univariada e múltipla dos fatores associados à genotipagem com vírus selvagem na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.	40
Tabela 6: Análise dos pacientes baseado no escore da etravirina entre os pacientes que usaram não análogos na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.	42
Tabela 7: Distribuição dos pacientes de acordo com a presença da mutação K65R na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ	45

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A: Ficha de coleta de dados	63

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABC	Abacavir
ACTG	(<i>Aids Clinical Trial Group</i>)
ARV	Antirretroviral (ais)
ATV/r	Atazanavir/ritonavir
AZT	Zidovudina
cART	Terapia antirretroviral combinada
d4T	Estavudina
DSTs	Doenças Sexualmente Transmissíveis
EFV	Efavirenz
FDA	(<i>Food and drug administration</i>)
FTC	Entricitabina
HIV	(<i>Human Immunodeficiency Virus</i>) Vírus da imunodeficiência
Humana	
IDV/r	Indinavir/ritonavir
IP	Inibidor (es) da Protease
IPEC	Instituto de Pesquisa Evandro Chagas
ITRN	Inibidor (es) da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos
ITRNN	Inibidor (es) da Transcriptase Reversa Não-Análogos de
Nucleosídeos	
LPV/r	Lopinavir/ritonavir
MS	Ministério da Saúde
NFV	Nelfinavir
NVP	Nevirapina
RAL	Raltegravir
RAM	(<i>Resistance Associated Mutations</i>) Mutações Associadas à
Resistência	

RENAGENO	Rede Nacional de Genotipagens
RPV	Rilpivirina
RTV	Ritonavir
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SQV	Saquinavir
SUS	Sistema Único de Saúde
TAM	(<i>Thymidine Analogue Mutations</i>) Mutações dos Análogos a
Trimidina	
TARV	Terapia antirretroviral
TDF	Tenofovir
3TC	Lamivudina
UDI	Usuário(s) de droga(s) injetável(is)
UNAIDS	<i>Joint United Nations Programme on HIV/AIDS</i> ó Programa
Conjunto das Nações Unidas em HIV/AIDS	

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Breve histórico	3
2.2 Cenário atual	4
2.3 Resistência aos antirretrovirais.....	4
2.3.1 Genotipagem e Fenotipagem.....	5
2.3.2 Mecanismos de resistência aos antirretrovirais.....	6
2.3.2.1 Inibidores análogos de nucleosídeos e nucleotídeos..	6
2.3.2.2 Inibidores não análogos de nucleosídeos.	7
2.3.2.3 Inibidores da protease.....	10
2.3.2.4 Outras classes de antirretrovirais.....	10
2.4 Resistência viral e subtipos do HIV.....	11
2.5 Resistência e adesão aos esquemas antirretrovirais.....	12
2.6 Falha virológica em estudos controlados.....	13
2.7 Estudos de primeira falha.....	15
3. OBJETIVOS	22
4. METODOLOGIA	23
4.1 Caracterização da população.....	23
4.2 Desenho do estudo.....	23
4.3 Critérios de inclusão.....	23
4.4 Critérios de exclusão.....	23
4.5 Definições do estudo.....	23
4.6 Amostra.....	26
4.7 Procedimentos do estudo.....	26
4.7.1 Genotipagens.....	26
4.7.2 Algoritmos de interpretação das mutações de resistência.....	26
4.8 Questões éticas.....	27

4.9 Análise estatística.....	28
4.10 Pesquisa bibliográfica.....	28
5. RESULTADOS.....	29
5.1 Dados sócio-demográficos.....	29
5.2 Características clínico-laboratoriais.....	30
5.3 Perfil mutacional da população estudada.....	33
5.4 Fatores associados à presença de genotipagens com vírus selvagem	39
5.5 Sensibilidade à etravirina.....	41
5.6 Perfil dos pacientes que apresentaram a mutação K65R.....	43
6. DISCUSSÃO.....	46
6.1 Perfil mutacional na primeira falha.....	48
6.2 Genotipagens com vírus selvagem	52
6.3 Sensibilidade à etravirina.....	53
6.4 Mutação K65R.....	54
7. CONCLUSÕES.....	57
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
ANEXO A ó Ficha de coleta de dados	64

1. INTRODUÇÃO

Há cerca de trinta anos sabemos da existência do HIV como causa da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. Ao longo deste período muitas mudanças ocorreram no que diz respeito ao acompanhamento da doença, tratamento e sobrevida dos pacientes, principalmente após o início da era da terapia combinada.

Combinações de antirretrovirais para tratamento inicial da infecção pelo HIV, na maior parte dos países, incluem uso de dois análogos de nucleosídeos associados a um não análogo de nucleosídeos. Esquemas de segunda linha são geralmente baseados em inibidores da protease e esquemas subsequentes necessitam de drogas de segunda ou terceira geração e/ou novas classes.

Considera-se que o primeiro esquema representa a maior possibilidade de sucesso na supressão viral duradoura. Isto porque uma das consequências da falha virológica é a evolução viral com seleção de cepas resistentes aos medicamentos o que leva à perda de opções terapêuticas. O grau de comprometimento das opções futuras de tratamento está relacionado a características associadas aos medicamentos, como a barreira genética (limitações à mutação viral associadas ao número e ao tipo de substituições necessárias nos códons relacionados para haver impacto na sensibilidade à uma determinada droga) e a resistência cruzada que as mutações selecionadas conferem para outros medicamentos dentro da mesma classe. Além disto, fatores como subtipo viral, adesão do paciente a terapia e rigor na monitorização da supressão viral podem influenciar na seleção de cepas resistentes.

Mutações associadas à resistência são identificadas pelo exame de genotipagem em função da pressão seletiva de uma droga, podendo não ser mais observadas depois da interrupção da mesma. Na prática clínica, no momento da avaliação do perfil de resistência após múltiplas falhas, a maioria dos pacientes não estará mais em uso dos antirretrovirais incluídos no primeiro esquema para seu tratamento. Entretanto, essas mutações de resistência viral permanecem em populações virais minoritárias podendo ser esperado seu ressurgimento no momento da reexposição à mesma droga ou a outra droga da mesma classe.

Justifica-se então a necessidade de se obter um perfil de resistência no momento da primeira falha ao esquema antirretroviral. Para tanto, foi planejado um estudo com análise de prontuários médicos e das genotipagens de portadores de HIV acompanhados na coorte de pacientes do IPEC/Fiocruz no período de Janeiro de 2000 até dezembro de 2012. Como resultado, espera-se poder descrever as mutações selecionadas neste período, analisando sua

relação com dados demográficos e as características do esquema antirretroviral utilizado, avaliando também o impacto delas na escolha do esquema de segunda linha e na eficácia das drogas disponíveis para futuros tratamentos de resgate.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Breve histórico

Há cerca de trinta anos o HIV foi identificado como agente etiológico da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Os primeiros casos de SIDA foram reportados em 1981 nos Estados Unidos (Los Angeles, Nova York e São Francisco) com manifestações clínicas de doenças oportunistas tais como pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* e Sarcoma de Kaposi (MICHAEL S. GOTTLIEB et al., 1981). Em 1982, pesquisadores do Instituto Pasteur, na França e do Instituto Nacional do Câncer, nos Estados Unidos, isolaram o retrovírus humano que causa a SIDA. Foi denominado *Human Immunodeficiency Virus* (HIV).

Em 1985 surgiram os primeiros ensaios clínicos para avaliar possíveis opções terapêuticas para essa síndrome. O primeiro fármaco com propriedade antirretroviral a ser testado foi o AZT, um análogo de nucleosídeo inibidor da enzima transcriptase reversa, que foi aprovado pelo FDA para uso em Março de 1987 (FISCHL et al., 1987).

Em Junho de 1992 a Zalcitabina, outro medicamento da mesma classe, foi aprovada pelo FDA para o tratamento de infecção avançada pelo HIV ó combinado com a Zidovudina ó em pacientes que mostravam sinais de deterioração clínica e imunológica. Ao longo dos anos subsequentes verificou-se que mesmo a associação de dois análogos de nucleosídeos não era suficiente para conter adequadamente a replicação viral e evitar o surgimento de resistência viral.

Com a introdução dos inibidores da protease (IP) em 1996, começou a era da terapia antirretroviral de alta potencia (cART), permitindo então uma supressão viral duradoura. O primeiro inibidor da protease a ser aprovado foi o saquinavir, seguido pelo indinavir e ritonavir. Também em 1996 foi aprovada a nevirapina, o primeiro antirretroviral da classe dos inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos. Desta maneira, esquemas antirretrovirais compostos por três medicamentos, sendo um deles um inibidor de protease ou um inibidor não análogo de nucleosídeos acompanhados de uma base contendo 2 análogos de nucleosídeos foram estabelecidos como padrões de cART.

A partir do ano de 2003 novas classes de antirretrovirais surgiram para oferecer alternativas aos pacientes multifalhados, além de novos medicamentos de classes já conhecidas com potencial ação virológica neste contexto. Destacam-se os inibidores de entrada (enfuvirtida), os novos inibidores da protease (tipranavir e darunavir), os inibidores

da integrase (raltegravir), os antagonistas de receptor CCR5 (maraviroque) e os não análogos de segunda geração (etravirina).

2.2 Cenário atual

Segundo o último relatório publicado pela UNAIDS, aproximadamente 35 milhões de pessoas viviam com o vírus da imunodeficiência humana em 2012. Apesar disso, comparando-se com o ano de 2001, houve redução da mortalidade para 1,6 milhões de mortes. Em relação ao número de novas infecções pelo HIV houve um decréscimo de 33% em adultos (em relação a 2001), estando em 2.3 milhões de infecções por ano e de 52% em crianças, cujo número foi de 260.000 novas infecções em 2012 (UNAIDS, 2013).

O objetivo da terapia antirretoviral combinada é suprimir a replicação viral abaixo dos limites mensuráveis, evitando a seleção de mutações de resistência e preservando ou restaurando o sistema imunológico dos pacientes. O guia para uso de antirretrovirais do Ministério da Saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013) recomenda que o esquema de tratamento de primeira linha seja composto por dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos e um inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeos. Na classe dos análogos de nucleosídeos atualmente a dupla preferencial é a combinação de tenofovir e lamivudina seguida de zidovudina e lamivudina e na classe dos não análogos o efavirenz é medicamento de primeira escolha.

Esquemas de segunda linha são geralmente baseados em IP com reforço farmacológico de ritonavir (IP/r) e esquemas subsequentes necessitam de drogas de novas classes. Os novos IP/r (Darunavir/r, Tipranavir/r) e a Etravirina, único representante disponível até o momento da nova geração de não análogos, embora apresentem maior barreira genética ao desenvolvimento de resistência e, portanto, sejam potenciais agentes para pacientes falhados a estas classes, podem também sofrer o impacto do acúmulo de mutações após períodos prolongados de falha a esquemas anteriores. Dessa forma a utilização de drogas de novas classes tais como inibidores da integrase e/ou inibidores de entrada também são importantes componentes de esquemas de resgate para indivíduos com falhas anteriores ao tratamento.

2.3 Resistência aos antirretrovirais

Inúmeros fatores estão envolvidos no desenvolvimento de falha terapêutica, podendo-se destacar a falta de potência na combinação de drogas e a má adesão à terapia antirretoviral

e transmissão de vírus resistentes, resultando em uma supressão incompleta da replicação viral (CANE, 2005).

Uma das conseqüências mais expressivas da falha virológica é a seleção de cepas virais contendo mutações associadas à resistência às medicações em uso. Estudos observacionais demonstraram que a manutenção de esquemas em falha estava associada ao acúmulo de mutações e desenvolvimento de resistência a classes inteiras de medicações ARV. Como resultado de todo este processo, a falha virológica se mostrou significativamente associada ao desenvolvimento de condições oportunistas e ao óbito (HATANO et al., 2006).

Embora nem sempre tenha sido possível demonstrar a utilidade dos testes de resistência disponíveis na eficácia da terapia de resgate, estes foram utilizados na condução, interpretação e estratificação dos resultados dos principais estudos envolvendo novas drogas. São considerados atualmente padrão ouro no cuidado dos pacientes HIV-reativos.

2.3.1 Genotipagem e Fenotipagem

Dois testes para avaliar a resistência podem ser realizados, a genotipagem e a fenotipagem.

A genotipagem é o teste mais utilizado na prática clínica. Ele identifica mutações específicas dos genes virais que conferem resistência a um ou mais antirretrovirais. Podem ser encontradas, por outro lado, mutações que hipersensibilizam ou reverterem a resistência a uma determinada droga. A partir das mutações existentes, algoritmos de interpretação são utilizados, determinando a escolha do esquema de resgate. A interpretação deste teste pode ser difícil, já que o padrão de resistência conferido por um grupo de mutações nem sempre é previsível.

Além disto, o teste de genotipagem habitualmente disponível na prática clínica pode não identificar cepas minoritárias, isto é, presentes em menos de 20% da população viral circulante. Por outro lado, é comum a redução significativa da freqüência de cepas mutantes com a retirada da droga e conseqüente perda da pressão seletiva, principalmente quando a mutação está associada a um custo energético para o vírus, diminuindo sua capacidade replicativa. É fundamental, portanto, levar em consideração a história prévia de exposição a drogas, principalmente componentes de esquemas que apresentaram falha virológica anteriormente.

Já a fenotipagem propõe um exame mais direto e menos sujeito a interpretações. Para isto as enzimas virais consideradas, geralmente a transcriptase reversa e a protease, são extraídas da população viral estudada e incorporadas em um vírus geneticamente modificado

para sinalizar sua replicação. Utiliza-se então a *fold-change* (razão entre a concentração inibitória a 50% do paciente e a concentração inibitória a 50% de referência, que é o vírus selvagem) para estimar a resistência. Uma das desvantagens do exame é estabelecer um ponto de corte que configure resistência para cada antirretroviral. Além disto, o exame é de alto custo e tecnicamente complexo, o que limita muito sua aplicabilidade clínica (MEDEIROS; DIAZ; FILHO, 2002).

2.3.2 Mecanismos de resistência aos antirretrovirais

2.3.2.1 Inibidores análogos de nucleosídeos e nucleotídeos

Este grupo é composto por oito antirretrovirais: zidovudina, lamivudina, zalcitabina (esta já abolida do arsenal terapêutico), didanosina, estavudina, emtricitabina, abacavir e tenofovir (inibidor análogo de nucleotídeo).

A transcriptase reversa é a principal enzima que atua na replicação do vírus HIV mediando a síntese de DNA viral (que é RNA dependente).

Os inibidores análogos de nucleosídeos e nucleotídeos são similares em sua estrutura, aos desoxinucleotídeos naturais (dNTPs) que são fosforilados. Os inibidores análogos de nucleosídeos precisam ser trifosforilados pelas quinases celulares para serem ativados. Após serem fosforilados competem com os desoxinucleotídeos trifosfatos naturais e se incorporam na cadeia de DNA em formação, bloqueando o seu alongamento e, conseqüentemente, sua síntese (CLAVEL; HANCE, 2004) (AFANI S; GALLARDO O, 2011).

Vale ressaltar que o análogo de nucleotídeo Tenofovir, já se apresenta pré-fosforilado, necessitando de uma etapa a menos de fosforilação que os análogos de nucleosídeos.

Existem basicamente dois mecanismos de resistência a esta classe de antirretrovirais. No primeiro, ocorre uma diminuição da incorporação dos análogos de nucleosídeos na presença de mutação de resistência. É o que ocorre, por exemplo, nas mutações M184V, que está associada a resistência a lamivudina, L74V, selecionada habitualmente após a falha a didanosina ou abacavir, e a K65R, mutação principal de resistência selecionada pelo Tenofovir que também compromete a ação de todos os outros medicamentos da classe com exceção da zidovudina.

O segundo mecanismo refere-se ao aumento da excisão do análogo de nucleosídeo do seu sítio de ligação na transcriptase reversa, através de uma pirofosforólise mediada por ATP. É o que ocorre no caso das mutações aos análogos timidínicos (TAMs), que são selecionadas basicamente por zidovudina e estavudina. Este grupo de mutações é composto pela M41L,

D67N, K70R, L210W, T215Y/F e K219Q. Podem ser observadas duas vias mutacionais dentro deste grupo, TAM 1 e 2. A TAM-1 é caracterizada pela presença das mutações 215Y, 41L e 210W enquanto a TAM-2 é caracterizada pela presença de 215F, 67N, 70R e 219Q/E.

O acúmulo de TAMs resulta em aumento de resistência a toda a classe dos análogos de nucleosídeos, principalmente na presença da 41L ou 210W, mutações com maior impacto para o tenofovir. Além disto, duas mutações de resistência conferem resistência a praticamente toda a classe de análogos de nucleosídeos: a Q151M e a inserção da 69.

Algumas mutações nesta classe estão associadas à hipersensibilidade a uma determinada droga. É o que acontece com a mutação K65R que aumenta a susceptibilidade do vírus à zidovudina. Por sua vez, a M184V, frequentemente encontrada na falha à lamivudina, pode reverter de forma variável a resistência à zidovudina ou ao tenofovir mediada por TAMs. Deve-se ressaltar que a K65R e as TAMs são consideradas vias mutacionais antagônicas, raramente presente no mesmo vírus.

2.3.2.2 Inibidores não análogos de nucleosídeos

Neste grupo estão os antirretrovirais efavirenz, nevirapina, delavirdina (não mais disponível), rilpivirina e etravirina. Os três primeiros são inibidores não análogos de nucleosídeos de primeira geração, apresentando baixa barreira genética e perfil de resistência genotípica semelhante, o que pode resultar precocemente em um alto grau de resistência cruzada entre eles. A etravirina é um não análogo de segunda geração, que apresenta uma maior barreira genética, sendo utilizada em esquemas de resgate. A Rilpivirina é o mais novo antirretroviral desta classe, que ainda não foi aprovado para uso no Brasil. Os pacientes que fazem uso deste antirretroviral no Brasil participaram de ensaios clínicos.

Essa classe atua diretamente e de forma não competitiva na transcriptase reversa em uma região próxima do local de ligação do substrato para os nucleosídeos. Os complexos resultantes bloqueiam o local de ativação-catalização da transcriptase reversa. Diferentemente dos análogos, os não análogos de nucleosídeos não requerem ativação intracelular (AMMARANOND; SANGUANSITTIANAN, 2012).

A resistência aos não análogos é provocada por mutações na transcriptase reversa do HIV, que resultam em alterações no encaixe de ligação destes antirretrovirais. Os não análogos de primeira geração (efavirenz e nevirapina) são particularmente suscetíveis a mutações únicas no sítio de ligação, o que pode levar a um alto nível de resistência (BANGSBERG; MOSS; DEEKS, 2004) (MADRUGA et al., 2007). As mutações mais comumente observadas em pacientes em falha terapêutica ao tratamento com esquema de não

análogos são a K103N, Y181C e G190A. Embora a Y181C possa não comprometer significativamente a atividade ao efavirenz (AMMARANOND; SANGUANSITTIANAN, 2012), considera-se que a resistência cruzada entre estes fármacos seja completa, uma vez que as outras mutações estão geralmente presentes, mesmo em populações minoritárias, não se recomendando, portanto, o uso sequencial de não análogos de primeira geração.

A etravirina é um inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos de segunda geração, formulado pela Tibotec e aprovado pelo FDA em Janeiro de 2008, para ser usado em pacientes multi-experimentados.

Comparada aos não análogos de primeira geração, a etravirina apresenta um perfil de resistência diferente, proporcionando supressão virológica mesmo na presença de mutações de resistência a não análogos, (DOMINGO, 2009) (MARCELIN et al., 2010).

Um estudo de fase IIB, o TMC125-C227, foi conduzido em 2008 em pacientes infectados pelo HIV, que nunca haviam utilizado inibidores da protease e que haviam falhado com o primeiro esquema antirretroviral contendo não análogos de nucleosídeos (RUXRUNGTHAM et al., 2008). Este estudo foi interrompido prematuramente em decorrência da menor supressão virológica adquirida com o esquema contendo etravirina em comparação com o grupo controle composto por 2 análogos de nucleosídeos e um IP com *booster* (53% contra 91% que alcançaram > 1 log de queda de carga viral). Estes resultados estão provavelmente associados ao fato de que muitos pacientes recrutados eram provenientes de países com poucos recursos financeiros, o que contribuiu para a permanência dos mesmos por um longo período em esquemas falhados, favorecendo um aumento no número de mutações de resistência selecionadas para a classe dos não análogos.

O TMC 125-c223 foi um estudo de fase IIB conduzido em 199 pacientes multi-experimentados comparando três grupos de tratamento, sendo dois com etravirina (400 ou 800mg duas vezes ao dia) e um com a terapia otimizada contendo três drogas ativas que poderia ser IP e/ou enfuvirtida e inibidor análogo de nucleosídeos. Na análise de 48 semanas foi demonstrado que um número maior de pacientes do grupo da etravirina mantiveram a carga viral abaixo de 50 cópias/ml (22 e 23% para os grupos de 400mg e 800mg respectivamente, contra 0% do grupo controle). Este foi o primeiro estudo que demonstrou a eficácia após 48 semanas de um não análogo de nucleosídeo em pacientes com mutações de resistência para esta classe (GERETTI, 2008) (HILL et al., 2007) .

Destacam-se então os estudos clínicos de fase III (DUET 1 e 2) realizados com pacientes com histórico de falha e seleção de resistência às 3 classes mais utilizadas ó análogos, não análogos e inibidores da protease. Estes estudos tinham como objetivo principal

estimar a proporção de pacientes que atingiriam supressão virológica, ou seja, carga viral indetectável (<50 cópias/ml) na semana 48. Ambos os estudos evidenciaram a superioridade da associação de etravirina ao esquema terapêutico de base quando comparado com o placebo, com o objetivo de alcançar a supressão virológica (DEEKS; KEATING, 2008) (VINGERHOETS et al., 2010). Dados de 96 semanas de tratamento demonstraram a sustentabilidade da combinação contendo etravirina, com resposta virológica (carga viral < 50 cópias/mL) de 57% dos pacientes tratados com etravirina, comparados a 36% dos pacientes que receberam terapia de base isoladamente ($p < 0,0001$), sendo que 91% dos pacientes que apresentaram resposta virológica (< 50 cópias/mL), na semana 48, mantiveram essa resposta na semana 96 (VINGERHOETS J, 2007).

A análise destes estudos permitiu identificar 17 mutações associadas à resistência da etravirina, a saber, V90I, A98G, L100I, K101 E/H/P, V106I, E138A, V179 D/F/T, Y181C/I/V, G190A/S e M230L. Foram atribuídos pesos relativos a cada uma destas RAMs, (DEEKS; KEATING, 2008) (VINGERHOETS et al., 2010) para a composição de um escore genotípico ponderado total. Entre estas RAMs, a Y181C e Y181V tiveram o maior peso relativo, seguidas das mutações L100I, K101P, Y181I e M230L. As mutações com o maior peso, no entanto, tiveram baixa prevalência na população incluída nestes estudos (VINGERHOETS et al., 2010). Demonstrou-se que a resposta virológica à etravirina foi função do escore genotípico ponderado basal total. (VINGERHOETS et al., 2010).

Outro aspecto que deve ser destacado em relação ao perfil de resistência da etravirina é que na lista de RAMs para este antirretroviral não se encontra a mutação K103N. Embora esta mutação tenha sido a de maior prevalência nos pacientes dos estudos DUET, por ser a principal via mutacional selecionada pelo Efavirenz no subtipo B, sua presença não teve efeito sobre a resposta virológica da etravirina (VINGERHOETS et al., 2010) (DOMINGO, 2009). Em outro estudo, realizado por Marcelin et al (MARCELIN et al., 2010), onde foram recrutados 243 pacientes com falha virológica aos não análogos, foi encontrada uma associação entre a presença da K103N e uma melhor resposta virológica a etravirina. Duas outras mutações, a Y181V e a E138A, foram associadas de forma independente à baixa resposta virológica à etravirina. Não foi evidenciado nenhum efeito da mutação Y181C (que confere resistência à nevirapina) na resposta virológica com a etravirina. No entanto, mais estudos são necessários para a confirmação destes dados.

2.3.2.3 Inibidores da protease

Neste grupo estão incluídos: saquinavir, indinavir, nelfinavir, ritonavir, lopinavir, atazanavir, amprenavir, fosamprenavir, tipranavir e darunavir. Os inibidores da protease mimetizam os peptídeos virais que são normalmente reconhecidos e clivados pela protease viral, responsável pelo processamento dos precursores proteicos Gag e Gag/Pol. Eles possuem uma grande afinidade pelo sítio ativo da protease do HIV inibindo sua atividade catalítica de forma competitiva e muito seletiva. O excesso de inibidores da protease dentro das células, em comparação à quantidade do substrato natural do HIV, leva à inibição da replicação do vírus.

As mutações de resistência aos inibidores da protease resultam de substituições no gene que codifica a protease, alterando a estrutura proteica da enzima. Elas podem surgir próximas ao sítio ativo ou em domínios distantes da molécula que promovem o acesso ao sítio ativo. Estas mutações podem ser classificadas em primárias, que são droga-específicas, e secundárias, que por si só conferem pouca resistência à terapia. No entanto, a presença das mutações secundárias pode restaurar a replicabilidade viral comprometida pelas mutações primárias e resultar em elevada resistência cruzada a um grande número de inibidores da protease (CORTEZ; MALDARELLI, 2011).

2.3.2.4 Outras classes de antirretrovirais

Além das classes já citadas vale mencionar outras mais novas e mais utilizadas após a segunda falha. Destacam-se os inibidores da integrase, os inibidores de fusão e os antagonistas de CCR5.

A classe dos inibidores de integrase é composta pelo Raltegravir, o Dolutegravir e o Elvitegravir. O primeiro deles é utilizado no Brasil apenas nos casos de pacientes que apresentaram múltiplas falhas aos esquemas antirretrovirais, não sendo habitualmente liberada para uso em primeira linha ou após primeira falha, exceto em casos de intolerância a outras alternativas ou para participantes de estudos clínicos. Mutações de resistência podem ser encontradas após a falha mesmo em esquema inicial. Três mutações principais foram descritas em pacientes apresentando falha ao raltegravir: Y143H/R/C, N155H e Q148H/K/RO, esta frequentemente associada a uma mutação secundária no códon 140 e que confere maior resistência cruzada aos outros componentes da classe. Embora o impacto causado por um pequeno número de mutações indique uma reduzida barreira genética deve-se ressaltar que a monoterapia com esta droga por até 10 dias não está associada a uma significativa frequência de seleção de cepas resistentes. Ausência de resistência na integrase não é incomum nos casos

de falha ao raltegravir, embora a manutenção de esquemas em falha leve geralmente a seleção de cepas contendo as mutações descritas (NUNES; DE OLIVEIRA; GRINSZTEJN, 2010). As outras drogas da classe, Dolutegravir e o Elvitegravir, ainda não estão disponíveis no Brasil.

A classe dos inibidores de fusão, composta basicamente pelo antirretroviral Enfuvirtida ou T-20 e a classe dos antagonistas de CCR5 Maraviroque, recentemente disponibilizado no Brasil, são indicados em nosso meio apenas para terapia de resgate. A representatividade destes agentes, mesmo em outros países, em esquemas de primeira linha é reduzida.

2.4 Resistência viral e subtipos do HIV

O vírus HIV-1 apresenta uma grande diversidade genética às custas de erros introduzidos durante a síntese do DNA viral a partir do RNA. Ele pode ser classificado em 4 grupos (M,N, O e P), sendo o grupo M classificado em 9 subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K) e 55 formas recombinantes (CRFs), sendo estas mais prevalentes na Ásia e África. Os subtipos A e F podem se subdividir em quatro e dois sub-subtipos respectivamente: A1, A2, A3, A4, F1 e F2 (ROBERTSON et al., 2000) (LAU; WONG, 2013) (BRUN-VÉZINET; CHARPENTIER, 2013).

No mundo como um todo, a maioria das infecções pelo HIV-1 é provocada por subtipos não-B. No Brasil a maioria das infecções é causada pelos subtipos B e F e de forma minoritária, pelo subtipo C (MUNERATO et al., 2010).

Os perfis de resistência mais extensamente identificados são baseados nos subtipos B do HIV-1, devido a sua maior prevalência nos países com maiores recursos. No entanto, os subtipos não-B apresentam algumas diferenças no que diz respeito à transmissão viral, à progressão para SIDA e a mecanismos de resistência, levando à respostas diferentes aos antirretrovirais (MUNERATO et al., 2010).

As vias mutacionais para as drogas antirretrovirais podem ser diferentes nos diversos subtipos, devido a alterações nas bases nitrogenadas que facilitam determinadas mutações mesmo sem alterar o aminoácido presente no vírus selvagem. Assim, a mutação K65R, selecionada quase que exclusivamente pelo Tenofovir no subtipo B, é identificada com mais frequência no subtipo C, onde pode aparecer associada ao uso de outras combinações de drogas, incluindo estavudina e didanosina.

Por outro lado, alguns estudos evidenciaram que os subtipos não-B podem apresentar polimorfismos naturais associados a resistência à etravirina (KANTOR et al., 2005). No

entanto, em estudo realizado por Maiga et al (MAÏGA et al., 2010) no Mali (Africa), incluindo predominantemente pacientes infectados por HIV dos subtipos CRF02_AG e CRF06_cpx, apenas um pequeno percentual (9.8%) apresentava uma mutação de resistência para etravirina, sendo as mais prevalentes a V90I, E138A, V106I e V179E, que isoladamente não geram grande impacto na resistência a esta droga.

Mais recentemente, em 2012, foi publicado estudo sobre a prevalência de mutações associadas à etravirina em pacientes que falharam a esquemas de primeira linha contendo efavirenz, com análise comparativa em relação aos subtipos de vírus HIV (B e não-B). A variância genética do vírus HIV-1 não influenciou de forma estatisticamente significativa a susceptibilidade da etravirina em pacientes falhados a esquemas contendo efavirenz. Embora alguma mutação para etravirina tenha sido identificada em 47.3% das sequencias analisadas, utilizando-se o sistema de pontuação ponderado, foi observado que apenas 3.6% das sequencias apresentavam um escore maior do que 4. (PEREIRA-VAZ et al., 2012).

2.5 Resistência e adesão aos esquemas ARV

Uma das causas mais importantes e frequentes de resistência viral é a baixa adesão ao tratamento, que pode estar relacionada aos efeitos colaterais dos esquemas terapêuticos e a complexidade da posologia, entre outros fatores como aceitação da doença, revelação do diagnóstico, etc..

Dados *in vivo* e teóricos sugerem que os não análogos de primeira geração possuem características que os tornam mais susceptíveis à seleção de mutações de resistência quando a supressão viral é inadequada. São medicamentos muito potentes, exercendo forte pressão seletiva sobre o vírus, atuam num local distante do sítio ativo de sua enzima-alvo e as mutações principais que conferem resistência a estas drogas não afetam o *fitness* ou capacidade de replicação do vírus. Além disto, no caso de interrupção do tratamento, a longa meia-vida plasmática destas drogas levam a persistência de níveis séricos significativos por tempo muito maior do que as outras drogas que compõem o esquema de tratamento. Assim, o vírus fica exposto a uma única droga ativa, de baixa barreira genética e que permanece por um longo período em concentrações séricas inadequadas, condições que favorecem a seleção de mutações de resistência para esta classe.

Os IP não reforçados com ritonavir também apresentam perfil farmacocinético que favorece a seleção de mutações no caso de supressão viral inadequada. Isto porque a os níveis séricos, principalmente nos casos de adesão insatisfatória, podem ficar próximos ao IC50 (concentração inibitória mínima com 50% da droga) da droga, região de forte pressão seletiva,

favorecendo o aparecimento das primeiras mutações de resistência, que possuem reduzida sensibilidade ao medicamento. A seleção de mutações adicionais, reduz ainda mais a sensibilidade a droga e levam ao comprometimento de outras drogas da mesma classe.

Contrariamente, muitos desses fatores citados não acontecem para os IPs reforçados com ritonavir, para os quais são necessárias várias mutações de resistência para reduzir sua eficácia. Ademais, como a meia-vida dessa classe é curta, a permanência de níveis subterapêuticos que propiciariam chance de replicação viral também é menor durante os períodos de não adesão.

Em resumo, para IP não reforçado com ritonavir a maioria das mutações surge nos pacientes que tomam a maioria das doses prescritas com maior incidência nas faixas de adesão de 70-80%. Para IP reforçado com ritonavir o surgimento de resistência é limitado independentemente do nível de adesão e, para os não análogos pode aparecer em caso de interrupção do tratamento ou quando os níveis de adesão comprometam a eficácia virológica (SCHILLER; YOUSSEF-BESSLER, 2009).

2.6 Falha virológica em estudos controlados

Estudos controlados realizados com o objetivo de investigar diferentes estratégias de esquemas de primeira linha, ajudaram a definir as características associadas a escolha de cada classe de antirretroviral. Em especial em relação a falha terapêutica, foi possível observar as particularidades associadas ao perfil mutacional que é selecionado nos diversos esquemas, ajudando a definir o impacto resultante na perda de opções terapêuticas.

O ACTG 5142 foi um estudo, multicêntrico, randomizado, onde foram comparados três regimes de primeira linha de cART : EFV com 2 análogos de nucleosídeos, LPV/r com 2 análogos de nucleosídeos e LPV/r com EFV. O grupo contendo LPV/r e EFV foi o que apresentou o maior número de mutações de resistência no momento da falha, quase todas relacionadas à classe dos não análogos de nucleosídeos (EFV). Esse fato foi atribuído a dificuldade de adesão ao esquema, que pode ter levado a períodos de interrupção frequentes quando o vírus era exposto apenas ao EFV, droga de meia vida significativamente maior e de reduzida barreira genética a resistência, favorecendo então ao aparecimento de mutações relacionadas aos não análogos (RIDDLER et al., 2008).

No braço do EFV com 2 análogos de nucleosídeos a falha terapêutica também esteve frequentemente associada a classe dos análogos de nucleosídeos. Já entre os pacientes randomizados para o braço de LPV/r com 2 análogos de nucleosídeos, não foram identificadas mutações primárias no momento da falha virológica e mesmo a resistência aos

análogos de nucleosídeos se mostrou menos frequente do que no braço que utilizou esta classe em combinação com o efavirens. Concluiu-se então que a falha a esquemas contendo não-análogos, embora menos frequente do que a encontrada no braço que uso LPV/r em combinação com análogos, foi associada a maior perda de opções terapêuticas. (RIDDLER et al., 2008).

Anos mais tarde, foi realizado outro importante estudo randomizado, o ACTG 5202 (DAAR, 2011), que comparou quatro regimes de primeira linha: ABC/3TC ou TDF/FTC com ATV/r ou EFV. A falha virológica nos braços contendo EFV esteve mais uma vez associada a uma frequência maior de seleção de mutações de resistência do que no braço do IP comparador, onde mutações primárias na protease não foram observadas.

Avaliando a resistência entre esquemas contendo inibidores de protease, é importante mencionar um estudo controlado duplo cego, o M98-863, realizado em 2002 e que comparou o uso de LPV/r com NFV (associado à estavudina e lamivudina). Ao final do estudo um grande percentual de pacientes apresentaram CV abaixo de 50 cópias/ml no braço do LPV/r quando comparado ao braço do NFV (67% e 52%, respectivamente). Em relação à falha virológica, não foram observadas mutações na protease nos casos de falha entre os pacientes que utilizaram LPV/r enquanto que 33% dos 76 pacientes que usaramem falha com nelfinavir e que fizeram genotipagem, apresentaram mutações para esta droga. Estas mutações foram observadas principalmente no grupo na faixa de adesão entre 70-80%, reforçando o conceito de que os paciente mais vulneráveis a perder opções terapêuticas após a falha a esta classe são aqueles que tomam a maioria das doses prescritas (WALMSLEY et al., 2002).

Nos últimos anos, estudos de não-inferioridade com inibidores da protease foram realizados. No estudo KLEAN (PULIDO et al., 2009) foi evidenciado que o fosamprenavir/ritonavir quando administrado duas vezes ao dia tinha a mesma eficácia que o lopinavir/ritonavir em pacientes que iniciaram cART. De forma semelhante, no estudo ARTEMIS (FOURIE et al., 2011), foi evidenciada a não inferioridade do darunavir/ritonavir no tocante à resposta virológica comparando com o lopinavir/ritonavir e no estudo CASTLE (MOLINA et al., 2010) foi evidenciada a não inferioridade do atazanavir/ritonavir em relação ao lopinavir/ritonavir também no que diz respeito à resposta virológica. No estudo GEMINI (WALMSLEY et al., 2009) foi feita a comparação do saquinavir/ritonavir com o lopinavir/ritonavir mostrando a não-inferioridade do primeiro em relação ao segundo na falha virológica.

Em todos estes estudos os índices de falha virológica foram baixos e a mutação mais vista foi a M184V. Adicionalmente, amostras de apenas 2 pacientes apresentaram mutações

principais na protease selecionadas após a falha virológica, um participante do estudo GEMINI, pertencente ao braço saquinavir/ritonavir (mutações nos códons G48V, V82A, I84V) e um paciente do braço atazanavir/ritonavir do estudo Castle (mutação 88S). Este dado reforça o baixo risco de mutações na protease em pacientes utilizando IP/r em estudos controlados.

2.7 Estudos de Primeira Falha

Nos últimos três anos muitos estudos foram publicados com a finalidade de descrever as mutações encontradas na primeira falha ao esquema cART avaliando o impacto destas mutações em esquemas de resgate. A grande maioria das publicações é do continente Africano com pacientes em falha a esquemas baseados em dois análogos de nucleosídeos e um não análogo de nucleosídeo, conforme se preconiza nos guias terapêuticos daqueles países. No entanto, estudos na Europa e Ásia também foram publicados com esta mesma finalidade e apresentando resultados algo diferentes (Tabela 1).

Embora os estudos africanos tenham sido realizados em diversos países ao longo desse tempo, destaca-se a participação da África do Sul. O estudo de van Zyl et al, realizado em 2011 neste país incluiu 167 pacientes em falha virológica ao primeiro tratamento. Eles estavam em uso de esquemas contendo dois análogos (d4T/TDF/AZT + 3TC) e um não análogo de nucleosídeos (EFV/NVP). Neste estudo em que o subtipo mais frequente foi o C, 17% dos pacientes não apresentavam nenhuma mutação associada à resistência. A mutação mais prevalente foi a M184V (60%). Em relação aos inibidores análogos de nucleosídeos, também foram identificadas TAMs em 11,9% das amostras, sendo que 6% apresentavam número de TAMs \times 3 e este dado estava associada ao maior tempo de falha virológica. A K65R, mutação associada a resistência ampla aos análogos de nucleosídeos, principalmente ao tenofovir, foi identificada em 6 pacientes (4,2%), 5 em uso de estavudina e 1 em uso de zidovudina. Em relação aos não análogos a mutação mais frequente foi a K103N (35,3%), seguida da Y181C (14,9%), G190A (13,7%), V106M (20,9%). Destaca-se a presença da 181C em aproximadamente 15% dos pacientes, uma vez que mesmo isoladamente, esta mutação já tem impacto significativo na eficácia a etravirina. O uso da nevirapina, droga frequentemente associada à seleção da 181C, sem mostrou associado a resistência a etravirina em comparação com os pacientes que usaram efavirenz. (VAN ZYL et al., 2011).

Os mesmos autores ampliaram depois o tempo de observação para analisar o impacto da incorporação em larga escala do tenofovir, abacavir (este principalmente em crianças) na prática clínica da África do Sul. Foi possível demonstrar um aumento considerável na

frequência da 65R (46% entre os pacientes com falha ao tenofovir e 16% entre os pacientes com abacavir) e da 74V (8,5% dos pacientes em uso de tenofovir e 56% dos pacientes em uso de abacavir) neste período (VAN ZYL et al., 2013).

Outro estudo realizado na África do Sul por Wallis et al em 2011 envolveu 83 amostras de pacientes em falha virológica ao esquema cART inicial. Além de esquemas compostos por não análogos de nucleosídeos (NVP/EFV), havia também alguns esquemas baseados em IP (LPV/r e NFV). O subtipo dos participantes não foi avaliado. Nenhuma mutação associada à resistência foi encontrada em 27% dos pacientes. A única mutação para análogos de nucleosídeos encontrada de forma significativa neste estudo foi a M184V (57%). Por outro lado a presença de TAM ou da K65R foi identificada em apenas 1% cada. Em relação aos não análogos, houve novamente um predomínio da K103N (46%) com um número significativo de pacientes apresentando também sensibilidade reduzida a etravirina mediada pela Y181C (21%). Especula-se que o padrão menos complexo de resistência aos análogos de nucleosídeos neste estudo se deva a monitorização virológica mais rigorosa, uma vez que os pacientes realizavam carga viral a cada 12 semanas para avaliação de eficácia terapêutica (WALLIS et al., 2011a).

Ainda na África do Sul, Sigaloff et al, publicaram estudo onde havia 43 genotipagens correspondendo a primeira falha virológica. Os participantes em questão estavam em uso de não análogos de nucleosídeos (EFV/NVP) como componente do primeiro esquema. Apenas 12% dos pacientes não apresentavam mutações associadas a resistência. O acúmulo de TAM ocorreu numa velocidade mais rápida do que previamente descrito, 0,07/mês de exposição à droga. Diferente dos outros estudos, não foi identificada a mutação Y181C, levando a uma menor perda de sensibilidade a etravirina nesta população. (SIGALOFF et al., 2012).

Em 2012, foi publicado estudo realizado em 6 países africanos, onde 142 participantes com carga viral > 1000cp/ml após 12 meses de cART foram incluídos para realização de teste de genotipagem de forma retrospectiva. Os esquemas de primeira linha utilizados também continham não análogos de nucleosídeos (EFV/NVP). A presença de pelo menos 1 mutação associada à resistência foi identificada em 70% dos pacientes. Em aproximadamente 50% havia resistência a duas classes. O perfil mutacional mostrou o predomínio da M184V, e uma frequência significativa de K65R (12%), especialmente nos pacientes fazendo uso de estavudina (15%) ou tenofovir (27%). A seleção de TAM foi identificada menos frequentemente (8,5%). Em relação aos não análogos o perfil foi muito semelhante ao encontrado no estudo de van Zyl, com predomínio da K103N (28,9%), Y181C (15,5%) e

G190A (14,1%) (HAMERS et al., 2012). Neste estudo o subtipo mais prevalente também foi o C (54,2%).

Em outro estudo realizado no Togo foram analisados 58 pacientes em uso de esquemas de primeira linha baseados em não análogos (EFV/NVP) que após 1 ano apresentaram falha virológica. Quase todos os pacientes incluídos estavam em uso de estavudina + lamivudina + nevirapina em combinação fixa como esquema terapêutico. Deste total, 46 pacientes apresentavam mutações associadas à resistência e todos eles apresentavam resistência aos não-nucleosídeos. Neste estudo, a mutação mais encontrada foi a Y181C (60,4%), o que reflete a ampla predominância de esquemas baseados em nevirapina. Além da elevada prevalência de resistência intermediária a etravirina mediada por esta mutação, oito pacientes deste estudo já apresentavam alto nível de resistência a droga. Outra diferença encontrada nesse estudo foi a maior prevalência de subtipos com as formas recombinantes CRF02_AG (56,5%) e CRF06_cpx (13%) (DAGNRA et al., 2011).

Em Malawi, foi realizado estudo prospectivo com 603 pacientes que iniciaram esquema cART no ano de 2008. Amostras coletadas para realização de carga viral após 12-15 meses de tratamento identificaram 29 pacientes apresentando falha virológica. Em relação ao perfil mutacional, houve mais uma vez uma maior prevalência de M184V (79,2%). Em relação aos análogos também foram encontradas em proporções muito semelhantes a K65R (11,4%) e as TAMs (11,4%). As mutações para não análogos mais frequentes foram a K103N (58,3%) e Y181C (45,2%). Neste estudo não foi realizada a identificação de subtipos. A identificação de resistência na falha esteve significativamente associada à presença de mutações antes do tratamento, especialmente em relação aos não análogos. (WADONDA-KABONDO et al., 2012).

Mais outros dois estudos africanos abordaram a primeira falha virológica (MUWONGA et al., 2011) (PÉRÉ et al., 2012). Neles o perfil mutacional foi muito semelhante a todos os outros estudos africanos com maior predominância das mutações 184V/I, K103N, Y181C, G190 A. No entanto, em um deles realizado na República Centro Africana, além de esquemas contendo não análogos de nucleosídeos, foi utilizado esquemas com inibidores de protease (IDV/r) e portanto, houve o aparecimento principalmente de três mutação para a protease: 46I/L (9%), 90M (9%) e 82 A/F (6%) (PÉRÉ et al., 2012).

Na Europa, dois importantes estudos foram realizados. O primeiro foi publicado por von Wyl et cols abordando o perfil mutacional na primeira falha na coorte suíça. Este estudo teve 109 participantes que vinham em uso de esquemas de primeira linha contendo não análogos (EFV) e IPs com *booster* (LPV/r e ATV/r). A mutação mais frequente para todos os

grupos de tratamento foi a M184V. O aparecimento de TAMs foi pouco frequente e mais observada no grupo que usou AZT/3TC/EFV. As mutações para a classe dos inibidores de protease foram muito poucas, não comprometendo esta classe. Este estudo não avaliou o subtipo do vírus dos participantes (VON WYL et al., 2012).

O segundo foi realizado na Itália, com maior número de participantes (300). Neste estudo foram utilizados apenas não análogos de nucleosídeos associados a análogos timidínicos e não timidínicos. Foi evidenciada maior prevalência da mutação 184V e 103N. As mutações K65R e 115F só apareceram no grupo que usou análogos não timidínicos. É diferente de todos os estudos relatados anteriormente a maior prevalência do subtipo foi o B (SANTORO et al., 2013).

Na Tailândia, dois estudos podem ser citados. Ambos mostraram o perfil de resistência na primeira falha em uso de esquemas contendo não análogos e ambos obtiveram resultados muito semelhantes. Em relação às mutações mais prevalentes houve um predomínio da 184V/I, seguido das TAMs (67N, 70R e 215F). Em relação às mutações para não análogos houve o predomínio da 181C, sendo também observadas a 190 A e da 103N. Os subtipos mais prevalentes destes pacientes foram CRF01_A/E que é o subtipo mais prevalente na Tailândia (BUNUPURA DAH et al., 2011) (PRAPARATTANAPAN et al., 2012).

Em 2008, foi publicada revisão sistemática abordando a resistência à primeira linha de cART por Gupta et al (GUPTA et al., 2008). Esta revisão mostra uma maior prevalência das mutações M184V e K65R nos pacientes que tiveram falha virológica com esquemas baseados em não análogos (35,3% e 5,3%, respectivamente), quando comparado com esquemas baseados em IPs (21% e 0%, respectivamente). Foi demonstrado também uma maior frequência de resistência à terceira droga (53% vs 0,9%) e um maior percentual de pacientes que apresentaram $\times 1$ TAM (1,5% vs 0,6%) no grupo que fez uso de não análogos do que no grupo que fez IP. Além disso, foi evidenciado que a prevalência de resistência na população tratada foi pequena, apesar das taxas de falha virológica serem superiores a 10%. Isso foi justificado pela alta taxa de genotipagens sem mutações de resistência.

Todos estes estudos mostram a importância da avaliação da resistência viral nas diversas populações, para melhor compreensão quanto a disseminação de vírus resistentes e ao maior comprometimento de esquemas de tratamento futuros.

No entanto, no Brasil poucos estudos foram realizados para avaliar a questão do perfil de resistência à primeira falha ao cART. Diferente dos países africanos, o Brasil apresenta como subtipo mais prevalente o B, que pode levar a perfis mutacionais diferentes na seleção de cepas resistentes. Além disso, a monitorização virológica no nosso país, por ser mais

amplamente disponível do que no continente africano, pode modificar o perfil mutacional selecionado após a primeira falha.

Sabe-se que mutações associadas a resistência são identificadas pelo exame de genotipagem em função da pressão seletiva das drogas em uso no momento do exame e que quando ocorre sua interrupção essas mutações tendem a desaparecer com o tempo.. Entretanto, essas mutações de resistência viral permanecem arquivadas podendo ser esperado seu ressurgimento no momento da reexposição à mesma droga ou a outra droga da mesma classe.

Assim, a genotipagem, num momento posterior à ocorrência de múltiplas falhas, pode não refletir o real perfil das mutações selecionadas por classes terapêuticas utilizadas anteriormente. Justifica-se então a necessidade de se obter um perfil de resistência mais precoce e detalhado entre os pacientes que tiveram a primeira falha ao esquema antirretroviral, visando compreender o grau de comprometimento das alternativas futuras para tratamento de resgate. Além disto, a análise dos fatores relacionados aos diferentes perfis mutacionais pode ajudar a criar mecanismos relacionados ao cuidado dos pacientes com infecção pelo HIV, tanto em relação à escolha do esquema medicamentoso como estratégias de adesão e monitorização laboratorial, visando prevenir a perda de opções terapêuticas.

Tabela 1: Estudos de falha virológica ao cART de primeira linha

Autor	Ano	País(es)	Amostras de falha (n)	Esquemas utilizados	Critério de falha	Frequência das mutações de resistência	Subtipo
Wallis	2011	África do Sul	83	D4T/3TC+NVP/EFV/LPV/r/NFV	2 CV consecutivas > 1000 cp/ml	27% - sem mutações; ITRN: 184V ó 57%, TAM ó 1% ITRNN: 103N ó 46%; 181C ó 21%;	--
Van Zyl	2011	África do Sul	167	D4T/3TC/TDF/AZT+NVP/EFV	> 400 cp/ml	16,7% - sem mutações; ITRN: 184 V/I ó 60,4%; TAMs ó 11,9%; K65R ó 4,2% ; ITRNN: 103N ó 35,3%;106M ó 20,9%; 181C ó 14,9%; 190 A ó 13,7%	C ó 94%
Dagnra	2011	Togo	56	D4T/3TC/TDF/AZT+NVP/EFV IDV em 1 paciente	> 1000 cp/ml	17,8% - sem mutações; ITRN: 184V ó 54,3 %; K65R ó 12% ITRNN: 181C ó 60,4%; 103N ó 35,4%; 190 A ó 20,8%	A/G ó 56,5% CPX ó 13% G ó 2,1%
Muwonga	2011	Congo	93	D4T/3TC/AZT+NVP/EFV	>1000 cp/ml	16,1% - sem mutações; ITRN: 184V/I ó 78,7%; ; K65R ó 6,2% ITRNN: 103N ó 52,6%; 181 ó 50%; 190 ó 19,7 %; 188 ó 9,2%	--
Bunupuradah	2011	Tailândia	225	D4T/3TC/TDF/AZT/ABC+NVP/EFV	>1000 cp/ml	ITRN: 184V/I ó 93,6%; 67N ó 30,2%; 70R ó 22,2%; 215F ó 15,6% ITRNN: 181C ó 41%; 190 A ó 22 %; 103N ó 19%	A/E ó 96% B ó 4%
Praparattanapan	2012	Tailândia	118	D4T/3TC/AZT+NVP/EFV	>500cp/ml	2,6% - sem mutações; ITRN: 184V/I ó 85,1%; 67N ó 34,2%; 215F/Y ó 31,6%; 70R ó 39,8% ITRNN: 181I/C ó 48,2%; 103N ó 31,6%; 190 A/S ó 22,8%	A/E ó 98%
Sigaloff	2012	África do Sul	43	D4T/3TC/TDF/AZT+NVP/EFV	>5000 cp/ml em 2 aferições	11,6% - sem mutações; ITRN: 184V ó 74,4%; K65R ó 7% ; × 2TAM só 23,3% ITRNN: 103N ó 48,8%; 106M ó 29,9%; 190 A ó 20,9%; 101E ó 14%; 108I ó 11,6%	C ó 100%
Wadonda-Kabondo	2012	Malawi	29	D4T/3TC/TDF/AZT+NVP/EFV	>1000 cp/ml	ITRN: 184V ó 79,2%; K65R ó 11,4%; TAM ó 11,4% ITRNN: 103N ó 58,3%; 181C ó 45,2%;	--

Tabela 1: continuação

Hamers	2012	Nigéria, Quênia, Zâmbia, Uganda, Zimbábue, África do Sul	142	ABC/3TC/TDF/AZT+NVP/EFV	>1000 cp/ml	29,6% - sem mutações; ITRN: 184V ó 53,5%; K65R ó 12% ITRNN: 103N ó 28,9%; 181C ó 15,5%; 190 A ó 14,1%	C ó 54,2% A ó 24,9% D ó 11,3% A/G ó 4,7%
Péré	2012	Republica Centro Africana	34	D4T/3TC/TDF/AZT+NVP/EFV IDV/r ó 14 pacientes	> 300 cp/ml	24% - sem mutações; ITRN: 184V ó 67%; TAM ó 24% ITRNN: 103H/N/S ó 35%; 190 A ó 12%; 138 A ó 12%; 101E ó 12%; 98G/S ó 9%; 181I/C ó 9% IP: 46I/L ó 9%; 90M ó 9%; 82A/F ó 6%	Cpx ó 35% INDET. ó 15% A1 ó 12% A/E ó 12% G ó 12% D ó 5%
von Wyl	2012	Suíça	109	AZT/TDF +3TC/FTC + EFV TDF/AZT + 3tc/FTC + LPV/r TDF + 3TC/FTC + ATV/r	CV >1000 cp/ml	M184V: AZT/3TC/ EFV ó 66/524; AZT/3TC/LPV/r ó 32/524 TAM: AZT/3TC/EFV ó 25/524; ITRNN: AZT/3TC/EFV ó 58/524; TDF/FTC/EFV ó 26/615; AZT/3TC/LPV/r ó 28/573 IP: AZT/3TC/EFV ó 21/524; AZT/3TC/LPV/r ó 17/573	--
Santoro	2013	Itália	300	ABC/3TC/FTC/TDF/AZT+NVP/ EFV	×400cp/ml	AZT/3TC/NVP/EFV: ITRN: 184V ó 63,5%; 1 TAM ó 14,4%; K65R e 115F ó sem mutações ITRNN: 103N ó 38,9% IP: 74V ó 0,5% ABC/TDF/3TC/FTC/NVP/EFV ITRN: 184V ó 23,9%; 1 TAM ó 8,7%; K65R ó 18,5%; 115F ó 3,3% ITRNN: 103N ó 22,8; IP: 74V ó 4,3%	B ó 70%

3. OBJETIVOS

Objetivo principal:

- Descrever o perfil genotípico por ocasião da primeira falha virológica entre os pacientes que iniciaram cART como esquema inicial na coorte de pacientes com HIV/AIDS do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas ó Fiocruz no período de 2000 a 2012.

Objetivos secundários:

- Avaliar o impacto do perfil mutacional no momento da primeira falha em vigência de um esquema antirretroviral contendo um inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo, no uso potencial da etravirina em esquemas antirretrovirais subsequentes.

- Descrever o perfil da população baseando-se no escore da etravirina e analisar os fatores relacionados à redução na sensibilidade a esta droga.

- Avaliar a prevalência de genotipagens com vírus selvagem bem como analisar os fatores associados à sua ocorrência.

- Descrever os fatores relacionados à mutação K65R na primeira falha à cART.

4. METODOLOGIA

4.1 Caracterização da população

A população deste estudo foi composta por pacientes acompanhados no ambulatório do IPEC com diagnóstico de infecção pelo HIV e que tiveram a falha virológica ao esquema antirretroviral inicial no período de Janeiro de 2000 a Dezembro de 2012.

4.2 Desenho do estudo

Estudo retrospectivo com coleta de dados a partir de prontuários médicos e exames de genotipagem de pacientes acompanhados no IPEC com diagnóstico de infecção pelo HIV e que tiveram a falha virológica ao esquema antirretroviral inicial no período mencionado acima.

4.3 Critério de inclusão

- Falha virológica em uso de cART (independente da classe) de primeira linha com amostra de plasma estocada e/ou genotipagem correspondente a esta falha.

4.4 Critério de exclusão

- Pacientes que não tinham amostra para realização de genotipagem no momento da falha virológica.

4.5 Definições do estudo

Para este estudo, foram consideradas as seguintes definições:

- *Blip*: escape transitório da viremia plasmática definido como presença de CV até 499 cópias/ml seguida de uma carga viral subsequente indetectável usando o mesmo esquema.

- **cART** (Terapia antirretroviral combinada):

Utilização de dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN) associados a:

I) um inibidor da protease com *booster* (definido como o uso de ritonavir como adjuvante farmacológico), ou

II) um inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo, ou

III) um inibidor da protease sem *booster*

- **Data de início da cART:** registro no prontuário da data de prescrição de antirretrovirais que compuseram este esquema.
- **CD4 basal:** foram utilizados os valores mais próximos de linfócitos CD4 anteriores ao início de cART.
- **Carga viral basal:** foram utilizados os valores do resultado anterior mais próximo ao início de cART. O limite inferior de detecção da carga viral variou entre um de três valores: 400, 80, 50 e 40 cópias/mL de plasma de acordo com o método utilizado (Amplicor Roche®, Amplicor Roche ultra-sensível®, NASBA® e b-DNA® respectivamente), sendo mais freqüente a utilização do limite de 80 cópias/mL de plasma. Os valores acima desses limites foram trabalhados em logaritmo na base 10 (\log_{10}).
- **CD4 no momento da genotipagem:** referente ao valor de CD4 do mesmo dia da realização da genotipagem ou com data mais próxima antes da realização da mesma.
- **CV no momento da genotipagem:** valores referentes ao dia da realização da genotipagem.
- **Categoria de exposição:** As categorias de exposição ao HIV constantes do banco de dados da coorte do IPEC são: sexual, uso de drogas injetáveis (UDI), transfusão de sangue ou derivados (hemotransfusão), transmissão vertical (exposição intra-uterina, no momento do parto ou durante a amamentação) e ignorada (nenhuma categoria de exposição pôde ser definida). Na categoria sexual estão incluídos homo e bissexuais masculinos, classificados como homens que fazem sexo com homens (categoria HSH) e homens e mulheres heterossexuais (categoria heterossexual).

- **Escolaridade:** Neste estudo a escolaridade foi definida como anos de estudo formal.
- **Raça:** informação auto-referida na ocasião do registro no hospital.
- **Idade em anos no início de cART:** diferença entre a data de nascimento e a data de início do primeiro esquema cART. A fonte usada para captura da data de nascimento na coorte do IPEC é o documento de identidade do paciente, apresentado na ocasião do registro no hospital.
- **Falha virológica:** presença de carga viral acima de 500 cópias/ml após período de pelo menos 3 a 6 meses do início do esquema antirretroviral, excluindo-se os casos de escape transitório da viremia plasmática (*blip*).
- **Genotipagem com vírus selvagem:** genotipagem que não evidencia mutações primárias de resistência.
- **Mutação primária:** é a primeira mutação que aparece em decorrência do ARV em uso e a que é responsável pela perda de sensibilidade de forma significativa deste ARV.
- **Mutação secundária:** é a que leva a uma perda em menor escala da sensibilidade ao ARV que a selecionou.
- **Polimorfismos virais:** são substituições no genoma do HIV que podem estar presentes nos vírus sem que haja pressão seletiva dos ARV, podendo ser o resultado da evolução natural dos vírus
- **Tempo da falha até a genotipagem:** Tempo calculado em meses entre a data da falha virológica e a realização da genotipagem correspondente a esta falha.
- **Troca por toxicidade antes da falha:** troca de pelo menos um dos componentes do esquema cART por toxicidade antes da falha virológica.

4.6 Amostra

Trata-se de amostra de conveniência incluindo os pacientes com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha e que tinham resultados de teste de genotipagem já realizados e disponíveis ou que tinham amostra de plasma arquivada para a realização dos mesmos.

4.7 Procedimentos do estudo

4.7.1 Genotipagens

Neste estudo além das genotipagens já disponíveis no momento da primeira falha, foram realizadas genotipagens a partir das amostras de plasma referentes à falha virológica inicial que estavam armazenadas no laboratório.

As genotipagens foram realizadas no Laboratório de AIDS e Imunologia Molecular do Instituto Oswaldo Cruz, que faz parte da RENAGENO (Rede Nacional de Genotipagens), uma rede de laboratórios implementada no segundo semestre de 2001 pelo Ministério da Saúde com o objetivo de realizar tais exames pela rede pública.

As genotipagens realizadas a partir das amostras estocadas de carga viral foram realizadas no mesmo laboratório descrito acima.

Os testes de genotipagem, desde sua implantação, foram modificados uma vez: inicialmente o kit utilizado era ViroSeq® e nos dias de hoje é utilizado o TrueGene®. Ambos os testes têm como metodologia o sequenciamento de DNA e ambos os testes são aprovados e validados. Neste estudo a maioria das genotipagens foram feitas com o Kit da Trugene®.

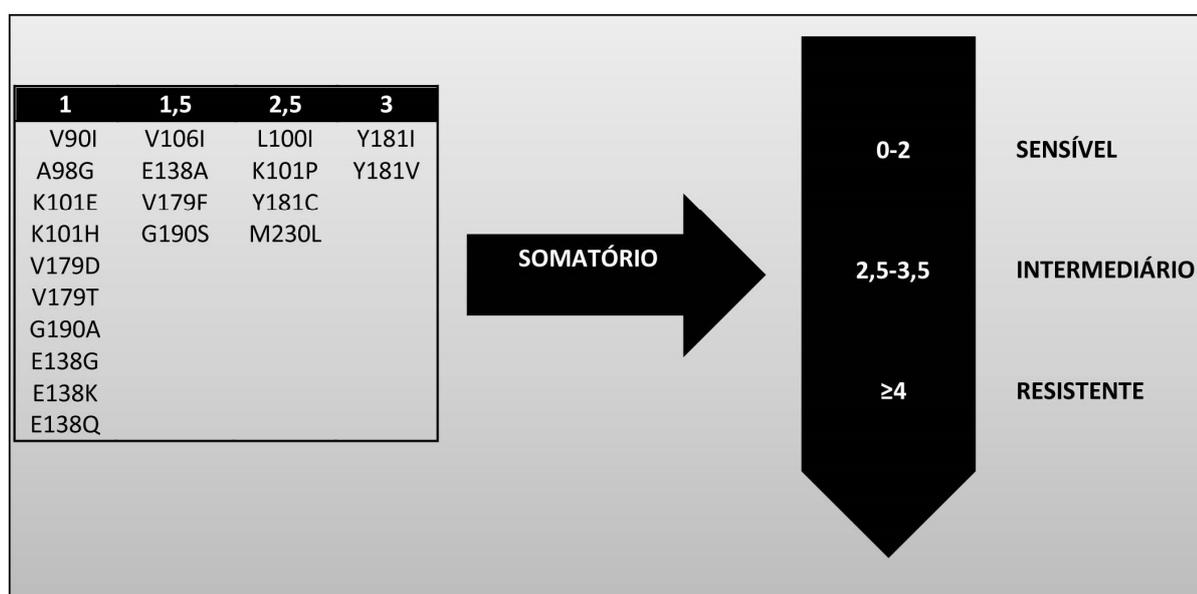
4.7.2 Algoritmos de interpretação das mutações de resistência

As mutações identificadas no genoma do HIV nas amostras de sangue coletadas no momento da falha virológica foram descritas e interpretadas no que diz respeito à sua associação com a resistência aos antirretrovirais de acordo com o algoritmo brasileiro.

O algoritmo brasileiro é composto por regras, isto é, a associação de um determinado quantitativo de mutações é interpretada como resistência completa ou intermediária a determinado antirretroviral. São realizadas periodicamente atualizações das versões para interpretação deste algoritmo, sendo que a última foi a versão 12 lançada em Maio de 2012.

Especificamente em relação à Etravirina, foi realizada análise das mutações segundo escore estabelecido pela Tibotec®, que foi revalidado em estudos populacionais

(VINGERHOETS et al., 2012) entre os pacientes com uso prévio de não análogos. Este escore atribui um peso para cada mutação de relevância para a etravirina. Houve uma atualização em 2011 das mutações deste escore e atualmente são 20 as mutações mais relevantes para a resistência a etravirina: Y181I, Y181V, K101P, L100I, Y181C, M230L, E138A, V106I, G190S, V179F, V90I, V179D, K101E, K101H, A98G, V179T, G190A, E138G, E138K e E138Q. A partir do somatório dos pesos de cada mutação é que se classifica o paciente em sensível (escore < 2), intermediário (escore entre 2,5 e 3,5) e resistente (escore \times 4) à etravirina (Figura 1).



Fonte: adaptado de Vingerhoets et al., Similar predictions of etravirine sensitivity regardless of genotypic testing method used: comparison of available scoring systems. *Antiviral Ther* 2012; 10.3851/IMP2275

Figura 1: Escore ponderado da Etravirina

4.8 Questões éticas

Nenhum paciente foi identificado, preservando a sua confidencialidade.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas ó FIOCRUZ em 14 de Outubro de 2011 e foi descrito de acordo com as õDiretrizes e normas que regulamentam pesquisas envolvendo seres humanosö (Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde) e suas complementares.

4.9 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o programa estatístico R, versão 3.0.1(www.r-project.org/). As variáveis categóricas foram apresentadas pelas frequências absolutas e relativas e as comparações nos grupos foram feitas com os testes de Qui-quadrado ou Fisher, quando necessário.

As variáveis quantitativas foram representadas pelas medidas de tendência central (média e mediana) e de dispersão (desvio padrão (DP) e intervalo interquartil (IQR)). As comparações foram feitas através de testes paramétricos, teste t ou ANOVA, ou não-paramétricos como Wilcoxon ou Kruskal-Wallis. Para verificar normalidade das variáveis quantitativas foi utilizado o teste de Shapiro Wilk. O nível de significância adotado em todos os testes foi de 5%.

Os fatores associados à presença de uma genotipagem com vírus selvagem foram avaliados através de regressão logística. Na análise univariada foram consideradas as seguintes variáveis: esquemas antirretrovirais, CD4 no momento da genotipagem, CV basal, CV no momento da genotipagem, CD4 basal, categoria de exposição, tempo de tratamento e tempo entre a falha e a genotipagem. As variáveis que atingiram uma significância de 20% no modelo univariado foram incluídas no modelo múltiplo. Foram mantidas no modelo as variáveis com significância estatística ao nível de 5% ($p \leq 0,05$) e aquelas que alteraram o efeito ou a significância das outras.

4.10 Pesquisa bibliográfica

A pesquisa bibliográfica desse trabalho foi realizada no banco de dados PubMed ó <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>.

O acesso à maioria das publicações foi feito através do portal CAPES via rede IPEC-FIOCRUZ ó <http://www.periodicoscapes.gov.br>.

5. RESULTADOS

Cento e noventa e um pacientes foram elegíveis para o estudo. Desses, 107 já tinham genotipagens disponíveis e para 84 pacientes amostras de plasma estocadas foram identificadas para realização de genotipagens. Dentre essas, 25 apresentaram problemas de processamento (não houve amplificação adequada), provavelmente em decorrência de conservação inadequada durante o tempo em que permaneceram armazenadas. Dessa forma, um total de 166 pacientes tinham amostras válidas e foram incluídos neste estudo (figura 2).

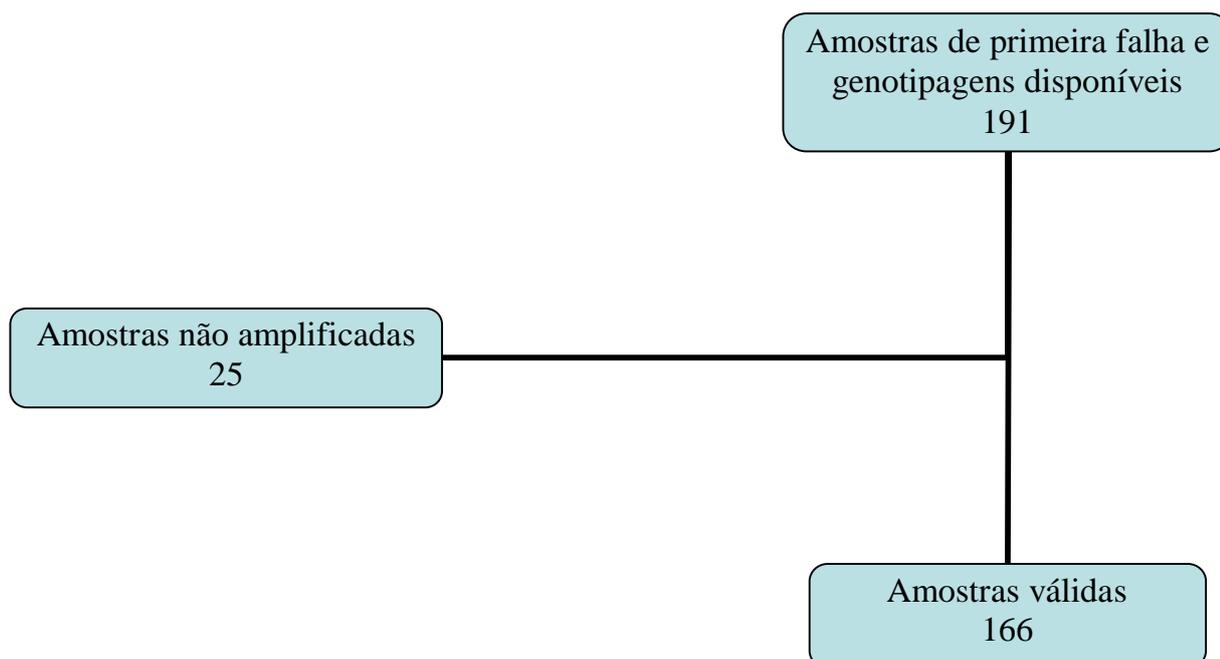


Figura 2 - Seleção dos indivíduos

5.1 Dados sócio-demográficos

As características sócio-demográficas da população estudada estão apresentadas na tabela 2.

A maioria dos pacientes era do sexo masculino (68,1%) e não brancos (51,8%), com a mediana de idade de 34,9 anos. Em relação à escolaridade, 69,3% tinham até 8 anos de estudo, sendo que 44,7% tinham menos que 4 anos. Com relação à categoria de exposição, 94 pacientes (56,6%) eram heterossexuais, 52 eram homens que fazem sexo com homens (HSH) (31,3%) e 7 pacientes (4,3%) usuários de drogas injetáveis (UDI).

Tabela 2. Características sócio-demográficas dos pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.

Variável n (%)	
Sexo	
Feminino	53 (31,9)
Masculino	113 (68,1)
Idade	
mediana (IQR)	34,9 (13,1)
Raça	
Branca	80 (48,2)
Não-branca	86 (51,8)
Escolaridade	
0-4 anos	74 (44,7)
5-8 anos	41 (24,6)
> 8 anos	51 (30,7)
Categoria de exposição	
HSH	52 (31,3)
UDI	7 (4,3)
Heterossexual	94 (56,6)
Outros	13 (7,8)

5.2 Características clínico-laboratoriais

As características clínico-laboratoriais da população estudada estão apresentadas na tabela 3.

No início do tratamento antirretroviral, a maioria dos pacientes apresentava contagem de linfócitos CD4 igual ou menor que 200 cels/mm³ (83, 56,1%) e carga viral do HIV acima de 100.000 cópias/ml (63%). O CD4 mediano foi de 177 cels/mm³.

A mediana do tempo entre o diagnóstico da falha virológica e a realização da genotipagem foi de 4 meses. Antes da falha virológica, 23 pacientes (13,5%) incluídos no estudo trocaram um dos componentes do esquema antirretroviral inicialmente prescrito em decorrência de toxicidade. Em 100% destes casos essa troca se deu em um período inferior a

um ano. O subtipo viral do HIV mais prevalente foi o B (64,4%), seguido pelo F (7,9%); apenas um paciente apresentou o subtipo C.

Tabela 3: Aspectos clínico-laboratoriais e do uso de antirretrovirais dos pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.

Variável n (%)	
CD4 basal	
Ö200	83 (56,1)
> 200	65 (43,9)
CD4 basal	
mediana (IQR)	177,0 (204,0)
CV basal	
Ö100.000	47 (37,0)
>100.000	80 (63,0)
CV basal (log)	
mediana (IQR)	5,34 (0,9)
Tempo da falha até a genotipagem (meses)	
mediana (IQR)	4,04 (11,9)
Troca por toxicidade antes da falha	23 (13,5)
Subtipo	
B	107 (64,4)
C	1 (0,6)
F	13 (7,9)
B/F	2 (1,2)
Sem informação	43 (25,9)
Tipo de cART no momento da genotipagem	
IP	17 (10,2)
IP/r	36 (21,6)
ITRNN	113 (68,2)

CD4 no momento da genotipagem

mediana (IQR)	281,0 (245,0)
---------------	---------------

CV no momento da genotipagem

<1000	6 (3,6)
1001 ó 4999	37 (22,3)
5000 ó 10000	21 (12,6)
10001 ó 50000	57 (34,5)
50001 - 100000	21 (12,6)
> 100000	24 (14,4)

No momento da realização da genotipagem, a mediana do valor dos linfócitos CD4 era 281 céls/mm³, 121 pacientes (73%) apresentavam CV até 50.000 cópias/ml e 24 pacientes (14,4%) apresentavam CV acima de 100.000 cópias/ml.

Cento e treze pacientes (68,2%) estavam em uso de um esquema antirretroviral baseado em não análogos de nucleosídeos, 36 estavam em uso de um esquema antirretroviral baseado em IP com *booster* (21,6%) e 17 pacientes estavam em uso de um esquema antirretroviral baseado em IP sem *booster* (10,2%).

Entre os pacientes em uso de inibidores não análogos de nucleosídeos, o antirretroviral mais utilizado foi o EFV (n=100, 88%). A Nevirapina foi utilizada em 9 pacientes apenas (8%) e a Rilpivirina em 4 pacientes (4%). Em relação aos pacientes em uso de inibidores de protease sem *booster*, os IPs utilizados foram o Nelfinavir (11 pacientes, 65%), Atazanavir (4 pacientes, 23%), Indinavir (1 paciente, 6%) e Saquinavir (1 paciente, 6%). Entre os pacientes em uso de inibidores de protease com *booster* de ritonavir, os IPs utilizados foram o Lopinavir (21 pacientes, 58%), Atazanavir (7 pacientes, 19%), Indinavir (6 pacientes, 17%) e Saquinavir (2 pacientes, 6%) (Figura 3).

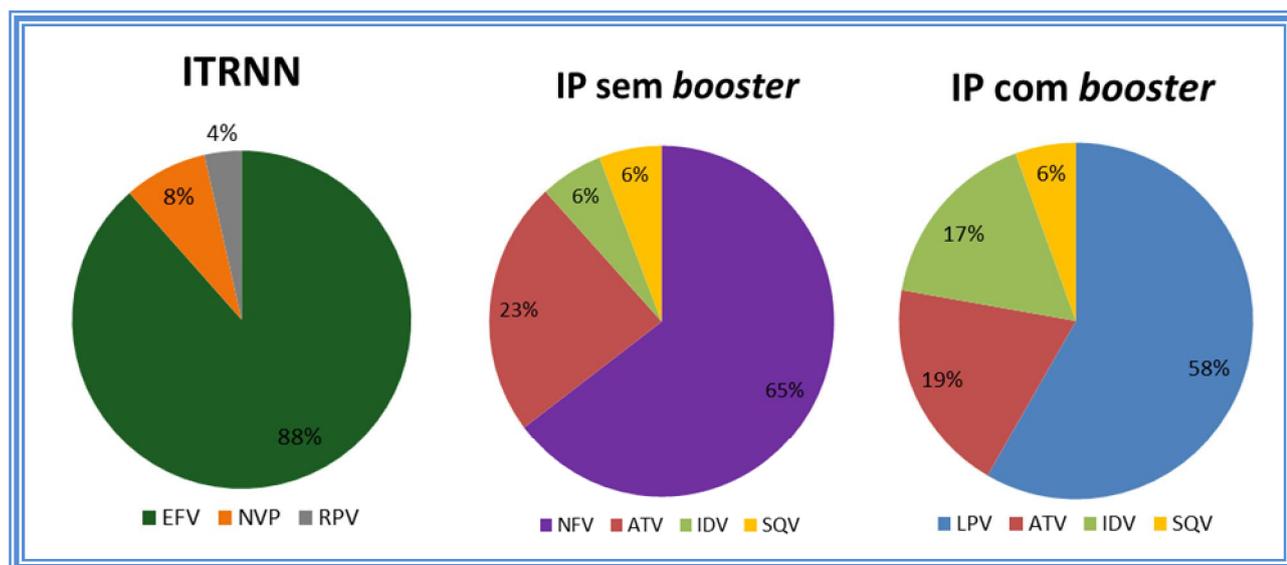


Figura 3: Distribuição dos antirretrovirais segundo sua classe na coorte dos pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.

Em relação à distribuição dos análogos de nucleosídeos, entre os pacientes que fizeram uso de esquemas baseados em não análogos de nucleosídeos, 76 (67,2%) usaram análogos timidínicos e 37 (32,8%) usaram análogos não timidínicos. Entre os pacientes que fizeram uso de IP sem *booster*, todos fizeram uso de análogos timidínicos e entre os pacientes que fizeram uso de IP com *booster*, 27 (75%) fizeram uso de análogos timidínicos e 9 (25%) fizeram uso de análogos não timidínicos.

5.3 Perfil mutacional da população estudada

Em relação ao perfil de mutações apresentado pela população do estudo, identificamos entre os pacientes que usaram esquemas baseados em não análogos de nucleosídeos (n=113), um total de 186 mutações para esta classe. A mutação mais frequentemente identificada no momento da falha virológica foi a 103N (n=75). Outras mutações identificadas foram: 225H, 190 A, 108I, 101E, 188L e 181C (figura 4).

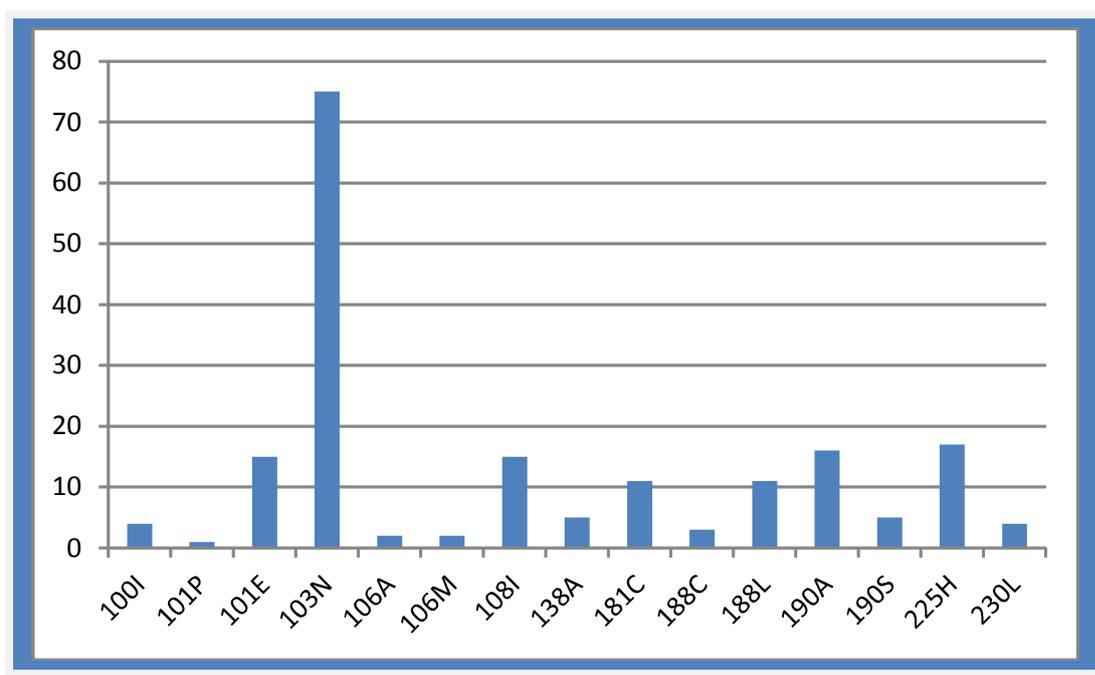


Figura 4: Frequencia de mutações primárias para ITRNN em pacientes que usaram ITRNN na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.

Entre os pacientes que fizeram uso de esquemas baseados em IP sem *booster* (n=17), foram identificadas 15 mutações na protease, sendo as mais frequentemente identificadas a 30N, 32I e 46ILV. Entre os pacientes que fizeram uso de IP com *booster* (n=36), foram identificadas 10 mutações na protease, sendo as mais frequentemente identificadas a 82ATF, 90M e 46ILV. (figura 5)

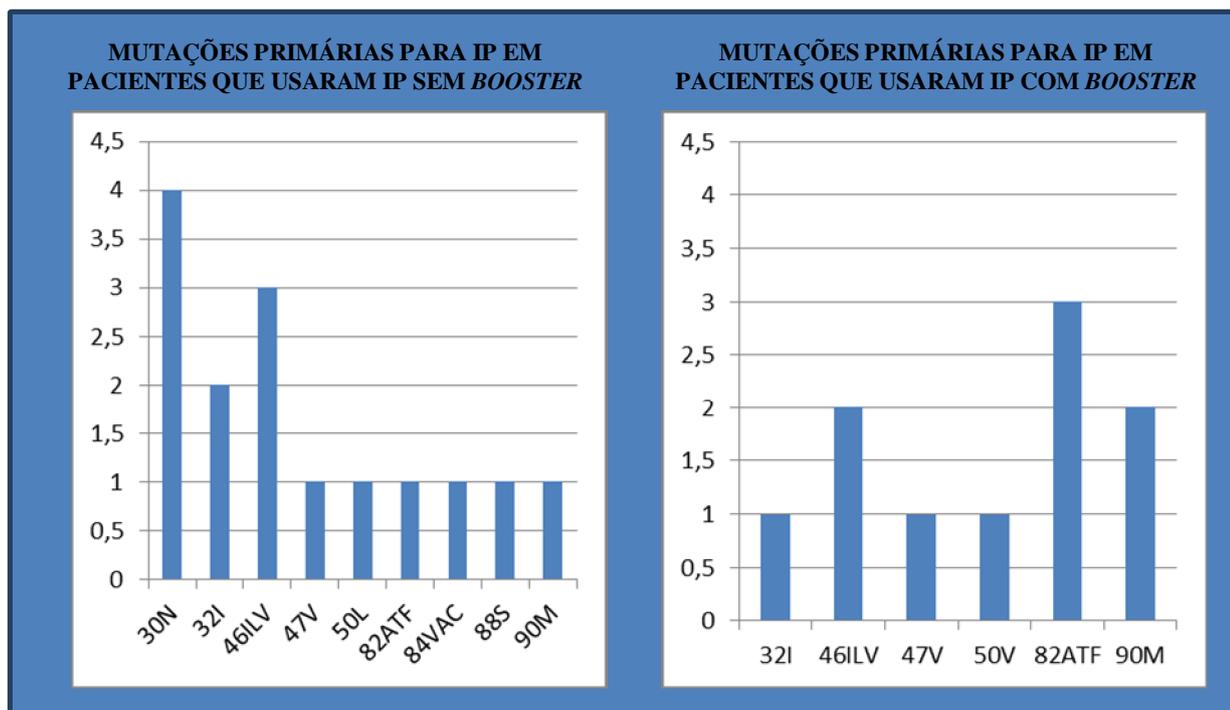


Figura 5: Frequência de mutações primárias para IP em pacientes que usaram IP sem *booster* e com *booster* na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.

Em relação às mutações para análogos de nucleosídeos, entre os pacientes que utilizaram não análogos, foram identificadas um total de 159 mutações para análogos, sendo as mais frequentemente identificadas a 184VI, 215FY, 65R, 219QE, 67NG, 70R e 41L. Entre os pacientes que fizeram uso de IP sem *booster*, foram identificadas 29 mutações na transcriptase reversa, sendo as mais frequentemene identificadas a 184VI, 70R, 67NG e 215FY e entre os pacientes que fizeram uso de IP com *booster*, foram identificadas 24 mutações para análogos, sendo as mais frequentemente encontradas a 184VI e 215FY (figura 6).

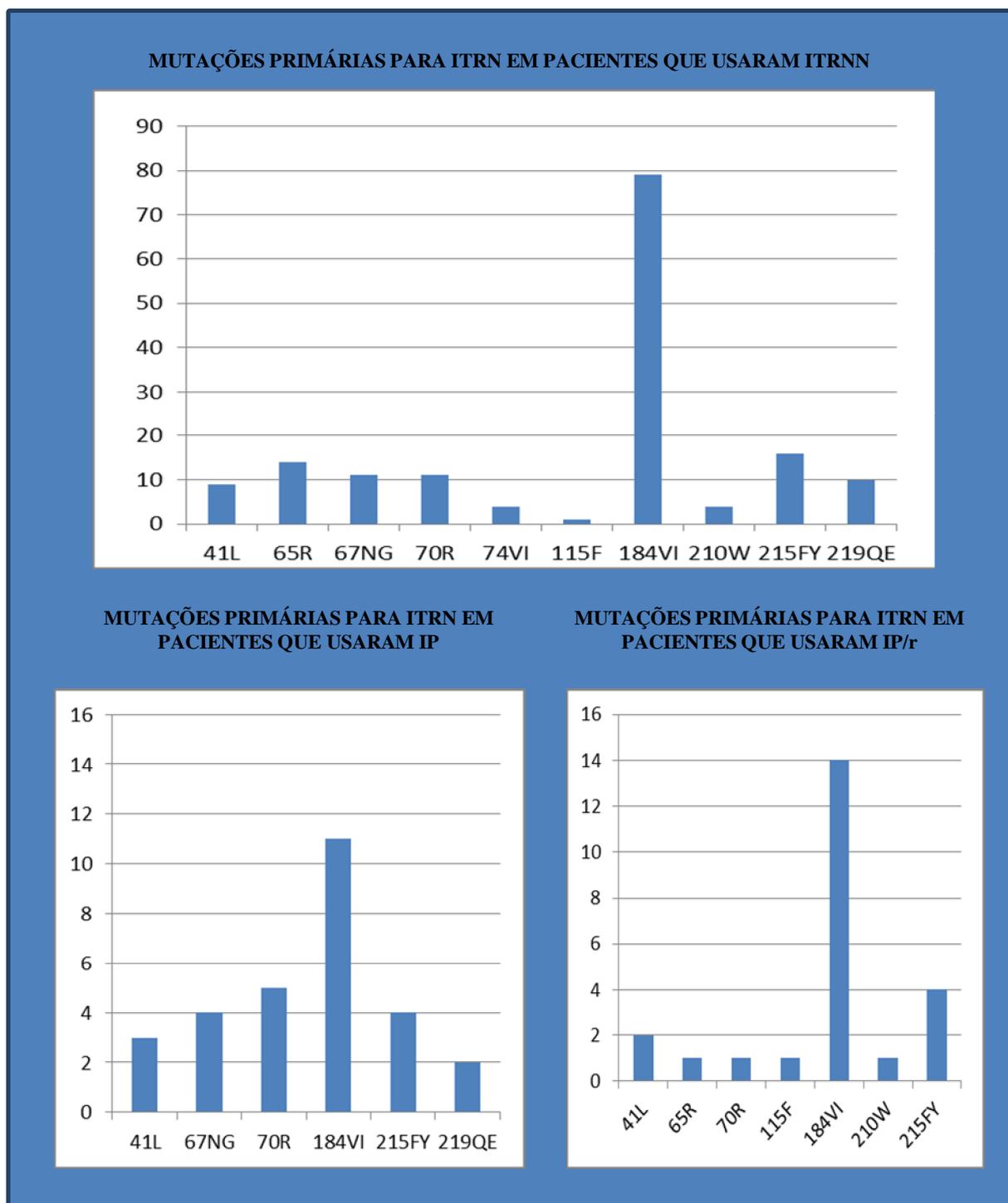


Figura 6: Frequência de mutações primárias para ITRN em pacientes que usaram as três classes de ARV na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ

Quando analisamos a presença das mutações de acordo com os esquemas antirretrovirais utilizados, identificamos que os pacientes que fizeram uso de não análogos de nucleosídeos apresentaram proporcionalmente um maior percentual de pacientes com a mutação 184V/I (69,9%) quando comparado a quem fez uso de inibidores da protease sem *booster* (64,7%) e com *booster* (38,8%) ($p=0,004$) (Tabela 4).

Tabela 4: Distribuição das mutações de acordo com os esquemas utilizados na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.

N (%)	ITRN + ITRNN 113 (68)	ITRN + IP 17 (10)	ITRN + IP/r 36 (22)
Mutações de análogos, n (%)			
M184I/V	79 (69,9)	11 (64,7)	14 (38,8)
K65R	14 (12,4)	0 (0,0)	1 (3,5)
TAMs			
0	29 (25,7)	4 (23,5)	18 (50,0)
1	44 (38,9)	7 (41,2)	15 (41,6)
× 2	40 (35,4)	6 (35,3)	3 (8,4)
Mutações de ITRNN, n (%)			
0	14 (12,4)	17 (100,0)	33 (91,6)
1	36 (31,9)	0 (0,0)	1 (2,8)
× 2	63 (55,7)	0 (0,0)	2 (5,6)
Mutações primárias para IP, n (%)			
0	109 (96,4)	9 (64,2)	31 (79,5)
1	3 (2,7)	2 (14,3)	5 (12,8)
2	0 (0,0)	1 (7,2)	1 (2,6)
× 3	1 (0,9)	2 (14,3)	2 (5,1)
Genotipagem com vírus selvagem, n (%)	11 (9,7)	4 (23,5)	17 (47,2)
Mutações em 2 classes n(%)	83 (73,4)	12 (70,5)	5 (13,9)

A quase totalidade dos pacientes ($n=14$) que apresentaram a mutação K65R estavam em uso de um esquema baseado em não análogos de nucleosídeos. Apenas um paciente que apresentou esta mutação estava em uso de esquema baseado em IP com *booster*. Todos os pacientes nos quais essa mutação foi identificada estavam em uso de Tenofovir, e nenhum estava em uso de esquema baseado em IP sem *booster*.

Entre os pacientes em uso de esquemas baseados em não análogos de nucleosídeos (n=113), 29 (25,7%) não apresentaram nenhuma TAM no momento da falha virológica ao esquema antirretroviral inicial, 44 (38,9%) apresentaram uma TAM e 40 (35,4%) apresentaram duas ou mais TAMs. Entre os 36 pacientes que fizeram uso de IP com *booster*, 18 (50%) não apresentaram TAMs no momento da falha virológica ao esquema antirretroviral inicial, 15 (41,6%) apresentaram uma TAM e três pacientes (8,4%) apresentaram duas ou mais TAMs. Entre os pacientes que usaram IP sem *booster* (n=17), 4 pacientes (23,5%) não apresentaram nenhuma TAM no momento da falha virológica ao esquema antirretroviral inicial, 7 (41,2%) apresentaram uma TAM e 6 (35,3%), duas ou mais TAMs.

O percentual de pacientes com pelo menos uma TAM no momento da falha foi significativamente maior entre os pacientes em uso de não análogos ou de IP sem *booster* em comparação com o grupo que utilizou IP com *booster* (p =0,01).

Analisando-se as mutações para não análogos, entre os pacientes que fizeram uso de esquemas baseados nessa classe, identificamos que 14 (12,4%) não apresentaram nenhuma mutação para a classe dos não análogos, 36 (31,9%) apresentaram uma mutação e 63 (55,7%) apresentaram $\times 2$ mutações. Entre os pacientes que estavam em uso de esquemas contendo IP sem *booster* no momento da falha, 17 (100%) não apresentaram nenhuma mutação para não análogos e entre os pacientes que estavam em uso de esquemas contendo IP com *booster* no momento da falha, 33 (91,6%) não apresentaram nenhuma mutação para não análogos, enquanto que 1 paciente (2,8%) apresentou uma mutação e 2 pacientes (5,6%) apresentaram duas ou mais mutações.

Entre os pacientes que usaram esquemas baseados em não análogos, 4 (3,6%) apresentaram mutações primárias para IPs. Entre os que utilizaram esquemas baseados em IP sem *booster*, 5 (35,8%) apresentaram mutações primárias para esta classe e entre os que utilizaram esquemas baseados em IP com *booster*, 8 (20,5%) apresentaram mutações primárias na protease.

Globalmente, identificamos 32 genotipagens (19,3%) sem nenhuma mutação principal (genotipagens com vírus selvagem), sendo que a proporção de genotipagens com vírus selvagem foi maior entre os pacientes que estavam em uso de esquemas contendo IP com *booster* (47,2%), quando comparado a quem estava em uso de IP sem *booster* (23,5%) e não análogos de nucleosídeos (9,7%) (p<0,001).

Ao avaliarmos a presença de mutações para 2 classes de antirretrovirais, identificamos que essas estavam presentes em 83 (73,4%) pacientes que utilizaram um esquema baseado em

não análogos e em 12 (70,5%) pacientes que utilizaram um esquema baseado em IP sem *booster*. Por outro lado, apenas 5 (13,9%) pacientes que fizeram uso de um esquema baseado em IP com *booster* apresentaram esse perfil mutacional ($p < 0,001$).

5.4 Fatores associados à presença de genotipagens com vírus selvagem

Os dados referentes às genotipagens com vírus selvagem estão dispostos na tabela 5.

As variáveis classe do esquema, carga viral no momento da genotipagem e no início do cART (basal), CD4 no início do cART (basal) e o tempo de tratamento apresentaram um nível de significância inferior a 20% na análise univariada e por isso foram testadas no modelo múltiplo. No modelo múltiplo, a variável carga viral no início do cART não se mostrou significativa ao nível de 5% e foi excluída. As demais variáveis se mostraram independentemente associadas à presença de uma genotipagem com vírus selvagem ao nível de 5% de significância.

Os pacientes que fizeram uso de IP sem *booster* apresentaram uma chance duas (RC = 3,78; IC95%: 0,88 ó 16,08) vezes maior de ter uma genotipagem com vírus selvagem quando comparados com os pacientes que usaram não análogos ($p=0,05$). Da mesma forma, os que usaram IP com *booster* tiveram uma chance aproximadamente 10 vezes maior (RC= 11,04; IC95%: 3,78 ó 32,23) de apresentar uma genotipagem com vírus selvagem, quando comparados aos que usaram não análogos ($p=0,001$)

Os pacientes que apresentaram carga viral no momento da genotipagem acima de 50.000 cópias/ml tiveram 3 vezes a chance de apresentarem genotipagem com vírus selvagem quando comparado aos pacientes que apresentaram carga viral abaixo de 10.000 cópias/ml (RC: 3,48; IC95%: 1,06 ó 11,4) ($p=0,01$).

Os pacientes que tinham CD4 de base ≤ 200 cels/mm³ apresentaram 76% menos chance de apresentar uma genotipagem com vírus selvagem quando comparados aos pacientes que apresentaram CD4 > 200 cels/mm³ (RC:0,24; IC95%: 0,09 ó 0,69) ($p=0,001$).

Da mesma forma, em relação ao tempo de tratamento (em meses) foi evidenciado que para cada mês de tratamento a mais há uma redução em 2% da chance de se ter uma genotipagem com vírus selvagem (RC: 0,98; IC95%: 0,97 ó 1,00) ($p=0,05$).

Tabela 5: Análise univariada e múltipla dos fatores associados à genotipagem com vírus selvagem na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ

Variáveis	Modelo univariado			Modelo ajustado		
	RC	(IC95%)	Pvalor	RC	(IC95%)	Pvalor
Esquemas						
ITRNN	1,00	-	-	1,00	-	-
IP	2,85	(7,92 ó 10,27)	0,00	3,78	(0,88 ó 16,08)	0,05
IP/r	8,29	(3,36 ó 20,46)	0,00	11,04	(3,78 ó 32,23)	0,00
CD4 genotipagem						
>200	1,00	-	-			
Ö200	0,91	(0,37 - 2,21)	0,83			
CV basal						
Ö100000	1,00	-	-			
>100000	0,55	(0,23 - 1,31)	0,18			
CV genotipagem						
<10.000	1,00	-	-	1,00	-	-
10.001-50.000	1,50	(0,56 - 3,97)	0,42	1,68	(0,54 ó 5,23)	
>50.000	2,02	(0,73 - 5,57)	0,18	3,48	(1,06 - 11,4)	0,01
CD4 base						
>200	1,00	-	-	1,00	-	-
Ö200	0,37	(0,16 - 0,85)	0,02	0,24	(0,09 - 0,69)	0,001
Categoria de Exposição						
Heterossexual	1,00	-	-			
HSH	1,50	(0,16 - 13,92)	0,72			
Outros	1,40	(0,16 - 12,26)	0,76			
Tempo de tratamento (meses)	0,99	(0,98 - 1,00)	0,07	0,98	(0,97 - 1,00)	0,05
Tempo entre falha e genotipagem	1,00	(0,99 - 1,01)	0,66			

RC: Razão de Chance; IC95%: Intervalo com confiança de 95%

5.5 Sensibilidade à etravirina

Os dados referentes à sensibilidade à etravirina estão dispostos na tabela 6.

Para esta análise foram incluídos somente os pacientes em uso de esquemas baseados em não análogos de nucleosídeos (n=113). Destes, cem (100) pacientes estavam em uso de Efavirenz, 9 estavam em uso de Nevirapina e 4 estavam em uso de Rilpivirina. Com relação ao perfil de sensibilidade a etravirina, foram definidos como escores ≤ 2 e entre 2,5 e 3,5 e $\times 4$ para essa droga, identificamos que 85 (75%), 23 (20%) e 5 (5%) pacientes apresentavam-se com sensibilidade plena, resistência intermediária e resistência completa a esse antirretroviral, respectivamente.

Entre os que estavam em uso de efavirenz 77 (77%) mostraram-se com sensibilidade à etravirina, 18 (18%) mostraram-se com sensibilidade intermediária e 5 (5%) mostraram-se resistentes a esse antirretroviral (p=0,224). Entre os nove pacientes que usaram Nevirapina, 6 (66,7%) mostraram-se com sensibilidade à etravirina e 3 pacientes (33,3%) apresentaram-se com perfil de sensibilidade intermediária (p=0,605). E entre os pacientes que fizeram uso de Rilpivirina, 3 (75%) apresentaram-se com sensibilidade e um paciente apresentou resistência intermediária à etravirina (p=0,9).

Não foram observadas diferenças significativas para as características demográficas entre os pacientes distribuídos entre os três perfis de sensibilidade à etravirina.

A mediana de linfócitos CD4 basais para os pacientes com sensibilidade plena, resistência intermediária e resistência completa a esse antirretroviral foi 160, 187 e 46 céls/mm³, respectivamente (p=0,109). Com relação à mediana da CV basal, essa não se apresentou diferente entre os pacientes com sensibilidade, resistência intermediária e resistência completa a esse antirretroviral (p=0,159).

A mediana do tempo da falha até a realização da genotipagem foi de 3,8, 5,6 e 6,1 meses para os pacientes com sensibilidade, resistência intermediária e resistência completa a esse antirretroviral (p = 0,750).

No momento da realização da genotipagem 35 pacientes apresentaram carga viral abaixo de 10.000 cópias/ml, sendo que 28 (80,0%) apresentaram escore para a etravirina ≤ 2 , 6 (17,1%) apresentaram escore entre 2,5 e 3,5 e um paciente (2,9%) apresentou escore $\times 4$ (p=0,153).

A mediana do tempo de tratamento foi de 17,8 meses para os pacientes que tiveram um escore para etravirina entre 2,5 e 3,5. Nos pacientes que tiveram escore $\times 4$ o tempo foi de

18,7 meses e os pacientes com sensibilidade à etravirina apresentaram um tempo de tratamento de 27,6 meses ($p=0,179$).

Outras variáveis analisadas foram o uso de análogos timidínicos, não timidínicos e de não análogos. Em relação aos análogos timidínicos o AZT foi o antirretroviral mais utilizado entre os pacientes distribuídos entre os três perfis de sensibilidade à etravirina, sendo o grupo com escore 0 o que apresentou o maior número de pacientes (57; 80,2%), seguido pelo escore entre 2,5 e 3,5 com 11 pacientes (15,6%) e pelo $\times 4$ com 3 pacientes (4,2) ($p=0,149$). Seis pacientes fizeram uso de estavudina e todos eles estavam no grupo de pacientes com sensibilidade à etravirina.

Em relação aos análogos não timidínicos, a única droga utilizada neste grupo foi o tenofovir (36 pacientes). Nenhum paciente estava em uso de Abacavir. Observamos uma menor proporção de indivíduos com perfil de sensibilidade plena e uma maior proporção de indivíduos com perfil de resistência (principalmente de nível intermediário) entre os pacientes que utilizaram tenofovir, sendo essa diferença significativa em relação ao total de pacientes avaliados ($p=0,004$).

Tabela 6: Análise dos pacientes baseado no escore da etravirina entre os pacientes que usaram não análogos na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.

Variável N (%)	0 85 (75%)	2,5 ó 3,5 23 (20%)	$\times 4$ 5 (5%)	p
Idade				
mediana	35,6	33,3	37,9	0,555*
(IQR)	(26,7 ó 43,0)	(28,6 - 40,3)	(34,0 ó 42,0)	
Categoria de risco				
UDI	4 (80)	1 (20,0)	0 (0,0)	0,655***
HSH	25 (71,4)	7 (20,0)	3 (8,6)	
Outros	56 (76,7)	15 (20,5)	2 (2,7)	
CD4 basal				
0-200	45 (76,3)	11 (18,6)	3 (5,1)	0,446***
> 200	31 (77,5)	9 (22,5)	0 (0,0)	
CD4 basal				
mediana	160,5	187,5	46,0	0,109*
(IQR)	(72,8 ó 262,8)	(98,8 ó 238,5)	(36,5 ó 49,5)	
CV basal				
0-100.000	21 (77,8)	6 (22,2)	0 (0,0)	0,643***
> 100.000	45 (77,6)	10 (17,2)	3 (5,2)	

CV basal (log)				
mediana	5,4	5,3	5,7	
(IQR)	(4,9 ó 5,7)	(4,8 ó 5,6)	(5,7 ó 5,8)	0,159*
Tempo da falha até a genotipagem (meses)				
mediana	3,8	5,6	6,1	
(IQR)	(0,0 ó 11,9)	(1,0 ó 12,4)	(2,5 ó 7,3)	0,750*
CD4 no momento da genotipagem				
Ö200	22 (66,7)	10 (30,3)	1 (3,0)	0,586**
> 200	42 (76,4)	11 (20,0)	2 (3,6)	
CD4 no momento da genotipagem				
mediana	263,0	219,0	211,0	
(IQR)	(135,2 ó 412,8)	(131,0 ó 360,0)	(118,0 ó 224,0)	0,256*
CV no momento da genotipagem				
<10.000	28 (80,0)	6 (17,1)	1 (2,9)	
10.001 ó 50.000	31 (83,8)	6 (16,2)	0 (0,0)	0,153***
> 50.000	15 (60,0)	8 (32,0)	2 (8,0)	
Tempo de tratamento (meses)				
mediana	27,6	17,8	18,7	
(IQR)	(13,8 ó 46,0)	(8,9 ó 34,3)	(15,4 ó 19,3)	0,179*
Uso de análogos timidínicos				
AZT	57 (80,2)	11 (15,6)	3 (4,2)	0,149**
d4T	6 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	---
Uso de análogos não timidínicos				
TDF	20 (55,6)	13 (36,1)	3 (8,6)	0,004**
ABC	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	--
Uso de ITRNN				
EFV	77 (77,0)	18 (18,0)	5 (5,0)	0,224**
NVP	6 (66,7)	3 (33,3)	0 (0,0)	0,605***
RPV	3 (75,0)	1 (25,0)	0 (0,0)	0,900***

* Kruskal-Wallis

** Qui-Quadrado

*** Teste exato de Fischer

5.6 Perfil dos pacientes que apresentaram a mutação K65R

No presente estudo, 47 pacientes fizeram uso de Tenofovir, sendo que 32% (15 pacientes) apresentaram a K65R. Todos os pacientes que apresentaram esta mutação fizeram uso de tenofovir. O subtipo mais frequente nestes pacientes foi o B (11 pacientes, 73,3%), seguido pelo F (1 paciente, 6,6%) e pelo B/F (1 paciente, 6,6%). Em dois pacientes não foi possível realizar a identificação do subtipo.

Um maior detalhamento das características dos 15 pacientes em uso de tenofovir que desenvolveram a mutação K65R encontra-se apresentado na tabela 7, não tendo sido observadas diferenças significativas para as características demográficas com relação aos demais pacientes incluídos nesse estudo.

Em apenas um caso, mais especificamente no único paciente que fazia uso de tenofovir com IP/r, esta mutação apareceu isoladamente como única resistência encontrada. Ao todo, 73,3% dos pacientes com K65R apresentavam resistência a lamivudina (presença da 184VI) e todos os pacientes em uso de não análogos apresentavam mutação de resistência também para a classe dos análogos de nucleosídeos.

Em relação ao CD4 basal não houve diferença significativa entre os pacientes que apresentaram e aqueles que não apresentaram a mutação K65R. Em relação à CV basal, 12 pacientes (100%) que não apresentaram esta mutação tinham CV \leq 100.000 cópias/ml ($p=0,018$).

A mediana do tempo de falha para quem apresentou a K65R foi de dois meses e para quem não apresentou esta mutação foi de 4,7 meses ($p=0,973$).

No momento da realização da genotipagem a mediana de linfócitos CD4 entre os pacientes que apresentaram a mutação K65R foi de 133 céls/mm³ e entre os que não apresentaram esta mutação foi de 167,0 céls/mm³ ($p=0,496$).

Além disso, em relação à carga viral no momento da genotipagem, aqueles pacientes que apresentavam carga viral acima de 50.000 cópias/ml tinham uma probabilidade de 53% de terem a mutação K65R, enquanto que os pacientes com carga viral abaixo de 10.000 cópias/ml e entre 10.001 e 50.000 cópias/ml tiveram uma probabilidade de 13% e 31 %, respectivamente ($p=0,067$).

A mediana do tempo de tratamento foi de 9,7 meses no grupo que tinha a presença da K65R e 15,6 meses no grupo com ausência desta mutação ($p= 0,081$).

Em relação à classe de cART utilizada no momento da genotipagem, entre os 47 pacientes que fizeram esquemas contendo tenofovir, 39% dos que estavam em uso de esquemas baseados em não análogos de nucleosídeos apresentaram a mutação K65R, enquanto 11% dos que estavam em uso de IP/r apresentaram esta mutação ($p=0,234$).

Tabela 7: Distribuição dos pacientes de acordo com a presença da mutação K65R na coorte de pacientes com HIV/AIDS com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha entre 2000 e 2012, no IPEC/FIOCRUZ.

N (%)	Mutação K65R		P
	Presença 15 (32)	Ausência 32 (68)	
Idade			
mediana	32,9	33,7	0,561*
(IQR)	(29,7 ó 39,1)	(31,4 ó 40,6)	
Categoria de exposição			
UDI	0 (0,0)	0 (0,0)	0,941***
HSH	7 (35,0)	13 (65,0)	
Outros	8 (29,6)	19 (70,4)	
CD4 basal			
Ö200	11 (36,7)	19 (63,3)	0,489**
> 200	3 (21,4)	11 (78,6)	
CD4 basal			
mediana	135,5	164,5	0,878*
(IQR)	(240,0 ó 301,5)	(113,2 - 234,7)	
CV basal			
Ö100.000	0 (0,0)	12 (100,0)	0,018***
> 100.000	9 (36,0)	16 (64,0)	
CV basal em log			
mediana	5,7	5,3	0,791*
(IQR)	(5,6 ó 5,8)	(4,8 ó 6,0)	
Tempo da falha até a genotipagem (meses)			
mediana	2,0	4,7	0,973*
(IQR)	(1,2 ó 4,0)	(0,9 ó 9,0)	
CD4 no momento da genotipagem			
Ö200	6 (28,6)	15 (71,4)	1,000**
> 200	5 (31,2)	11 (68,8)	
CD4 no momento da genotipagem			
mediana	133,0	167,0	0,496*
(IQR)	(40 ó 317)	(103,5 ó 272,5)	
CV no momento da genotipagem			
< 10.000	2 (13,3)	13 (86,7)	0,067**
10.001 ó 50.000	4 (30,8)	9 (69,2)	
>50.000	8 (53,3)	7 (46,7)	
Tempo de tratamento (meses)			
mediana	9,7	15,6	0,081*
(IQR)	(7,4 ó 19,0)	(9,9 ó 33,5)	
Tipo de cART no momento da genotipagem			
ITRNN	14 (38,9)	22 (61,1)	0,234**
IP/r	1 (11,1)	8 (88,9)	

* Kruskal-Wallis

** Qui-Quadrado

*** Teste exato de Fischer

6. DISCUSSÃO

As características sócio-demográficas e categoria de exposição ao HIV da população estudada estão de acordo com o atual perfil epidemiológico do Brasil sendo mais predominante o sexo masculino, raça não-branca e idade próxima aos 30 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Em relação à escolaridade houve diferença uma vez que a maioria da população do estudo apresenta escolaridade abaixo de 4 anos e no Brasil os dados mostram que a escolaridade dos pacientes com HIV/SIDA está, em sua maioria, entre 5 e 8 anos.

Duas categorias de exposição se destacam: a de HSH com 31% dos pacientes e a de heterossexuais com 56,6% dos pacientes. Esses dados são um pouco diferentes dos dados do perfil epidemiológico brasileiro do HIV/SIDA de 2012 que evidencia uma diferença mais acentuada entre as categorias de risco de homossexuais e heterossexuais (24,1% e 42,6% respectivamente em indivíduos acima de 13 anos) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Essas diferenças relacionadas à escolaridade e categoria de exposição podem ser explicadas pelo fato do estudo ter sido feito com uma população em falha virológica pertencente a um subgrupo de pacientes da coorte do IPEC. Em estudo realizado recentemente abrangendo esta coorte em sua totalidade foram evidenciados percentuais mais baixos de pacientes com nível de escolaridade de até 4 anos (TORRES et al., 2013), bem semelhante ao perfil epidemiológico do Rio de Janeiro e do Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). A maior frequência de baixa escolaridade neste estudo pode estar relacionada a uma menor adesão por parte deste grupo e talvez a falha virológica seja mais frequente nesta população. Estudos de efetividade demonstraram melhores taxas de supressão viral entre pacientes com maiores níveis de escolaridade (TUBOI et al., 2005) (ZARAGOZA-MACIAS et al., 2010).

Analisando-se os aspectos clínico-laboratoriais da população estudada, verifica-se que a maior parte dos pacientes apresentava um CD4 de base abaixo ou igual a 200 céls/mm³, com uma mediana de 177 céls/mm³ o que reflete uma demora na realização do diagnóstico e consequentemente, no início da terapia antirretroviral no período de observação do estudo. Isso está de acordo com estudos anteriores que mostraram que um número expressivo de pacientes ainda é diagnosticado com níveis de imunodeficiência avançada no nosso meio (MOREIRA et al., 2011) (SOUZA-JR; SZWARCOWALD; CASTILHO, 2007).

A carga viral elevada, com predominância acima de 100.000 cópias/ml, é um marcador em diversos estudos de uma população com maior chance de falha terapêutica (MARCONI et al., 2008).

Se compararmos com estudos controlados, onde a genotipagem costuma ser realizada na mesma visita em que a falha é detectada, a mediana do tempo de falha até a realização da genotipagem de 4 meses encontrada neste estudo reflete não só um certo atraso na conduta como também as dificuldades operacionais presentes no nosso sistema de saúde. Este atraso pode ter contribuído para seleção de mutações adicionais, principalmente em relação às classes de drogas com agentes de barreira genética reduzida, como os análogos de nucleosídeos e os não análogos. Por outro lado, se levamos em conta os resultados de estudos observacionais, especialmente em países de recursos limitados em que o diagnóstico da falha terapêutica e os exames de genotipagens são realizados habitualmente após um período de 1 ano de tratamento em pacientes que não fazem monitorização virológica regular, a população selecionada por nossa definição de falha permitiu a avaliação da resistência em pacientes expostos a um tempo menor de falha no tratamento. Deve-se ressaltar que nosso estudo de caráter observacional, reflete a conduta da assistência adotada em nosso centro e que em outros centros do país a monitorização virológica pode ser menos rigorosa, levando a um maior atraso na detecção da falha (SIGALOFF et al., 2011).

Vinte e três pacientes fizeram a troca do esquema antirretroviral por toxicidade antes da falha (13,5%), sendo que todos fizeram essa troca antes do primeiro ano de cART. Este percentual é menor ao reportado no estudo de Cardoso et al (CARDOSO et al., 2010), onde 26,7% dos pacientes que iniciaram cART fizeram a troca em decorrência de toxicidade precoce (até um ano do início do esquema). No entanto, no estudo de Cardoso et al o período analisado foi de 1996 a 2006, onde os esquemas antirretrovirais eram de menor comodidade posológica e traziam mais efeitos colaterais aos pacientes.

O subtipo do HIV mais prevalente foi o B, ratificando o perfil epidemiológico do vírus HIV no Brasil. Com exceção do estudo de Santoro et al (SANTORO et al., 2013) todos os outros estudos realizados fora do Brasil foram baseados em subtipos não-B, podendo haver diferenças no que diz respeito a algumas características demográficas e ao próprio perfil mutacional na primeira falha (PRAPARATTANAPAN et al., 2012) (HAMERS et al., 2012) (VON WYL et al., 2012) (DAGNRA et al., 2011) (MUWONGA et al., 2011).

No momento da realização da genotipagem para se averiguar a falha virológica aos esquemas, grande parcela dos pacientes estudados estava em uso de esquemas contendo não

análogos de nucleosídeos, seguindo, portanto, as diretrizes do atual consenso de terapia antirretroviral do Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). Uma pequena parcela de pacientes estava em uso de IP sem *booster* no momento da genótipo, principalmente entre os acompanhados no final da década de 90 e início dos anos 2000, quando esta estratégia era mais indicada pelos guias de recomendação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999).

A mediana de CD4 no momento da genótipo foi de 281 células/mm³ e 35,1% dos pacientes apresentaram carga viral entre 10.001 e 50.000 cópias/ml no momento da falha, o que reflete uma população ainda com níveis consideráveis de imunodeficiência. A ampla maioria dos pacientes (73,2%), apresentavam carga viral <50.000 no momento da falha, abaixo do valor basal encontrado na população, o que pode ser explicado pela menor replicabilidade do vírus com mutação de resistência ou pelo efeito residual das medicações em uso no momento da falha.

6.1 Perfil mutacional na primeira falha

No grupo de pacientes que fez uso de inibidores não análogos de nucleosídeos (n=113), entre as mutações associadas à resistência a esta classe, a mais prevalente foi a 103N (n=75), o que é esperado frente à preponderância expressiva de esquemas baseados em efavirenz e por ser a mutação mais frequentemente selecionada por esta droga no subtipo B. As outras mutações mais prevalentes são 225H, 190A e 188L, que são também descritas como associadas a falha ao efavirenz no subtipo B.

A grande maioria dos estudos sobre primeira falha aos esquemas contendo não análogos foi realizada em países do continente africano, com dados provenientes de grandes estudos populacionais com acesso relativamente recente a terapia antirretroviral em que esta classe é utilizada como terapia de primeira linha na quase totalidade dos pacientes, e onde o subtipo C do HIV predomina.

O perfil mutacional para não análogos na primeira falha destes países apresenta algumas diferenças em relação ao Brasil. A mutação 103N continua sendo a de maior prevalência. No entanto, a 181C aparece com frequência mais elevada, provavelmente pelo uso mais frequente da nevirapina em esquemas de primeira linha nestas áreas (VAN ZYL et al., 2011) (DAGNRA et al., 2011) (MUWONGA et al., 2011). Embora menos frequente no nosso estudo (n=11, 10%), o número encontrado é acima do esperado para uma amostra em que apenas 9 pacientes falharam em uso de nevirapina. Isto é relevante pelo impacto que esta

mutação tem, mesmo isoladamente, na sensibilidade a etravirina comprometendo sua ação como futuro agente em esquemas de resgate.

É importante mencionar que 4 pacientes que usaram esquema com não análogos de nucleosídeos apresentaram mutações na protease. Destes quatro, três fizeram uso apenas de esquemas contendo não análogos (EFV) e, portanto, a resistência na protease pode ter sido transmitida. Apenas um paciente fez uso de esquema contendo inibidor de protease com *booster* (SQV/r) previamente ao esquema composto por não análogos e antes da falha virológica. Neste caso, apesar de ter sido esquema com *booster* pode ter havido dificuldade de adesão do paciente em decorrência da baixa comodidade posológica e de maiores efeitos colaterais deste esquema.

Em relação ao uso de IP *sem booster*, 17 pacientes que estavam em uso de esquemas contendo esta classe de antirretroviral, em sua maioria casos acompanhados no início do período de observação do estudo, quando esta estratégia era a mais utilizada. A distribuição mutacional nesse grupo de pacientes mostra uma baixa frequência de mutações, sendo três as mutações mais prevalentes para IP: 30N, 82ATF e 90M. A mutação 30N está diretamente relacionada ao uso de Nelfinavir (antirretroviral utilizado por 11 pacientes, 46%). Analisando-se conjuntamente as três mutações pelo algoritmo brasileiro (REDE NACIONAL DE LABORATÓRIOS DE GENOTIPAGEM, 2012), não há comprometimento da sensibilidade de nenhum IP com *booster*, únicos avaliados atualmente uma vez que não é mais divulgada a interpretação para IP sem ritonavir pela RENAGENO. Apesar disso, alguns estudos sugerem uma menor eficácia na supressão viral para esquemas baseados com IP/r na presença de apenas 1 mutação principal de resistência a classe, mesmo que não tenha impacto demonstrável nos testes de resistência. Este resultado é, portanto, relevante na construção de esquemas de resgate (BÁNHEGYI et al., 2012).

Entre os pacientes que fizeram uso de IP com *booster* (n=36), foi possível observar também seleção de mutações primárias para a classe, embora em número algo menor do que no grupo de IP *sem booster*. As mais frequentes neste caso foram a 82ATF, 90M e 46ILV, refletindo provavelmente o uso de inibidores de protease utilizados mais frequentemente no início do período de observação como o Saquinavir, que tem a 90M como mutação primária e o Indinavir que pode selecionar mutações no códon 82 e 46 na falha.

A identificação de cepas resistentes, raramente encontradas em estudos controlados envolvendo o uso de IP/r em esquemas de primeira linha, pode estar relacionada à monitorização virológica menos rigorosa e ao maior tempo entre a detecção da falha e o teste

de resistência em condições de vida real. Além disto, a indisponibilidade de coformulações, especialmente para os IPs mais antigos de pior tolerância e perfil farmacocinético menos favorável, pode ter levado a dificuldades na adesão e interrupção parcial do IP ativo ou do ritonavir, favorecendo a seleção de mutações primárias. Estas mutações são as mesmas encontradas por Péré et al em estudo envolvendo amostras de pacientes após 24 meses de tratamento antirretroviral incluindo uso de Indinavir/r (PÉRÉ et al., 2012).

Em relação à classe dos análogos de nucleosídeos, a mutação mais prevalente nos três grupos de esquemas antirretrovirais foi a 184VI. Foram encontradas ainda diversas TAMs, refletindo a ampla utilização de análogos timidínicos no período de estudo, e a K65R, observada após a introdução do tenofovir em nosso meio. Os pacientes que utilizaram IP/r apresentaram um menor número de mutações selecionadas para esta classe, sendo as mais prevalentes a 184VI e a 215FY.

Analisando-se a distribuição de mutações segundo o esquema utilizado, os pacientes que estavam em uso de não análogos foram os que apresentaram o maior percentual de mutações para análogos de nucleosídeos, incluindo a M184V, a K65R e as TAMs, provavelmente pela reduzida barreira genética da classe, que pode perder sua ação precocemente, expondo o paciente a um maior risco de resistência aos demais agentes por uma menor atividade do esquema terapêutico. Além disso, em muitos casos acontece a detecção tardia da falha virológica levando ao maior acúmulo de TAMs nestes pacientes (NDEMBI et al., 2010)

Os pacientes que fizeram esquemas com IP sem *booster* apresentaram também um percentual considerável de mutações para análogos o que pode acontecer em decorrência da dificuldade na adesão por parte do paciente (quando eram feitos sem *booster* o número de comprimidos diários era grande), e pela menor confiabilidade do perfil farmacocinético destes agentes, aumentando o tempo em que os níveis séricos permanecem em concentrações inadequadas, reduzindo a potência do esquema.

Considerando-se separadamente a mutação M184V/I, a frequência entre os pacientes em uso de IP/r foi significativamente menor do que nos demais grupos. Este resultado reforça a alta barreira genética destes agentes, o que confere proteção inclusive as outras classes de ARV utilizadas em combinação (RIDDLER et al., 2008) (WALMSLEY et al., 2002).

Já a mutação K65R foi identificada em 15 pacientes (32%), todos eles em uso de tenofovir no momento da falha. Embora esta mutação possa ser selecionada pela estavudina e didanosina este fato é incomum no subtipo B, amplamente predominante na nossa população.

Destes pacientes, 14 pacientes estavam em uso de esquema com não análogos de nucleosídeos e apenas 1 paciente estava em uso de IP com *booster*. Esses resultados talvez possam ser justificados também pela presença de uma barreira genética menor dos esquemas contendo não análogos e pela baixa frequência de utilização de tenofovir.

Entre os pacientes que estavam em uso de esquemas contendo IP com *booster*, as TAMs foram encontradas também em frequência significativamente menor do que nos outros grupos avaliados, mesmo tendo um maior número de pacientes expostos a análogos timidínicos. Isto demonstra novamente uma maior proteção em relação à seleção de mutações aos outros componentes do esquema ARV. Vale ressaltar que mais de um terço dos pacientes em uso de não análogos ou IP sem ritonavir apresentaram mais do que uma TAM, o que pode reduzir significativamente a eficácia de toda a classe na terapia de resgate, incluindo o tenofovir.

Mutações associadas à resistência aos não análogos de nucleosídeos foram encontradas na ampla maioria dos pacientes em uso desta classe (87,6%), o que é esperado devido à baixa barreira genética dos seus agentes de primeira geração. Além destes, três pacientes que estavam em uso de esquemas baseados em IP com *booster* apresentaram mutações para não análogos. Destes três, dois apresentaram provavelmente resistência transmitida e um fez uso prévio de esquema baseado em não análogo de nucleosídeo (EFV) por um curto período de tempo, sendo a troca realizada em decorrência de toxicidade, o que pode explicar sua presença em função de uso irregular pelo paciente ou mesmo da suspensão completa de um esquema contendo EFV e inibidores análogos de nucleosídeos onde a meia vida longa do EFV pode favorecer o surgimento de mutação de resistência.

Mutações primárias para IP foram bem menos frequentes, sendo o percentual um pouco maior no grupo dos pacientes que estavam em uso de IP sem *booster*, que devido a menor barreira genética é mais vulnerável a seleção de cepas resistentes. Como já mencionado, o número de mutações entre os pacientes que utilizaram IP/r foi maior do que o encontrado em estudos clínicos, o que deve estar relacionado ao maior tempo entre a falha até a realização da genotipagem e à utilização de agentes desta classe mais antigos, de esquemas posológicos mais complexos, o que limita a adesão.

Outro resultado muito importante foi que o percentual significativamente maior de pacientes que apresentaram mutações para duas classes no grupo que estava em uso de não análogos de nucleosídeos, 73,4% vs 13,9% dos pacientes em uso de IP/r. Este é mais um dado

significativo em relação ao perfil mutacional selecionado e a maior perda de opções terapêuticas após a falha a esquemas contendo não análogos de nucleosídeos.

6.2 Genotipagens com vírus selvagem

Chamamos de genotipagem com vírus selvagem quando o exame não apresenta mutações de resistência primária aos antirretrovirais, isto é, quando predomina o vírus selvagem. Em um contexto de suspeita de falha virológica, isto pode ser considerado um possível marcador de baixa adesão do paciente ao esquema em uso, não havendo a pressão seletiva determinada por estas drogas.

Um total de 32 pacientes (19,3%) apresentaram genotipagem com vírus selvagem neste estudo. Este resultado é semelhante ao encontrado em outros estudos observacionais de falha a esquemas de primeira linha (WALLIS et al., 2010) (HAMERS et al., 2012) (MARCONI et al., 2008) (WALLIS et al., 2011b). A genotipagem com vírus selvagem foi significativamente associada ao uso de IP/r, sendo encontrada em frequência bem menor nos demais grupos, principalmente no grupo dos não análogos. Este dado também está próximo ao que é encontrado em outros estudos, indicando que a falha a esquemas a IP/r está associada geralmente a dificuldade de adesão devido à baixa tolerabilidade ou dificuldade posológica, como número de comprimidos ou de tomadas. Outro fator que talvez seja importante é a alta barreira genética destes esquemas, o que dificulta a seleção de cepas resistentes. (WALMSLEY et al., 2009) (RIDDLER et al., 2008).

A carga viral acima de 50.000 cópias/ml no momento da genotipagem também se mostrou um fator associado a uma maior chance de genotipagem com vírus selvagem, estando esse achado possivelmente relacionado a elevada replicabilidade do vírus selvagem. Além disso, a carga viral elevada pode ser também um marcador de abandono de tratamento, uma vez que o efeito residual das medicações, mesmo em doses inadequadas ou na presença de cepas resistentes, costuma reduzir os níveis de viremia.

O tempo de tratamento com cART se mostrou como um fator associado a menor chance de genotipagem com vírus selvagem. É provável que, pacientes com histórico de longo tempo de exposição aos agentes antirretrovirais, nem sempre acompanhados de regular monitorização virológica, apresentem maior chance de acúmulo de mutações associado a períodos de baixa adesão, seja por demora na detecção de falha ou por períodos de perda de controle seguidos de ressupressão viral não identificada durante o acompanhamento.

Outro fator protetor foi a presença do CD4 basal abaixo de 200 céls/mm³. Valores de CD4 mais baixos no início de tratamento podem ser um fator de motivação para utilização dos medicamentos em pacientes com dificuldades de adesão. Após um período inicial, no entanto estes pacientes podem perder o comprometimento com a terapia antirretroviral, o que levaria a interrupção ou a irregularidade no seu uso, fatores relacionados à seleção de cepas resistentes.

6.3 Sensibilidade à etravirina

A resistência à etravirina pode ser detectada através de alguns sistemas de avaliação ou algoritmos. Para este estudo optou-se pela utilização do escore ponderado confeccionado pela Tibotec®, por ser de fácil aplicação e ter sido validado em condições clínicas (VINGERHOETS et al., 2012).

Este escore gera três possibilidades de interpretação: sensibilidade plena, resistência intermediária e resistência completa à etravirina.

No presente estudo 28 pacientes apresentaram mutações que comprometiam a sensibilidade da etravirina (escore $\times 2,5$), apontando que um quarto dos pacientes com falha ao primeiro esquema já apresenta limitações ao uso futuro de etravirina em terapia de resgate. Apesar da mutação mais prevalente no grupo dos não análogos ser a 103N, e essa não estar associada a resistência cruzada com a etravirina, outras mutações que apareceram na nossa população de estudo contribuíram para este resultado, especialmente a 181C, mas também a 101E, 108I, 188L, 190 A e a 225H.

A mediana de CD4 de base dos pacientes agrupados nos três escores foi ≈ 200 céls/mm³ sendo muito mais baixa nos cinco pacientes que apresentaram resistência completa para etravirina (< 50 céls/mm³). Estes pacientes foram os que apresentaram um maior tempo entre o diagnóstico da falha e a realização da genotipagem (6 meses). Provavelmente são pacientes com baixa adesão tanto aos medicamentos quanto ao seu acompanhamento médico.

Os pacientes que apresentavam algum comprometimento da atividade da etravirina (escore $\times 2,5$) tiveram uma mediana de tempo de tratamento menor, cerca de 18 meses, quando comparados com os pacientes que apresentaram escore < 2 , cujo tempo de tratamento foi de aproximadamente 27 meses. Esta diferença, no entanto, não alcançou significância estatística, possivelmente por limitações relacionadas ao tamanho da amostra.

Em relação ao uso de análogos timidínicos não houve significância estatística o uso de AZT entre os pacientes do diferentes grupos, assim como ocorreu com a estavudina. No entanto, um número pequeno de pacientes estava em uso deste último (6 pacientes).

A distribuição da sensibilidade à etravirina entre os pacientes que utilizaram tenofovir foi significativamente diferente do resto da população que utilizou não análogos, com uma maior frequência de casos que não apresentavam sensibilidade plena a droga. Esta associação entre o uso de tenofovir e menor sensibilidade a etravirina não é habitualmente encontrada nos dados da literatura. Sabe-se, no entanto, que pode haver uma relação entre mutações para não análogos e determinados análogos de nucleosídeos. Já foi demonstrado que a 181I/C pode estar relacionada à redução na sensibilidade à estavudina, embora não seja selecionada por esta droga (BALDANTI et al., 2003). Por outro lado o uso de zidovudina pode ser um fator protetor em relação à seleção desta mutação. Outras relações entre mutações para não análogos e uso de análogos podem ser ainda desconhecidas. É importante que outros estudos ajudem a investigar a possível associação entre o uso de tenofovir e mutações específicas para não análogos.

6.5 Mutação K65R

Foi traçado um perfil dos pacientes que apresentaram a mutação K65R. Todos os pacientes que apresentaram esta mutação estavam em uso de tenofovir.

Houve o aparecimento desta mutação em 15 pacientes apenas, o que é considerado uma frequência baixa, condizendo com a realidade dos subtipos B do vírus HIV, que apresentam esta mutação mais raramente quando comparado aos subtipos não-B. Destes 15 pacientes, 93% estavam em uso de esquemas baseados em não análogos de nucleosídeos (efavirenz em sua totalidade) e 7% (apenas um paciente) estava em uso de inibidor da protease. Este achado é corroborado por Trotta et al que afirmou que o uso de Efavirenz está relacionado de forma independente com o aparecimento da mutação K65R (TROTТА et al., 2006). Esta associação pode ser explicada pela relação da presença da mutação 100I (induzida geralmente pelo Efavirenz) com a K65R. Apesar disso, neste estudo apenas três pacientes que apresentaram a K65R tiveram a mutação 100I.

Outra mutação de importância clínica para o grupo dos pacientes que fizeram uso de não análogos de nucleosídeos é a 181C. Neste estudo, 5 pacientes que apresentaram a mutação K65R, apresentaram também a mutação 181C e 1 paciente apresentou a mutação 101P, o que leva a uma considerável perda da sensibilidade à etravirina. Apesar disso, não é

possível inferir qualquer relação estatisticamente significativa com estes dados, uma vez que o número de pacientes com estas mutações é muito pequeno.

No presente estudo, a K65R se mostrou acompanhada também de resistência estabelecida aos não análogos em todos os pacientes que estavam em uso desta classe e, na maior parte destes pacientes (73,3%), também da M184V que confere resistência à lamivudina. Este resultado está de acordo com os dados encontrados em outros estudos, que sugerem ser a K65R de aparecimento tardio em relação à resistência selecionada pelas outras drogas do esquema antirretroviral em uso (STONE et al., 2004).

Em relação às características clínicas e laboratoriais basais, o grupo que apresentou a K65R tinha frequência significativamente superior de carga viral >100.000 . Este grupo de pacientes, por ser de tratamento mais difícil e habitualmente demorar mais para atingir a indetectabilidade viral, pode ser mais vulnerável a seleção de cepas resistentes. Foi encontrada também uma tendência para a associação entre a presença da K65R e carga viral elevada, acima de 50.000 cópias/ml, no momento da genotipagem. Este dado está provavelmente relacionado ao fato de que estes pacientes apresentavam, em sua grande maioria, resistência a todos os componentes do esquema antirretroviral. Além disto, a K65R está associada a um alto nível de resistência ao tenofovir, que nestes casos apresenta reduzido efeito residual.

Houve um curto intervalo de tempo entre o diagnóstico de falha e a realização da genotipagem (2 meses) entre os pacientes que apresentaram a K65R quando comparado com os pacientes que não apresentaram esta mutação, mostrando que não houve atraso significativo no diagnóstico da falha precoce.

Em relação ao tempo de tratamento dos pacientes que apresentaram a K65R, houve também uma diferença considerável entre aqueles que apresentaram e não apresentaram esta mutação, sendo a mediana de 9,7 e 15,6 meses respectivamente, embora não tenha sido encontrada significância estatística provavelmente pela amostra reduzida. De qualquer maneira, esse resultado é inesperado uma vez que esta mutação tende a aparecer mais tardiamente. Uma possível explicação é que este grupo, em que a carga viral basal era elevada, seja composto por pacientes com baixa adesão inicial ao tratamento, o que levou à rápida perda da ação dos não análogos e a exposição, portanto, a terapia dupla inadequada com análogos de nucleosídeos, levando a não obtenção da supressão viral em momento algum do tratamento. É possível também que alguns destes pacientes sejam casos de resistência transmitida aos não análogos. A favor desta hipótese temos o fato de ter sido encontrada uma

extensa resistência aos não análogos nestes pacientes, incluindo a presença da 181C, que não costuma ser selecionada pelo Efavirenz utilizado nestes casos (SIGALOFF et al., 2011).

Esta análise apresenta como principal limitação o fato de haver poucos pacientes com a mutação K65R.

7. CONCLUSÕES

1 - O perfil genotípico da primeira falha entre os pacientes da coorte do IPEC mostrou uma maior prevalência de 184V/I e 103N. Foi evidenciado um pequeno número de mutações para protease.

2 - De um modo geral foi evidenciado um perfil mutacional relativamente favorável à utilização da Etravirina em esquemas de resgate na coorte de pacientes do IPEC, pela moderada frequência das mutações que comprometem a atividade deste antirretroviral.

3 - Não houve fatores estatisticamente significativos relacionados à redução na sensibilidade à etravirina no presente estudo. Observou-se, no entanto, uma menor proporção de indivíduos com perfil de sensibilidade plena à etravirina e uma maior proporção de indivíduos com perfil de resistência a esta droga entre os pacientes que fizeram uso de tenofovir, sendo essa diferença significativa em relação ao total de pacientes avaliados.

4 - A prevalência de genotipagem com vírus selvagem entre os pacientes da coorte do IPEC foi de 22,9% sendo a utilização de IP com *booster* e sem *booster* e a CV no momento da genotipagem acima de 50.000 cópias/ml considerados como fatores associados à presença de genotipagem com vírus selvagem e as variáveis CD4 de base ≥ 200 e tempo de tratamento como fatores protetores de genotipagem com vírus selvagem.

5 - Não houve fatores relacionados à mutação K65R na primeira falha ao cART. Foi evidenciado que 100% dos pacientes que apresentaram CV de base ≥ 100.000 cópias/ml não apresentaram esta mutação.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFANI S, A.; GALLARDO O, A. M. Resistencia a la terapia antiretroviral en la infección por virus de inmunodeficiencia humana. **Revista chilena de infectología**, v. 28, n. 5, p. 4616-469, out. 2011.

AMMARANOND, P.; SANGUANSITTIANAN, S. Mechanism of HIV antiretroviral drugs progress toward drug resistance. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 26, n. 1, p. 1466-161, fev. 2012.

BALDANTI, F. et al. Nevirapine-selected mutations Y181I/C of HIV-1 reverse transcriptase confer cross-resistance to stavudine. **AIDS (London, England)**, v. 17, n. 10, p. 156861570, 4 jul. 2003.

BANGSBERG, D. R.; MOSS, A. R.; DEEKS, S. G. Paradoxes of adherence and drug resistance to HIV antiretroviral therapy. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 53, n. 5, p. 6966699, maio 2004.

BÁNHEGYI, D. et al. Week 96 efficacy, virology and safety of darunavir/r versus lopinavir/r in treatment-experienced patients in TITAN. **Current HIV research**, v. 10, n. 2, p. 1716181, mar. 2012.

BRUN-VÉZINET, F.; CHARPENTIER, C. Update on the Human Immunodeficiency Virus. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 43, n. 5, p. 1776184, maio 2013.

BUNUPURADAH, T. et al. Etravirine and rilpivirine resistance in HIV-1 subtype CRF01_AE-infected adults failing non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based regimens. **Antiviral Therapy**, v. 16, n. 7, p. 111361121, 2011.

CANE, P. A. Stability of transmitted drug-resistant HIV-1 species. **Current opinion in infectious diseases**, v. 18, n. 6, p. 5376542, dez. 2005.

CARDOSO, S. W. et al. Incidence of Modifying or Discontinuing First HAART Regimen and Its Determinants in a Cohort of HIV-Infected Patients from Rio de Janeiro, Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 26, n. 8, p. 8656874, ago. 2010.

CLAVEL, F.; HANCE, A. J. HIV drug resistance. **The New England journal of medicine**, v. 350, n. 10, p. 102361035, 4 mar. 2004.

CORTEZ, K. J.; MALDARELLI, F. Clinical Management of HIV Drug Resistance. **Viruses**, v. 3, n. 12, p. 3476378, 14 abr. 2011.

DAAR, E. S. Atazanavir Plus Ritonavir or Efavirenz as Part of a 3-Drug Regimen for Initial Treatment of HIV-1: A Randomized Trial. **Annals of Internal Medicine**, v. 154, n. 7, p. 445, 5 abr. 2011.

DAGNRA, A. Y. et al. High prevalence of HIV-1 drug resistance among patients on first-line antiretroviral treatment in Lomé, Togo. **Journal of the International AIDS Society**, v. 14, p. 30, 2011.

- DEEKS, E. D.; KEATING, G. M. Etravirine. **Drugs**, v. 68, n. 16, p. 235762372, 2008.
- DOMINGO, P. [Role of etravirine in combination antiretroviral therapy]. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, v. 27 Suppl 2, p. 46651, dez. 2009.
- FISCHL, M. A. et al. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. **The New England journal of medicine**, v. 317, n. 4, p. 1856191, 23 jul. 1987.
- FOURIE, J. et al. Effect of Baseline Characteristics on the Efficacy and Safety of Once-Daily Darunavir/ Ritonavir in HIV-1 Infected, Treatment-Naïve ARTEMIS Patients at Week 96. **HIV Clinical Trials**, v. 12, n. 6, p. 3136322, 1 jan. 2011.
- GERETTI, A. M. Shifting paradigms: the resistance profile of etravirine. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 62, n. 4, p. 6436647, out. 2008.
- GUPTA, R. et al. Emergence of Drug Resistance in HIV Type 1 Infected Patients after Receipt of First-Line Highly Active Antiretroviral Therapy: A Systematic Review of Clinical Trials. **Clinical Infectious Diseases**, v. 47, n. 5, p. 7126722, set. 2008.
- HAMERS, R. L. 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. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 54, n. 11, p. 166061669, jun. 2012.
- HATANO, H. et al. Rate of viral evolution and risk of losing future drug options in heavily pretreated, HIV-infected patients who continue to receive a stable, partially suppressive treatment regimen. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 43, n. 10, p. 132961336, 15 nov. 2006.
- HILL, A. et al. Modelling-based prediction of clinical benefits from etravirine in the TMC125-C223 trial. **HIV clinical trials**, v. 8, n. 2, p. 68676, abr. 2007.
- KANTOR, R. et al. Impact of HIV-1 subtype and antiretroviral therapy on protease and reverse transcriptase genotype: results of a global collaboration. **PLoS medicine**, v. 2, n. 4, p. e112, abr. 2005.
- LAU, K. A.; WONG, J. J. L. Current Trends of HIV Recombination Worldwide. **Infectious disease reports**, v. 5, n. Suppl 1, p. e4, 6 jun. 2013.
- MADRUGA, J. V. et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-1: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 370, n. 9581, p. 29638, 7 jul. 2007.
- MAÏGA, A. I. et al. Resistance-associated mutations to etravirine (TMC-125) in antiretroviral-naïve patients infected with non-B HIV-1 subtypes. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 2, p. 7286733, fev. 2010.
- MARCELIN, A.-G. et al. Factors associated with virological response to etravirine in nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-experienced HIV-1-infected patients. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 1, p. 72677, jan. 2010.

MARCONI, V. C. et al. Prevalence of HIV-1 Drug Resistance after Failure of a First Highly Active Antiretroviral Therapy Regimen in KwaZulu Natal, South Africa. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 10, p. 1589-1597, 15 maio 2008.

MEDEIROS, R.; DIAZ, R. S.; FILHO, A. C. Estimating the length of the first antiretroviral therapy regimen durability in São Paulo, Brazil. **The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases**, v. 6, n. 6, p. 298-304, dez. 2002.

MICHAEL S. GOTTLIEB et al. Pneumocystis carinii Pneumonia and Mucosal Candidiasis in Previously Healthy Homosexual Men - Evidence of a New Acquired Cellular Immunodeficiency. **1981**, v. 305, n. 24, p. 1425-1431, 10 dez. 1981.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Recomendações para terapia antirretroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV**, 1999. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/54recomendacoes_terapia.pdf>. Acesso em: 26 out. 2013

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico - HIV/AIDS**, Dezembro 2012. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2012/52654/boletim_2012_final_pdf_14028.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2013

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para adultos vivendo com HIV/AIDS**, 2013. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2013/55308/_p_pcdt_adulto_versao_preliminar_site_pdf_p_41365.pdf>. Acesso em: 26 out. 2013

MOLINA, J.-M. et al. Once-daily atazanavir/ritonavir compared with twice-daily lopinavir/ritonavir, each in combination with tenofovir and emtricitabine, for management of antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients: 96-week efficacy and safety results of the CASTLE study. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 53, n. 3, p. 323-332, mar. 2010.

MOREIRA, R. I. et al. Immune Status at Presentation for HIV Clinical Care in Rio de Janeiro and Baltimore: **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 57, p. S171-S178, ago. 2011.

MUNERATO, P. et al. HIV Type 1 Antiretroviral Resistance Mutations in Subtypes B, C, and F in the City of São Paulo, Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 26, n. 3, p. 265-273, mar. 2010.

MUWONGA, J. et al. Resistance to Antiretroviral Drugs in Treated and Drug-Naïve Patients in the Democratic Republic of Congo: **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 57, p. S27-S33, jul. 2011.

NDEMBI, N. et al. Viral Rebound and Emergence of Drug Resistance in the Absence of Viral Load Testing: A Randomized Comparison between Zidovudine-Lamivudine plus Nevirapine and Zidovudine-Lamivudine plus Abacavir. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 201, n. 1, p. 106-113, jan. 2010.

- NUNES, E. P.; DE OLIVEIRA, M. S.; GRINSZTEJN, B. Clinical use of raltegravir: a review. **HIV Therapy**, v. 4, n. 5, p. 5316542, set. 2010.
- PÉRÉ, H. et al. Virological Response and Resistance Profiles After 24 Months of First-Line Antiretroviral Treatment in Adults Living in Bangui, Central African Republic. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 28, n. 4, p. 3156323, abr. 2012.
- PEREIRA-VAZ, J. et al. Prevalence of etravirine resistance associated mutations in HIV-1 strains isolated from infected individuals failing efavirenz: Comparison between subtype B and non-B genetic variants. **Journal of Medical Virology**, v. 84, n. 4, p. 5516554, abr. 2012.
- PRAPARATTANAPAN, J. et al. Resistance-associated mutations after initial antiretroviral treatment failure in a large cohort of patients infected with HIV-1 subtype CRF01_AE. **Current HIV research**, v. 10, n. 8, p. 6476652, dez. 2012.
- PULIDO, F. et al. Long-Term Efficacy and Safety of Fosamprenavir plus Ritonavir Versus Lopinavir/Ritonavir in Combination with Abacavir/Lamivudine over 144 Weeks. **HIV Clinical Trials**, v. 10, n. 2, p. 76687, 1 jan. 2009.
- REDE NACIONAL DE LABORATÓRIOS DE GENOTIPAGEM. **Interpretação brasileira de genotipagem do algoritmo brasileiro**, 2012. Disponível em: <http://algoritmo.aids.gov.br/atualizacao_algoritmo/site/>. Acesso em: 26 out. 2013
- RIDDLER, S. A. et al. Class-sparing regimens for initial treatment of HIV-1 infection. **The New England journal of medicine**, v. 358, n. 20, p. 209562106, 15 maio 2008.
- ROBERTSON, D. L. et al. HIV-1 nomenclature proposal. **Science (New York, N.Y.)**, v. 288, n. 5463, p. 55656, 7 abr. 2000.
- RUXRUNGTHAM, K. et al. Impact of reverse transcriptase resistance on the efficacy of TMC125 (etravirine) with two nucleoside reverse transcriptase inhibitors in protease inhibitor-naïve, nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-experienced patients: study TMC125-C227. **HIV medicine**, v. 9, n. 10, p. 8836896, nov. 2008.
- SANTORO, M. et al. Drug-resistance development differs between HIV-1-infected patients failing first-line antiretroviral therapy containing nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors with and without thymidine analogues: RTI resistance at first-line failure. **HIV Medicine**, v. 14, n. 9, p. 5716577, out. 2013.
- SCHILLER, D. S.; YOUSSEF-BESSLER, M. Etravirine: a second-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) active against NNRTI-resistant strains of HIV. **Clinical therapeutics**, v. 31, n. 4, p. 6926704, abr. 2009.
- SIGALOFF, K. C. E. et al. Unnecessary Antiretroviral Treatment Switches and Accumulation of HIV Resistance Mutations; Two Arguments for Viral Load Monitoring in Africa: **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 58, n. 1, p. 23631, set. 2011.
- SIGALOFF, K. C. E. et al. Accumulation of HIV drug resistance mutations in patients failing first-line antiretroviral treatment in South Africa. **AIDS research and human retroviruses**, v. 28, n. 2, p. 1716175, fev. 2012.

- SOUZA-JR, P. R. B.; SZWARCOWALD, C. L.; CASTILHO, E. A. Delay in introducing antiretroviral therapy in patients infected by HIV in Brazil, 2003-2006. **Clinics (São Paulo, Brazil)**, v. 62, n. 5, p. 5796584, out. 2007.
- STONE, C. et al. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase Mutation Selection during In Vitro Exposure to Tenofovir Alone or Combined with Abacavir or Lamivudine. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 4, p. 141361415, 26 mar. 2004.
- TORRES, T. S. et al. Aging with HIV: an overview of an urban cohort in Rio de Janeiro (Brazil) across decades of life. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. 3246331, maio 2013.
- TROTTA, M. P. et al. Clinical and genotypic correlates of mutation K65R in HIV-infected patients failing regimens not including tenofovir. **Journal of Medical Virology**, v. 78, n. 5, p. 5356541, maio 2006.
- TUBOI, S. H. et al. Predictors of virologic failure in HIV-1-infected patients starting highly active antiretroviral therapy in Porto Alegre, Brazil. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 40, n. 3, p. 3246328, 1 nov. 2005.
- UNAIDS. **Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013**. [s.l.: s.n.]. Disponível em:
<http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf>. Acesso em: 27 out. 2013.
- VAN ZYL, G. U. et al. Antiretroviral resistance patterns and factors associated with resistance in adult patients failing NNRTI-based regimens in the Western Cape, South Africa. **Journal of medical virology**, v. 83, n. 10, p. 176461769, out. 2011.
- VAN ZYL, G. U. et al. Trends in Genotypic HIV-1 Antiretroviral Resistance between 2006 and 2012 in South African Patients Receiving First- and Second-Line Antiretroviral Treatment Regimens. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. e67188, 26 jun. 2013.
- VINGERHOETS J, P. M. **Impact of baseline NNRTI mutations on the virological response to TMC 125 (etravirina;ETR) in the DUET-1 and DUET-2 Phase III clinical trials**. In: 11TH EUROPEAN AIDS CONFERENCE. Madrid, Espanha: Out -27 2007
- VINGERHOETS, J. et al. Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies. **AIDS (London, England)**, v. 24, n. 4, p. 5036514, 20 fev. 2010.
- VINGERHOETS, J. et al. Similar predictions of etravirine sensitivity regardless of genotypic testing method used: comparison of available scoring systems. **Antiviral Therapy**, v. 17, n. 8, p. 157161579, 2012.
- VON WYL, V. et al. Incidence of HIV-1 drug resistance among antiretroviral treatment-naive individuals starting modern therapy combinations. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 54, n. 1, p. 1316140, 1 jan. 2012.

WADONDA-KABONDO, N. et al. A Retrospective Survey of HIV Drug Resistance Among Patients 1 Year After Initiation of Antiretroviral Therapy at 4 Clinics in Malawi. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. suppl 4, p. S3556S361, 27 abr. 2012.

WALLIS, C. L. et al. Varied Patterns of HIV-1 Drug Resistance on Failing First-Line Antiretroviral Therapy in South Africa: **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 53, n. 4, p. 4806484, abr. 2010.

WALLIS, C. L. et al. Protease Inhibitor Resistance Is Uncommon in HIV-1 Subtype C Infected Patients on Failing Second-Line Lopinavir/r-Containing Antiretroviral Therapy in South Africa. **AIDS research and treatment**, v. 2011, p. 769627, 2011a.

WALLIS, C. L. et al. Low rates of nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance in a well-monitored cohort in South Africa on antiretroviral therapy. **Antiviral Therapy**, v. 17, n. 2, p. 3136320, 2011b.

WALMSLEY, S. et al. Lopinavir-ritonavir versus nelfinavir for the initial treatment of HIV infection. **The New England journal of medicine**, v. 346, n. 26, p. 203962046, 27 jun. 2002.

WALMSLEY, S. et al. Gemini: A Noninferiority Study of Saquinavir/Ritonavir Versus Lopinavir/Ritonavir as Initial HIV-1 Therapy in Adults: **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 50, n. 4, p. 3676374, abr. 2009.

ZARAGOZA-MACIAS, E. et al. Predictors of Success with Highly Active Antiretroviral Therapy in an Antiretroviral-Naive Urban Population. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 26, n. 2, p. 1336138, fev. 2010.

