



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MALY DE ALBUQUERQUE

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA GENOTÍPICA DO
HIV-1 AOS ANTIRRETROVIRAIS EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES EM FALHA TERAPÊUTICA EM GOIÁS, NO
PERÍODO DE 2003 A 2015**



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ Dissertação ☐ Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

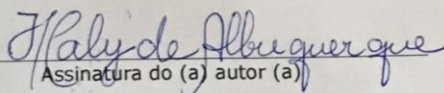
Nome completo do autor: Maly de Albuquerque

Título do trabalho: AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA GENOTÍPICA DO HIV-1 AOS ANTIRRETROVIRAIS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES EM FALHA TERAPÊUTICA EM GOIÁS, NO PERÍODO DE 2003 A 2015

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do (a) autor (a)

Data: 09/01/2014

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA GENOTÍPICA DO
HIV-1 AOS ANTIRRETROVIRAIS EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES EM FALHA TERAPÊUTICA EM GOIÁS, NO
PERÍODO DE 2003 A 2015**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade Federal de Goiás
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas
da Costa

Co-orientador: Prof. Dr. João Alves de
Araújo Filho

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Albuquerque, Maly

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA GENOTÍPICA DO HIV
1 AOS ANTIRRETROVIRAIS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES EM
FALHA TERAPÊUTICA EM GOIÁS, NO PERÍODO DE 2003 A 2015
[manuscrito] / Maly Albuquerque . - 2016.
CLXX, 170 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa; co
orientador Dr. João Alves de Araújo Filho.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás,
Faculdade de Medicina (FM), Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, tabelas, algoritmos, lista de figuras, lista de tabelas.

1. HIV. 2. Genotipagem. 3. Resistência. 4. Antirretroviral. I.
Sucasas da Costa, Paulo Sérgio, orient. II. Título.

CDU 616-022

Ata do Exame de Qualificação de Mestrado realizado por **Maly de Albuquerque**. Aos **vinte cinco dias do mês de outubro do ano de 2016**, às 10:30 horas, reuniu-se na **Faculdade de Medicina/UFG** a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao julgamento do Exame de Qualificação de Mestrado, intitulada: **"AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA GENOTÍPICA DO HIV-1 AOS ANTIRRETROVIRAIS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES EM FALHA TERAPÊUTICA EM GOIÁS, NO PERÍODO DE 2003 A 2015"**, como parte de requisitos necessários à obtenção do **título de Mestre**, área de concentração **Dinâmica do Processo Saúde-Doença**. O Presidente da Comissão julgadora, **Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa**, iniciando os trabalhos concedeu a palavra a candidata, para exposição em até **50 minutos** do seu trabalho. A seguir, o senhor presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os quais passaram a arguir a candidata durante o prazo máximo de 30 minutos, assegurando-se a mesma igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando a candidata aprovada ou reprovada.

Banca Examinadora

Aprovado(a)/Reprovado(a)

Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa - Presidente
Prof. Dr. Solomar Martins Marques - Membro
Prof.^a. Dr.^a. Mariane Martins de Araújo Stefani - Membro
Prof.^a. Dr.^a. Maria Ivone Oliveira Pinto Vilela - Suplente

Aprovado
Aprovado
Aprovado

Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou a candidata **Maly de Albuquerque** Habilitada (X) Não habilitada (). Nada mais havendo a tratar, eu **Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa**, lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme foi por todos assinada.

Assinatura

Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa - Presidente
Prof. Dr. Solomar Martins Marques - Membro
Prof.^a. Dr.^a. Mariane Martins de Araújo Stefani - Membro
Prof.^a. Dr.^a. Maria Ivone Oliveira Pinto Vilela - Suplente

Paulo Sérgio Sucasas da Costa
Martins Marques
Mariane Martins de Araújo Stefani

A banca examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:

Maly de Albuquerque
Maly de Albuquerque

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: Maly de Albuquerque

Orientador: Paulo Sérgio Sucasas da Costa

Co-Orientador: João Alves de Araújo Filho

Membros:

1. Prof. Dr. Paulo Sergio Sucasas da Costa

2. Prof. Dr. Solomar Martins Marques

3. Prof^a. Dra. Marilia Dalva Turchi

Suplentes

1. Prof^a. Dra. Maria Ivone Oliveira Pinto Vilela

Data: 20/12/2016

Dedico este trabalho a

Todas as pessoas ao redor do mundo que se esforçaram para melhorar a vida das crianças e de seus familiares que estão enfrentando o desafio da infecção pelo HIV.

SINCEROS AGRADECIMENTOS

Ao professor Paulo Sérgio Sucasas da Costa, pela orientação do Mestrado, agradeço a oportunidade de participação em seu grupo de pesquisa. Agradeço pela confiança depositada na execução do projeto e pela valiosa orientação, que muito contribuíram para minha formação profissional;

Ao professor João Alves de Araújo Filho, agradeço pela co-orientação e conselhos importantes para a melhoria desse trabalho;

Aos colegas do Comitê de Terapia Antirretroviral do Estado de Goiás, Dr. Boaventura Braz de Queiroz, Camilla M. da S. Bueno, Dr^a Ledice I. de A. Pereira, Dr^a Luciana O. Barreto,, Dr. Luiz Carlos Silva Souza, Symone Coelho G. Sirqueira e Viviane de Cássia T. Martins, agradeço pelo compartilhamento do conhecimento e de informações valiosas sobre tratamento antirretroviral e suas experiências profissionais;

À Marla Afonso C. Leobas, funcionária da biblioteca do Hospital de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad (HDT), agradeço pela presteza e disposição no fornecimento dos artigos, meu carinho;

Aos funcionários do DEAM, HDT, na pessoa da Aparecida da Silva Gonçalves, responsável pelo arquivo, agradeço pela contribuição essencial no recrutamento dos prontuários e pela disponibilização de espaço para a coleta dos dados;

Ao meu caríssimo esposo, Gezer Gonçalves Moura, pela insistência e incentivo na realização deste projeto, e ao meu amado filho, Heber Albuquerque Gonçalves, pela sua compreensão;

Aos meus pais, Joaquim P. de Albuquerque e Catarina Barcelos Albuquerque, aos meus irmãos, Sara Albuquerque Moura, Ester Albuquerque, Esli Albuquerque, Eude

Albuquerque, Rachel Albuquerque, Levi Barcelos de Albuquerque, Mirma Barcelos de Albuquerque, Rute Barcelos de Albuquerque, Samuel Barcelos de Albuquerque e Maeli Barcelos de Albuquerque, agradeço pelo exemplo e incentivo constantes;

Ao Hospital das Clínicas e HDT, por me proporcionarem a vivência prática da medicina, onde posso ensinar e aprender a arte do atendimento e assistência;

Aos infectologistas, parabéns pela busca contínua do conhecimento científico em prol do tratamento de doenças negligenciadas, aos futuros médicos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E ILUSTRAÇÕES.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XII
RESUMO	XVIII
ABSTRACT.....	XX
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 EPIDEMIOLOGIA DA AIDS	1
1.2 ESTRUTURA GENÔMICA E CICLO REPLICATIVO DO HIV	2
1.3 VARIABILIDADE GENÉTICA DO HIV	7
1.4 FISIOPATOGENIA E HISTÓRIA NATURAL DA DOENÇA.....	9
1.4 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL	15
1.5 RESISTÊNCIA ANTIRRETROVIRAL E TESTE DE RESISTÊNCIA.....	32
1.7 MECANISMO DE RESISTÊNCIA DO HIV	38
1.8 TESTES DE RESISTÊNCIA	57
1.9 SUBTIPOS DE VÍRUS NÃO-B	67
1.10 RESISTÊNCIA TRANSMITIDA.....	69
1.11 FALHA TERAPÊUTICA ANTIRRETROVIRAL AO ESQUEMA DE PRIMEIRA LINHA	70
1.12 TERAPIA DE RESGATE PARA ESQUEMAS DE SEGUNDA LINHA E RESISTÊNCIA MÚLTIPLA AOS ARV	73
2 JUSTIFICATIVA.....	79
3 OBJETIVOS.....	80
3.1 OBJETIVO GERAL	80
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	80
4 MÉTODOS.....	81
4.1 MODELO DO ESTUDO	81
4.2 POPULAÇÃO E AMOSTRAGEM	81
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	82
4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	83
4.5 TESTE DE GENOTIPAGEM.....	83
4.6 CLASSIFICAÇÃO CLÍNICA E IMUNOLÓGICA	85
4.7 CONTAGEM DE LINFÓCITOS T-CD4 E PCR RNA HIV-1	85
4.8 HISTÓRICO DE TARV E TESTE GENOTÍPICO PRÉVIO	86
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	87

4.10	PROCEDIMENTOS ÉTICOS	87
5	RESULTADOS	88
5.1	CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO DO ESTUDO	88
5.2	RESULTADOS DOS TESTES DE GENOTIPAGEM	93
6	DISCUSSÃO.....	106
7	CONCLUSÕES.....	118
8	LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	119
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS	120
10	REFERÊNCIAS.....	122
	ANEXOS	138
	ANEXO A- PARECER DO CEP HC/UFG.....	138
	ANEXO B – CLASSIFICAÇÃO CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC-1994.	139
	ANEXO C – CLASSIFICAÇÃO DE TANNER (SMR)	143
	ANEXO D - WHO CLINICAL STAGING OF HIV DISEASE IN ADULTS, ADOLESCENTS AND CHILDREN.....	144
	ANEXO E – STANFORD HIV DRUG RESISTANCE DATABASE, 2015	145
	ANEXO F - ALGORITMO REDE NACIONAL DE GENOTIPAGEM -RENAGENO 2012 (VERSÃO 12)	147
	APÊNDICE B - CLASSES DE DROGAS ANTIRRETROVIRAIS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES.	154

LISTA DE TABELAS E ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. ESTRUTURA DO HIV-1.	3
FIGURA 2. ESQUEMA DO GENOMA DO HIV-1.....	5
FIGURA 3- CICLO REPLICATIVO DO HIV.....	6
FIGURA 4. INFECÇÃO PELO HIV E AIDS.....	14
FIGURA 5 -INIBIDORES DA TRANSCRIPTASE REVERSA ANÁLOGOS AOS NUCLEOS(T)ÍDEOS E A ESTRUTURA DA TRANSCRIPTASE REVERSA DO HIV-1 NO COMPLEXO DO MOLDE/ PRIMER DE DNA COM A CADEIA TERMINAL COM DDAMP E DTTP.....	25
FIGURA 6 -INIBIDORES DA TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO ANÁLOGOS AOS NUCLEOSÍDEOS (ITRNN) E A ESTRUTURA DA TRANSCRIPTASE REVERSA (TR) DO HIV-1 COM A ETRAVIRINA.....	26
FIGURA 7- INIBIDORES DA PROTEASE E O COMPLEXO DA ESTRUTURA EM CRISTAL DA PROTEASE DO HIV-1 COM O ATAZANAVIR.....	27
FIGURA 8- INIBIDORES DA INTEGRASE E A ESTRUTURA DO COMPLEXO DSDNA HUMANO E O CRISTAL DO PROTÓTIPO INTEGRASE DO VÍRUS (COMO UM MODELO DO HIV-1) E O RALTEGRAVIR.	28
FIGURA 9- SUMÁRIO DA ENTRADA DO HIV NA CÉLULA.	29
FIGURA 10. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA BARREIRA (BG) PARA RESISTÊNCIA E POTÊNCIA DE ARVs SELECIONADOS.	34
FIGURA 11. POTÊNCIA DE DIVERSOS ARVs.....	35
FIGURA 12. NOMENCLATURA DAS MUTAÇÕES DO HIV FRENTE AOS ARV..	39
FIGURA 13. RESISTÊNCIA PELA INTERFERÊNCIA COM A INCORPORAÇÃO DOS ANÁLOGOS DE NUCLEOSÍDEOS..	40
FIGURA 14. RESISTÊNCIA AOS ANÁLOGOS DE NUCLEOSÍDEOS POR EXCISÃO MEDIADA PELO ATP. ...	41
FIGURA 15. MECANISMO DE RESISTÊNCIA DO HIV AOS INIBIDORES DA TRANSCRIPTASE NÃO ANÁLOGOS DE NUCLEOSÍDEOS (ITRNNs).....	43
FIGURA 16. LISTA DE MUTAÇÕES DOS INIBIDORES DA TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO ANÁLOGOS AOS NUCLEOSÍDEOS (ITRNN) COM RESPOSTA REDUZIDA PARA ETRAVIRINA (ETR).	44
FIGURA 17. VISTA DETALHADA DE LIGAÇÃO DO INIBIDOR DE PROTEASE.	45
FIGURA 18. VIA MUTACIONAL: GRUPO DE MUTAÇÕES ESPECÍFICAS , SELECIONADAS PELA PRESSÃO SELETIVA DE UM ANTIRRETROVIRAL.	50
FIGURA 19. VIAS MUTACIONAIS DOS ANÁLOGOS DA TIMIDINA..	52
FIGURA 20. O IMPACTO DE TAM NA SUSCETIBILIDADE FENOTÍPICA DOS ITRNs, NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DA MUTAÇÃO M184V.....	53

FIGURA 21 – VIAS MUTACIONAIS DOS INIBIDORES NÃO NUCLEOSÍDEOS DA TRANSCRIPTASE REVERSA.	54
FIGURA 22. VIAS MUTACIONAIS DOS INIBIDORES DE PROTEASE (NELFINAVIR E ATAZANAZIR).....	54
FIGURA 23. VIAS MUTACIONAIS DOS INIBIDORES DE PROTEASE (LOPINAVIR E FOSAMPRENAVIR).	55
FIGURA 24. VIAS MUTACIONAIS DO INIBIDOR DE INTEGRASSE (RALTEGRAVIR).....	56
FIGURA 25. VARIAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO OU (FOLD CHANGE).....	59
FIGURA 26. DEFINIÇÃO DE CUT-OFFS CLÍNICOS, BASEADA NA PERDA DO EFEITO DO ARV A PARTIR DA ANÁLISE DE ESTUDOS CLÍNICOS.....	60
FIGURA 27. FENOTIPAGEM VIRTUAL. LAUDO DE FENOTIPAGEM VIRTUAL QUE APRESENTA UMA LISTA DE MUTAÇÕES DETECTADAS NA GENOTIPAGEM, O FOLD CHANGE PARA CADA ARV CUT-OFF CLÍNICO E A INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO COM RESPOSTA MÁXIMA, RESPOSTA REDUZIDA OU MÍNIMA.	61
FIGURA 28. O TESTE GENOTÍPICO É REALIZADO IDENTIFICANDO UM PADRÃO DE MUTAÇÃO DO VÍRUS HIV OBTIDO DE UMA AMOSTRA DO PLASMA DO INDIVÍDUO.	64
FIGURA 29. DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES NO ESTUDO	82
FIGURA 30. FLUXOGRAMA DA REALIZAÇÃO DO TESTE DE GENOTIPAGEM DO HIV..	84
FIGURA 31. BOX-PLOTS DA CARGA VIRAL PRÉ E PÓS TRATAMENTO ANTIRETROVIRAL DIRECIONADO PELO TESTE DE GENOTIPAGEM,	92
FIGURA 32. BLOX-PLOT DA CONTAGEM DE CÉLULAS CD4 PRÉ E PÓS TRATAMENTO ANTIRETROVIRAL DIRECIONADO PELO TESTE DE GENOTIPAGEM.....	93
FIGURA 33. PADRÃO DE MUTAÇÕES DE RESISTÊNCIA AOS INIBIDORES NUCLEOSÍDEOS DA TRANSCRIPTASE REVERSA.	94
FIGURA 34. PADRÃO DE MUTAÇÕES DE RESISTÊNCIA AOS INIBIDORES NÃO NUCLEOSÍDEOS DA TRANSCRIPTASE REVERSA.	94
FIGURA 35. PADRÃO DE MUTAÇÕES DE RESISTÊNCIA AOS INIBIDORES DA PROTEASE.	95
FIGURA 36. SUSCETIBILIDADE DAS DROGAS ARVs EM 65 CRIANÇAS E ADOLESCENTES INFECTADAS PELO HIV-1 COM RESISTÊNCIA ÀS CLASSES DE ARVs DETECTADAS NA SEQUÊNCIA POL E PERFIL DE RESISTÊNCIA.....	96
FIGURA 37. ACÚMULO DE MUTAÇÕES DE RESISTÊNCIA CONFORME CLASSE DE ARV E ASSOCIAÇÃO DE DE CLASSES DE ARVs.....	104
TABELA 1. HISTÓRIA NOS AVANÇOS DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL (1987-2015).....	17
TABELA 2 -ESQUEMAS RECOMENDADOS PARA O INÍCIO DE TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES- DHHS 2016.....	30
TABELA 3 - REGIMES RECOMENDADOS PARA O TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL INICIAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES.....	31

TABELA 4. AMINOÁCIDOS COM SEUS CÓDIGOS DE TRÊS OU UMA LETRA E AS TRINCAS DE NUCLEOTÍDEOS QUE OS CODIFICAM.....	63
TABELA 5 - PERFIL DE RESISTÊNCIA GENOTÍPICA ASSOCIADA COM 2 ITRNS UTILIZADOS EM TARV INICIAL: IMPLICAÇÕES PARA OPÇÕES DE ITRNS PARA TARV DE SEGUNDA LINHA.	72
TABELA 6. PERFIL DE RESISTÊNCIA GENOTÍPICA ASSOCIADA COM A FALHA DE TARV INICIAL: IMPLICAÇÕES PARA ESCOLHA DE TARV DE SEGUNDA LINHA.	73
TABELA 7. ANTIRRETROVIRAIS ATUALMENTE LICENCIADOS PELO FDA, PARA USO EM ADULTOS E CRIANÇAS	76
TABELA 8 - CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DAS CRIANÇAS E ADOLESCENTES INFECTADAS PELO HIV, AO DIAGNÓSTICO	89
TABELA 9- CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS E ESQUEMAS ARV ANTES DO TESTE DE GENOTIPAGEM ATUAL.....	90
TABELA 10 – MUTAÇÃO DE RESISTÊNCIA POR CLASSES DE ARV.	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC	2',3' -dideoxi,3' -tiacitidina (lamivudina)
%	Porcentagem
μL	microlitro
ABC	abacavir
A	Adenina
AIDS	<i>acquired immunodeficiency syndrome</i>
APOBEC3	<i>apolipoprotein B mRNA-editing catalytic polipeptide-like 3</i>
ART	antiretroviral therapy
ARV	antiretroviral (drug)
ATP	Trifosfato de adenosina (adenosine triphosphate)
ATV	atazanavir
AUC	area under the curve
AZT	azidothymidine (also known as zidovudine) azitotimidina
cARV	combined Antiretroviral Therapy
BCO	<i>Cut-off biológico (biologic cut-off)</i>
CCO	<i>Cut-off clínico (clinic cut-off)</i>
CCO1	<i>Cut-off inferior</i>
CCO2	<i>Cut-off superior</i>
CCR5 (R5)	Receptor C-C de quimiocinas do tipo 5 (<i>CC-chemokine receptor 5</i>)
CD	Cluster of differentiation
CDC	United States Centers for Disease Control and Prevention
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CHER	Children HIV infected Early Antiretroviral
COBI	cobicistat
Cons	consenso, do tipo selvagem
CRF	forma recombinante circulante

CTLs	<i>Cytotoxic T Lymphocytes</i>
CV	Carga viral
CXCR4 (X4)	Receptor C-X-C de quimiocinas do tipo 4 (<i>CXC-chemokine receptor 4</i>)
CYP450	citocromo p450
d4T	Stavudine estavudina
DBS	dried blood spot (specimen)
ddC	zalcitabina
<i>del</i>	deleção
ddI	2' ,3' -Didesoxiinosina (didanosine)
DHHS	<i>Department of Health Human Services</i>
DLV	delavirdina
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês: <i>deoxyribonucleic acid</i>)
dNTP	Desoxinucleotídeos trifosfatos (do inglês: <i>deoxynucleoside triphosphates</i>)
DRM	<i>Drug resistance mutation</i>
DTG	dolutegravir
DRV	darunavir
EACS	European AIDS Clinical Society
EFV	efavirenz
ENV	Gene- Envelope
ENF	enfuvirtida ou T-20
ETR	etravirina
EVG	elvitegravir
FC	variação de concentração (<i>fold change</i>)
FDC	fixed-dose combination
FPV	FPV fosamprenavir
FTC	emtricitabine
G	Guanina

Gag	Gene- antígeno de grupo específico (do inglês, <i>Group specific antigen</i>)
gp	glicoproteína
GALT	<i>Gut-associated lymphoid tissue</i>
GSS	score de suscetibilidade genotípica (<i>Genotypic susceptibility score</i>)
HAART	terapia antirretroviral altamente eficaz (do inglês <i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i>)
HDT	Hospital de Doenças Tropicais (HDT/HAA : Hospital Anuar Aud)
HIV	vírus da imunodeficiência humana (do inglês, human immunodeficiency virus)
HIV-1	vírus da imunodeficiência humana tipo 1
HIV-2	vírus da imunodeficiência humana tipo 2
HIV-DR	HIV drug resistance
HLA	human leukocyte antigen
HPTN	HIV prevention trials network
HR	(<i>heptad-repeat</i>)
IAS	Sociedade Internacional da Aids dos Estados Unidos da América (do inglês, International AIDS Society)
IAS-USA	Sociedade Internacional da Aids dos Estados Unidos da América
IC	Intervalo de Confiança
IC50	Concentração inibitória de 50% das cepas testadas
IDV	indinavir
IN	Inibidor de integrase (do inglês: <i>integrase inhibitor</i>)
<i>Ins</i>	inserção
INSTI	integrase strand transfer inhibitor (also known as integrase inhibitor)
IP	Inibidor da protease
ITRN	Inibidor de transcriptase reversa análogo de nucleosídeo
ITRNN	Inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo
kb	Kilobases

kDa	Kilodaltons
LACEN/GO	Laboratório Central de Saúde Pública de Goiás Dr. Giovanni Cysneiros
LPV	lopinavir
LT-CD4+	Linfócitos T- CD4+
LTRs	repetições terminais longas (do inglês, <i>Long Terminal Repeat</i>)
M	metionina
MA	Matriz (matrix)
MDR	Multidroga resistência
mM	milimol
mm ³	Milímetro cúbico
MTCT	Mother-to-child-transmission
MVC	maraviroque
mL	Mililitro
mm ³	milímetro cúbico
mRNA	RNA mensageiro
MS	Ministério da Saúde
NAT	<i>nucleic acid test</i>
NC	Nucleocapsídeo
Nef	<i>Negative regulatory factor</i>
NFV	nelfinavir
nm	Nanômetros
NNRTI	<i>non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor</i>
NRTI	nucleoside reverse-transcriptase inhibitor
NVP	nevirapina
OMS	Organização Mundial de Saúde
PACTG	Pediatric AIDS Clinical Trials Group
PBMCs	<i>peripheral blood mononuclear cells</i>

PCDT	Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para manejo da Infecção pelo HIV
PCP	<i>Pneumocystis jirovecii</i> pneumonia
pb	pares de base
PCR	reação em cadeia pela polimerase (do inglês, polymerase chain reaction)
PENTA	Paediatric European Network for Treatment of AIDS
PI	protease inhibitor
pK/pD	pharmacokinetic/pharmacodynamics
PMTCT	prevention of mother-to-child transmission
Pol	Polimerase, <i>polymerase gene</i>
PR	Protease
ORFs	Sequências de leitura aberta, <i>open reading frames</i>
RAL	raltegravir
RENAGENO	Rede Nacional de Genotipagem
Rev	<i>Regulator of virion protein expression</i>
RNA	Ácido ribonucleico, <i>ribonucleic acid</i>)
RNase-H	Ribonuclease H
RPV	rilpivirina
RT	Transcriptase reversa, <i>reverse transcriptase</i>)
RT-PCR	transcrição reversa por reação em cadeia pela polimerase
RTV	ritonavir
/r	<i>low-dose ritonavir</i>
SAMHD 1	SAM and HD domain-containing protein 1
SIV	virus da imunodeficiência símia, <i>Simian immunodeficiency virus</i>
SQV	saquinavir
SPSS	do inglês, <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
ssRNA	<i>single-strand RNA</i>
sdNVP	<i>single dose of NVP</i>

SUS	Sistema Único de Saúde
T	Timina
T-20	enfuvirtida ou ENF
TAF	tenofovir alafenamide
TAM	mutações aos análogos de timidina , <i>Thymidine Analogue Mutation</i>
TAM 1	via mutacional TAM 1
TAM 2	via mutacional TAM 2
Tat	<i>Trans-activator of transcription</i>
TARVc	Terapia antirretroviral combinada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDF	tenofovir disoproxil fumarate
TR	Transcriptase Reversa
TPV	tipranavir
UFG	Universidade Federal de Goiás
UNAIDS	UNAIDS Joint United Nations Programme on HIV/AIDS
US FDA	United States Food and Drug Administration
V	valina
Vif	<i>Virion infective factor</i>
Vpr	<i>Viral protein r</i>
Vpu	<i>Viral protein u</i>
WHO	World Health Organization
X4R5	co-receptor com duplo tropismo ou DM (<i>dual mixed</i>)
ZDV	zidovudina (ou AZT)

RESUMO

Objetivo: Analisar, por meio do teste genotípico, o perfil de mutações aos antirretrovirais em crianças e adolescentes infectados pelo HIV-1 com falha terapêutica,

Métodos: Trata-se de um estudo descritivo, de uma coorte retrospectiva de crianças e adolescentes infectados pelo HIV, diagnosticadas entre 1992 e 2013. Foi analisado o padrão de mutações de resistência aos antirretrovirais (ARV) em 65 crianças e adolescentes, em falha terapêutica e acompanhados no ambulatório de infectologia pediátrica do HDT desde o diagnóstico. Foram avaliados 92 testes de resistência genotípica realizados no período de 2003 a 2015. Os testes genotípicos foram coletados no Laboratório Central (LACEN) e executados pelo laboratório da RENAGENO, através do Programa Nacional DST e Aids do Ministério da Saúde. Para a interpretação de resistência aos ARV foram utilizados o algoritmo Brasileiro (RENAGENO - Algoritmo versão 13, 2015) e o algoritmo The Stanford University HIV Drug Resistance Database (Stanford HIV drug resistance database, 2015). O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética do HC/UFG e do HDT/SES. A análise estatística foi realizada com os softwares Microsoft Excel versão 2010 e Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®) 20.0 para Windows. Análises descritivas e inferenciais (testes t-Student e U-Mann-Whitney) foram realizadas, considerando o nível de significância em 5%.

Resultados: A amostra foi constituída por 65 crianças e adolescentes, com mediana de idade ao diagnóstico de 29,2 meses (variação de 2 meses a 120 meses); a maioria era do sexo feminino (36/65). Um total de 64 (98,5%) pacientes adquiriu a infecção por transmissão vertical. Aproximadamente 55% dos pacientes apresentavam imunossupressão grave ao diagnóstico de HIV, e 33% pertenciam a classe B ou C, conforme a classificação clínica e imunológica do CDC-1994. A mediana de contagem basal de linfócitos CD4 foi 921 células/mm³. A carga viral do HIV, antes do início da TARV, demonstrou mediana de 678.998 cópias/mL (log 5,83). No momento da coleta do teste de genotipagem, o valor do CD4 variou de 1 a 2940 células/mm³, com mediana de 608 células/mm³, sendo que a carga viral teve mediana de 40.548 cópias/mL (log 4,60). Foram encontradas mais frequentemente mutações na classe de ITRN (98,46%), seguida pela ITRNN (75,4%) e IP (44,6%). As mutações mais frequentes na classe de ITRN foram nos códons T215 (83,1%), com prevalência da T215YF (69,2%), M184V (69,3%), M41L (52,3%). As mutações mais observadas na classe dos ITRNN foram

K103N/S (40,0%), 190A/S (30,8%), 101E/P/Q (23,1%). As mutações associadas à resistência na protease ocorreram principalmente nos códons 54, 82 e 46, apresentando taxas de 35,4%, 32,3% e 27,7%, respectivamente. A resistência a mais de uma classe ocorreu em 41,5%, 12,3% e 35,4% com a associação de ITRN + ITRNN, ITRN + IP/r e nas três classes ITRN + ITRNN + IP, respectivamente. Após a terapia de resgate, observou-se que aproximadamente 90% dos pacientes analisados atingiram supressão viral, com níveis de RNA viral do HIV abaixo do limites de detecção (<50 ou 40 cópias) após 24 semanas da mudança do esquema antirretroviral combinado (cARV) ($P<0,001$). A resposta imunológica resultou em benefício, com elevação na contagem de células T CD4+ ($P<0,001$).

Conclusões: Este estudo forneceu informações relevantes nos resultados do teste genotípico de resistência após falha de terapia ARV a longo prazo em crianças e adolescentes infectados perinatalmente pelo HIV. Houve elevada taxa de mutação em todas as classes de antirretrovirais analisadas. A terapia de resgate guiada pelo teste genotípico proporcionou elevadas taxas de supressão viral. Dessa forma, a realização do teste genotípico reforça a possibilidade de compor adequadamente um regime ARV, com alta barreira genética, utilizando as novas drogas e novas classes de drogas ARV, para evitar a falha terapêutica após o resgate e prevenir acúmulo de outras mutações de resistência às drogas.

Palavras-chave: HIV; resistência a medicamentos; genótipos; criança; adolescente; antirretrovirais.

ABSTRACT

Objective: The aims of this study were to detect and identify drug resistance mutations through genotyping related to antiretroviral (ARV) resistance in children and adolescents infected with HIV-1 and with therapeutic failure.

Methods: This was a descriptive study based on a retrospective cohort of HIV-infected children and adolescents diagnosed between 1992 and 2013. The pattern of ARV resistance mutations was analyzed in 65 children and adolescents, in therapeutic failure and followed up in a reference pediatric infectious disease clinic since diagnosis. A total of 92 genotypic resistance tests were carried out from 2003 to 2015. Genotypic tests were collected at the Central Laboratory (LACEN) and performed by the RENAGENO laboratory. For the interpretation of resistance the ARV algorithm was used (RENAGENO's algorithm version 13th, 2015) and the Stanford's algorithm (Stanford HIV drug resistance database, 2015). The study protocol's was approved by the ethics committee of the HC / UFG and HDT / SES. Statistical analysis was performed with the software Microsoft Excel version 2010 and Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®) 20.0 for Windows. Descriptive and inferential analyzes (t-Student and U-Mann-Whitney tests) were performed, considering the level of significance at 5%.

Results: The sample consisted of 65 children and adolescents, with median age at diagnosis of 29.2 months (range from 2 months to 120 months); the majority was female (36/65). A total of 64 (98.5%) patients acquired HIV vertical transmission. Approximately 55% of the patients presented with severe immunosuppression at diagnosis of HIV, and 33% belonged to class B or C, according to the CDC-1994 clinical and immunological classification. The median baseline CD4 lymphocyte count was 921 cells/mm³. HIV viral load, before starting HAART, showed a median of 678,998 copies (log 5.83). At the time of first genotyping, CD4 ranged from 1 to 2940 cells/mm³, with a median of 608 cells/mm³, with a median of 40,548 copies/mL (log 4,60). Most mutations were found in the NRTI class (98.5%), followed by NNRTI (75.4%) and PI (44.6%). The most frequent mutations in the NRTI class were T215 codons (83.1%), with prevalence of T215YF (69.2%), M184V (69.3%), and M41L (52.3%). The most observed mutations in the NNRTI class were K103N / S (40.0%), 190A / S (30.8%), 101E / P / Q (23.1%). Mutations associated with resistance in protease occurred mainly in codons 54, 82 and 46, with rates of 35.4%; 32.3%; 27.7%; respectively. Resistance to more than one class

occurred in 41.5%, 12.3% and 35.4% with the combination of NRTIs and NRTIs, ITRN + IP / r, and with the three NRTI + NRTI + IP classes respectively. After rescue therapy, approximately 90% of the patients analyzed had viral suppression, with HIV viral RNA levels below the detection limits (<50 or 40 copies) after 24 weeks of change in the combined antiretroviral regimen ($P < 0.001$). Immunological response resulted in benefit, with significant elevation in CD4 + T cell count ($P < 0.001$).

Conclusions: Our study provided relevant information on the results of the genotypic resistance test after failure of long-term ARV therapy in children and adolescents infected with HIV. There were high mutation rates in all antiretroviral classes tested. Rescue therapy guided by the genotypic test provided high rates of viral suppression. Thus, the genotype test emphasizes the possibility of adequately composing an ARV regimen, with a high genetic barrier, using the new drugs and new classes of ARV drugs, with the objective of avoiding the therapeutic failure after rescue and preventing the accumulation of other mutations related to drug resistance.

Key words: HIV; drug resistance; genotypes; child; adolescente; anti-Retroviral agentes.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia da Aids

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) é uma epidemia mundial. A aids (da sigla em inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*), fase avançada da infecção que teve os primeiros casos descritos em 1981, já atingiu milhões de pessoas em todos os continentes. Os países subdesenvolvidos sofrem as maiores consequências da infecção, especialmente nos aspectos sociais, econômicos e assistenciais. O Programa das Nações Unidas para HIV/aids (UNAIDS), estima que no final de 2014 haviam 36,9 milhões de pessoas vivendo com HIV/aids, sendo 2,6 milhões de crianças menores de 15 anos. Mais de 24 milhões de pessoas já morreram desde o início da epidemia (UNAIDS, 2015).

No Brasil, os primeiros adultos acometidos pela aids foram notificados em 1980, e a primeira criança em 1984. Até junho de 2015 foram notificados 798.366 casos de HIV/aids, sendo cerca de 3% (~ 20.000 casos) destes em crianças menores de 15 anos. Destaque relevante no crescimento de aids na faixa etária de 15 a 24 anos (BRASIL, MS, 2015).

O risco de transmissão do HIV difere conforme a categoria de exposição. São três as principais categorias de transmissão do HIV: a) heterossexual ou homossexual por relação sexual desprotegida; b) exposição a sangue e seus derivados (uso de drogas injetáveis ou transfusão de sangue); c) perinatal (gestação, parto ou aleitamento materno). A taxa de risco de transmissão por transfusão de sangue contaminado é superior a 90%. O risco por relação sexual desprotegida varia de zero a 3%, dependendo do tipo de exposição (sexo oral receptivo, penetração vaginal receptiva ou insertiva, penetração anal receptiva ou insertiva). Além disso, pode acontecer a transmissão ocupacional acidental em profissionais da área de saúde e através de transplante de órgãos (HIV RISK BEHAVIORS, CDC 2015).

Houve uma mudança no perfil epidemiológico mundial em relação ao gênero, que apresentava relação de 38 homens:1 mulher no início da pandemia e atualmente 1:1,3. Esta feminilização da infecção pelo HIV resultou em um aumento do risco da transmissão vertical, que no começo da epidemia era de até 40% (14-40%) (BRASIL, MS, 2015). Após a aplicação dos conhecimentos obtidos do Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 PACTG 076 (CONNOR *et al*, 1994), e adotadas a profilaxia com antirretroviral (ARV) durante a gestação e parto, o uso de ARV profilático para o recém-nascido e a contra-indicação do aleitamento

materno, houve redução de 70% com administração do AZT em monoterapia. Com o avanço das pesquisas, adotando terapia antirretroviral combinada (TARVc) durante a gestação, reduziu-se drasticamente a transmissão vertical do HIV para níveis próximos a zero em países desenvolvidos. A transmissão vertical responde por mais de 95% dos casos de infecção pelo HIV em crianças. A transmissão vertical pode ocorrer durante a gestação, principalmente próximo ao parto, no intraparto e após o parto, pelo aleitamento materno, com taxas de transmissão 20-25%, 35-50% e 25-45%, respectivamente, na ausência de TARVc (LUZURIAGA & MOFENSON, 2016).

Estudo multicêntrico brasileiro realizado nos anos 2000 a 2004, que avaliou 5.808 pares de mães – bebês, revelou taxa de transmissão vertical do HIV de 8,6% em 2000 e sua redução para 6,8% em 2004. Essas taxas variaram por região: Norte – 11,8%, Nordeste – 7,3%, Sudeste – 6,9%, Sul – 5,4% e Centro Oeste – 5,1%. As taxas de transmissão se associaram com vários fatores, entre eles o acesso ao acompanhamento pré-natal e uso de profilaxia antirretroviral para a mãe e o bebê, tipo de parto e aleitamento materno. Considerando-se o uso de terapia antirretroviral (TARV) para mães e bebês, observou-se taxa de transmissão vertical de 20,2% em mães que não usaram qualquer profilaxia. Entre as gestantes que usaram apenas AZT em monoterapia durante a gestação e parto, essa taxa caiu para 4,8%, enquanto que naquelas que utilizaram esquema de alta potência (HAART) a transmissão vertical foi reduzida para 1,4% (SUCCI et al, 2007; PCDT, 2014).

Alcântara et al conduziram um estudo em Goiânia, Goiás, no período de junho de 2008 a junho de 2010. Foram analisadas 142 gestantes infectadas pelo HIV, procedentes de Goiás e Mato Grosso do Sul. Os pares mães e filhos (142 mães e 149 filhos) foram prospectivamente acompanhados no Hospital de Doenças Tropicais de Goiânia por um período de um ano. A taxa de transmissão vertical encontrada foi de 2% (3/149) (ALCÂNTARA et al, 2012).

1.2 Estrutura Genômica e Ciclo Replicativo do HIV

O HIV foi inicialmente isolado em 1983 (BARRÉ-SINOUSSE *et al*, 1983; BARRÉ-SINOUSSE, 1996). É um retrovírus linfotrópico da família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Lentivirus*. Existem duas espécies identificadas na epidemia, o HIV-1 e o HIV-2. O HIV-2 teve isolamento descrito em 1986, por CLAVEL, na França (SHARP & HAHN, 2011). O HIV-1 tem origem nos chimpanzés (SIVcpz), é mais comum e responsável

pela infecção de milhões de pessoas no mundo. O HIV-2 tem origem em símios (SIVsmm), é encontrado principalmente no oeste da África, sua transmissão é menos eficaz e resulta em doença de curso mais indolente (MAARTENS et al, 2014).

Os retrovírus são partículas esféricas, envelopados, do tamanho aproximado de 120 nm (figura 1). O HIV contém duas cópias de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples, não complementares, de senso positivo, medindo cada fita RNA 9,8 Kilobase (Kb). As duas cópias de RNA estão localizadas em um *core* revestido por envelope de dupla camada fosfolipídica, onde estão inseridas 72 estruturas protuberantes, provenientes da glicoproteína precursora (gp160), formadas pela gp120 (trímero com localização externa da membrana) e pela gp41 (monômero transmembrana). A gp120 contém os sítios de ligação aos receptores celulares do hospedeiro. A gp120 apresenta cinco regiões diferentes intercaladas pelas regiões conservadas. Um dos epítomos variáveis, designado alça V3, é composta por esta alça que possui 35 aminoácidos unidos por pontes dissulfeto, localizado no fragmento da gp41 (ENGELMAN & CHEREPANOV, 2012)

As fitas de RNA são convertidas em dupla fita de ácido desoxirribonucleico (DNA) pela transcriptase reversa (TR), que tem alta propensão a erro viral, falha no reparo de cópia do DNA, fenômeno chamado de *proofreading*, o que gera isoladamente diversidade para mutações pontuais e recombinações intergenômicas (ABRAM et al,2010).

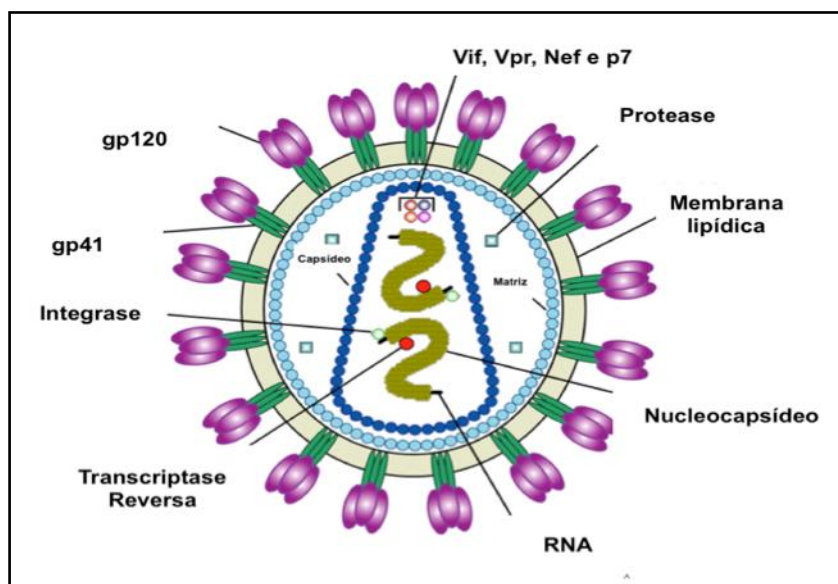


Figura 1. Estrutura do HIV-1. Na parte externa da membrana lipídica ou envelope estão destacadas as glicoproteínas (gp120 e gp41); envelope ou membrana; matriz protéica (p17); capsídeo (p24); nucleocapsídeo (p7); genoma viral (RNA); Integrase (p31); transcriptase reversa (p66/p51); Vif - viral infective factor, Vpr - viral protein R, Nef - negative regulatory factor. Adaptada: web.stanford.edu

A TR é um heterodímero formado de subunidades de 66/51 Kilodaltons (kDa), derivada da clivagem proteolítica do precursor Gag-Pol (p160) pela ação da enzima protease (PR) viral. A subunidade p66 é visualizada como estrutura semelhante à mão direita, com o sítio ativo na palma da mão e os subdomínios compostos pelos dedos. O domínio que funciona como polimerase liga-se ao domínio da função ribonuclease H (RNase-H), através do subdomínio de ligação ou conexão. A integrase (IN) é uma proteína de 33KDa formada por três domínios distintos: domínio N- terminal, que contém zinco; um outro domínio com função catalítica e mais um domínio C- terminal. A enzima da protease é uma aspártico-protease de 11kDa, formada por dois manômeros (ENGELMAN & CHEREPANOV, 2012).

O HIV é constituído por um genoma contendo aproximadamente 10.000 pares de bases, com sequências de leitura aberta (*open reading frames*- ORFs), que codificam várias proteínas virais. A estrutura genômica do HIV possui nove genes que codificam quinze proteínas virais, sendo três genes estruturais principais, denominados *gag*, *pol* e *env*, e seis genes não estruturais.(Figura 2). É cercado por duas longas sequências terminais repetidas (*Long Terminal Repeat*- LTRs). Estas LTRs, localizadas nas duas extremidades do genoma viral (3' e 5'), possuem sequências reguladoras da transcrição, que são sinalizadores do processo do RNA, sítios de empacotamento e de integração, mas não codificam nenhuma proteína viral. A terminação 5' inicia com o gene *gag*, que codifica as proteínas estruturais do *core* (matriz, capsídeo, nucleocapsídeo, p6). O gene *pol* codifica as enzimas integrase, protease e transcriptase reversa. O gene *env* codifica as glicoproteínas do envelope, gp41 e gp120. Os demais genes, *tat* e *rev*, codificam as proteínas regulatórias (Tat, Rev) e os genes *nef*, *vif*, *vpr* e *vpr* codificam suas proteínas acessórias (Nef, Vif, Vpr e Vpu/Vpx). Estas proteínas virais possuem múltiplas funções e interagem com várias proteínas humanas durante o ciclo de replicação viral (LI et al, 2015).

O ciclo viral do HIV, como demonstrado na figura 3, inicia com a ligação da gp120, glicoproteína do envelope viral, à molécula CD4, receptores CD4 encontrados na superfície de células suscetíveis: linfócitos T, monócitos, macrófagos, células dendríticas e da microglia. As células CD4 são os maiores alvos da infecção pelo HIV e os principais receptores de fusão e de entrada do HIV, mas existem outros fatores de ligação denominados de co-receptores. Após a ligação da gp120 o vírus é internalizado, perde seu envelope e produz cópias de DNA a partir do RNA, utilizando sua enzima TR. Esse processo ocorre dentro do citoplasma da célula do hospedeiro. A transcrição reversa é iniciada pelo *primer* de RNA transportador, ligado à extremidade 5' do RNA genômico. O complexo de transcrição inicia-se na extremidade 5' do RNA, depois salta para a terminação 3' do RNA e retorna copiando o restante do RNA viral,

completando a fita de DNA de polaridade negativa. Em seguida, o RNA viral é degradado pela ribonuclease H, uma subunidade da TR, com exceção de duas regiões resistentes, ricas em purinas, que serviram de *primers* para a formação da fita positiva. Esta forma ordenada de transcrição realizada pela TR ocorre em todos os retrovírus. Após a cópia de DNA, esta é transportada ao núcleo da célula e é integrada ao DNA celular do hospedeiro, através da enzima integrase, recebendo o nome de DNA pró-viral. O DNA pró-viral passa a fazer parte do genoma da célula hospedeira, replicando-se conjuntamente (MAARTENS et al, 2014).

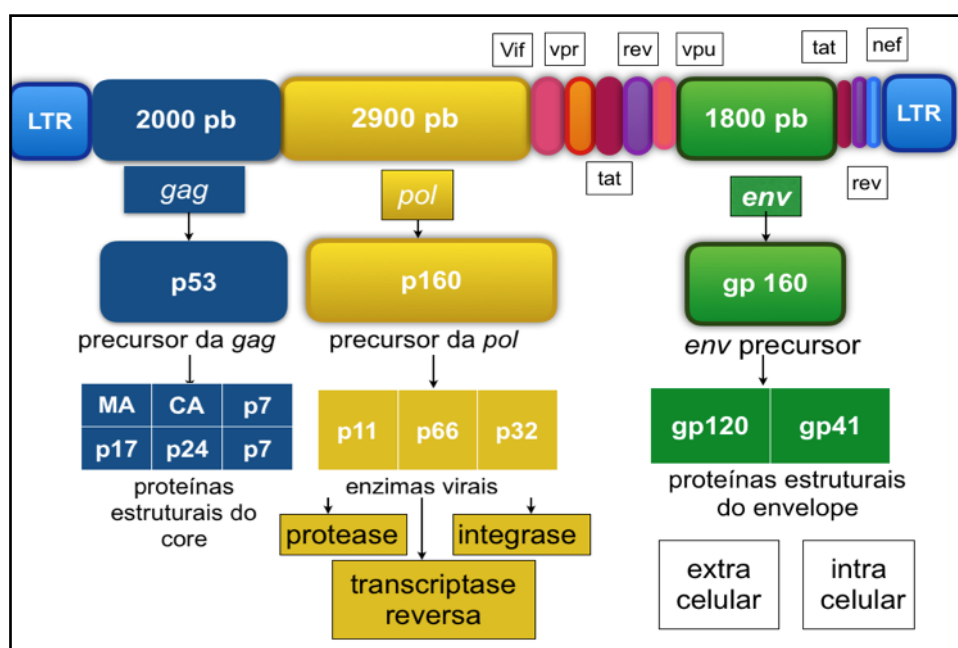


Figura 2. Esquema do genoma do HIV-1. LTR- Long Terminal Repeat. Sequência repetitiva de bases. Genes Estruturais: gag- group specific antigen gene. Codifica a matriz, capsídeo, NC, p6; pol- polymerase gene. Codifica as enzimas: protease, a transcriptase e a integrase; env gene. Codifica as proteínas do envelope glicoproteínas gp120, gp41. Proteínas Regulatórias: Tat: Trans-activator of transcription; Rev: Regulator of virion protein expression; Nef: Negative regulatory factor. Proteínas Acessórias: Vif: Virion infective factor; Vpr: Viral protein r; Vpu: Viral protein u. Adaptada: ENGELMAN et al, 2012 ; <http://www.hivdb.stanford.edu>.

A replicação ou a transcrição é regulada pelos fatores virais e celulares atuantes na ativação de promotores virais. Fatores externos, como infecções e produção de citocinas inflamatórias, através da ativação celular, podem aumentar a replicação viral. As proteínas virais *Tat*, *Rev*, *Nef*, *Vpu*, *Vpr* e *Vif* agem como reguladoras da expressão de genes do DNA pró-viral, determinando que tipo de proteína necessita ser produzida. A montagem da partícula viral madura ocorre na membrana celular, onde há a associação da proteína p17 com o domínio citoplasmático da gp41, que, por sua vez, une-se à gp120 na superfície externa. O vírus em

brotamento é formado pelas proteínas virais do envelope, pela membrana celular, a matriz formada principalmente pela proteína p17 e um core interno contendo o RNA, a TR, a integrase e proteínas do core. A fase de maturação ocorre durante e logo após a liberação do vírus da célula. Algumas proteínas virais, incluindo os componentes proteicos do core, são sintetizadas como polipeptídeos precursores, codificados pelos genes da *gag* e *gag-pol*, requerendo a clivagem pela proteína viral para a formação de proteínas maduras (MAARTENS *et al*, 2014).

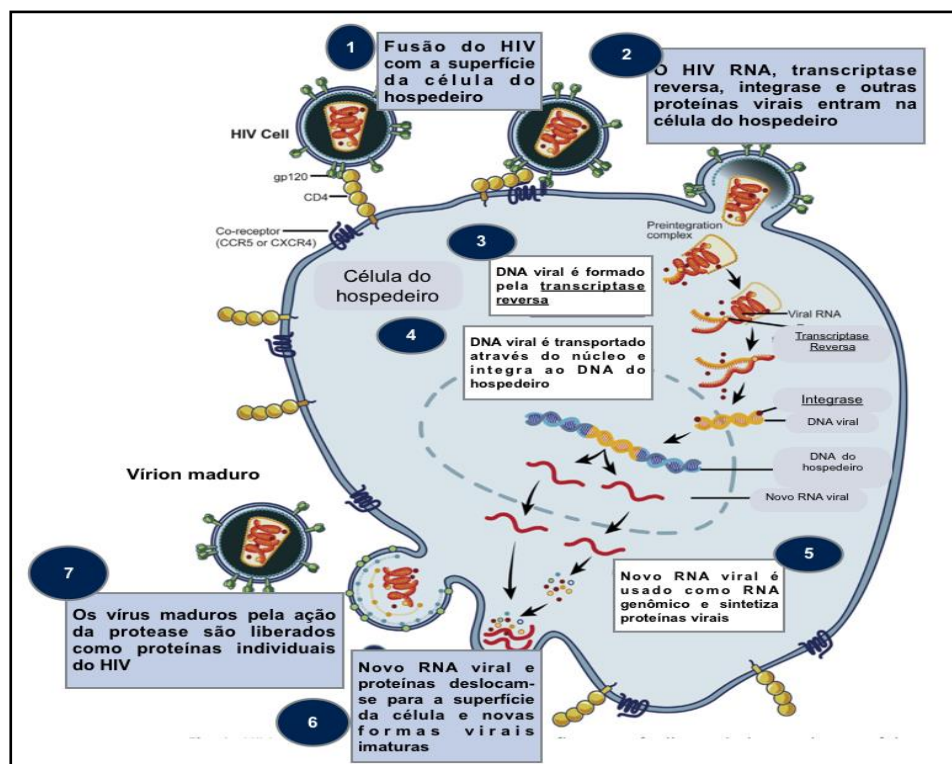


Figura 3- Ciclo Replicativo do HIV. *Entrada na célula* : O primeiro passo de entrada na célula é a ligação do HIV ao envelope da glicoproteína gp120 com os receptores de quimiocinas humanos (CCR5 ou CXCR4) na superfície das células CD4. Após a fixação inicial, o passo seguinte requer a fusão das membranas viral e celular, permitindo que as proteínas virais entrem para o interior do citoplasma.. *Transcrição reversa*: após a entrada na célula, como o HIV é um retrovírus, os moldes de RNA do vírus transcrevem em DNA viral de fita dupla na presença da enzima transcriptase reversa. *Integração*: O DNA de fita dupla produzido após a transcrição reversa é então transportado para dentro do núcleo da célula. Na presença da enzima integrase, num processo de várias etapas, permite a integração do DNA viral dentro do genoma do hospedeiro e finalmente a formação do provírus. Formação de vírions infecciosos pelas proteases do HIV: Após o êxito da integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro e formação de proteína proviral, a próxima etapa do ciclo de vida do HIV-1 é a clivagem dessas poliproteínas e formação de vírions infecciosos. A enzima viral protease é o elemento chave para este processo. Adaptado: PAU & GEORGE, 2014

Além dos receptores moleculares T-CD4+, existem outros fatores de ligação para a entrada do HIV, chamados co-receptores de quimiocinas: CXCR4 e CCR5. O receptor CXCR4 é o receptor específico para quimiocinas SDF-1 e o receptor CCR5 para RANTES, MIP1-alfa e MIP-1 beta. O receptor CXCR4 é co-receptor de célula da linhagem T e o receptor CCR5 de macrófagos (SIMON & HO, 2003).

Os indivíduos portadores de deleção homozigótica no gene de receptor de quimiocina CCR5, a delta 32, apresentam proteção contra a infecção pelo HIV (deleção homozigótica) ou progressão lenta da doença (deleção heterozigótica), o que reduz a capacidade de cepas de HIV com tropismo CCR5 infectarem as células do hospedeiro (SIMON et al, 2006).

1.3 Variabilidade Genética do HIV

Os vírus da imunodeficiência humana incluem o HIV-1 e o HIV-2. O HIV-1 é mais prevalente e patogênico do que o HIV-2 e é responsável pela vasta maioria de casos da pandemia. Comparações da sequência genética sugerem que ambos os vírus são resultados de transmissões do cruzamento de espécie do vírus da imunodeficiência simia (SIV) de chimpanzé (SIVcpz) e *sooty mangabey* (SIVsmm) respectivamente. A infecção natural com SIVcpz somente é identificada nas sub-espécies de chimpanzés *Pan troglodytes troglodytes* e *Pan troglodytes schweinfurthii*. Curiosamente, em seus hospedeiros naturais o SIV é menos patogênico do que a infecção HIV-1 em humanos. Por exemplo, SIVsmm não causa doença em *sooty mangabeys*, mas é altamente patogênico quando transferido para macacos *Rhesus*. A patogenicidade reduzida do HIV-2 em humanos pode estar relacionada aos baixos níveis de replicação viral, talvez refletindo a incompleta adaptação do SIV ao hospedeiro humano. A infecção pelo HIV-2 é mais prevalente na África ocidental, todavia pequenas epidemias foram relatadas em Portugal, França e Brasil (DEEKS et al, 2015).

A heterogeneidade do HIV está relacionada a vários fatores como a infidelidade da transcriptase reversa ocasionando erros no processo de transcrição reversa; na alta frequência de recombinação envolvendo a TR; na vasta quantidade de vírus produzidos diariamente pela infecção e milhões de pessoas infectadas no mundo. Durante o processo de transcrição, ocorre aproximadamente um erro para cada 10.000 nucleotídeos incorporados na replicação do HIV-1. Como o genoma do HIV-1 contém em torno de 10.000 pares de bases, estima-se que uma nova mutação ocorra a cada novo vírus produzido. Portanto o HIV gera *quasispecies*, ou seja,

existem subpopulações de vírus no mesmo indivíduo infectado. Este é o fator principal na variabilidade do HIV-1. O gene do envelope que codifica as proteínas que se ligam ao CD4 e co-receptores é capaz de suportar mutações extensas, como mostrado pelo fato de que, num mesmo indivíduo infectado, a sequência de envelope varia por 0,6 – 1% ao ano. Sequências de envelope de diferentes indivíduos que estão infectados com diferentes subtipos do HIV-1 diferem em média 25% e no máximo de 35%. Esta diversidade coloca grandes desafios para o desenvolvimento de uma vacina preventiva (DEEKS et al, 2015).

Baseado em parte na variação genética das glicoproteínas de superfície do envelope, análise das sequências do genoma codificados pelos genes *env* e *gag*, o HIV-1 pode ser filogeneticamente classificado em quatro grupos distintos: grupo M (*Major/Main*), grupo N (*Non-M, Non-O/New*), grupo O (*Outlier*) e o grupo P (*Putative*). O grupo M é subdividido em nove subtipos ou *clades* (A-D, F-H, J e K), sendo o subtipo B o mais comum no mundo ocidental e o subtipo C é encontrado principalmente na Índia, China e África subsaariana. O subtipo C é o mais frequente de todos, atingindo 17 milhões de pessoas. Os demais subtipos, assim como as variantes do HIV-1 com características de vários subtipos diferentes (chamados de formas recombinantes circulantes- CRF) estão em sua maioria espalhados pela África (MAARTENS et al, 2014; LI et al, 2015).

O HIV-2 é dividido em oito grupos. Está concentrado no oeste da África. Além das diferenças epidemiológicas e sorológicas, a diferença genômica entre o HIV-1 e o HIV-2 situa-se na substituição do gene *Vpu* pelo *Vpx* (HIV-2).

No Brasil, predomina o subtipo B, seguido pelo subtipo F, e menos frequentemente o subtipo C. A população brasileira possui outros subtipos de formas recombinantes circulantes, tais como CRF_28B/F, CRF_29B/F, CRF_31B/C, CRF_38B/F, CRF_39B/F e CRF_46B/F assim como várias formas recombinantes únicas (URF), que podem ser resultado da baixa aderência ao tratamento antirretroviral entre os adultos jovens devido à estilos de vida desordenados. Há uma epidemia crescente do subtipo C e CRF_31B/F originários mais da região Sul e movendo em direção a região Norte do país. Todavia, o subtipo B prevalece na região Sudeste, o epicentro da epidemia no Brasil. Metade das cepas brasileiras do subtipo B são genética e antigenicamente distintas das cepas típicas do subtipo B devido elas portarem o GWGR único, o que acredita-se ocasionar citopatogenicidade mais baixa. A resposta antirretroviral e as vias mutacionais da resistência genotípica também são de grande interesse nas cepas não-B, desde que os vírus do subtipo B representam apenas 10% das infecções pelo HIV no mundo (DIAZ, 2015).

Quadro 1. Classificação do HIV e diversidade genética.

• HIV-1 -Pandemia Mundial -4 grupos: Grupo M - 9 Subtipos: A-D, F-H, J e K - 6 subsubtipos: A1 - A4, F1 - F2 - 61 CRFs - várias URFs Grupo O Guiné Equatorial, Camarões e Gabão Grupo N Camarões Grupo P	• HIV-2 -Oeste da África -Homologia de 80% com <i>SIV_{sooty mangabey}</i> -Homologia entre 40-60% com HIV-1 - 8 subtipos: A, B e (C, D, E, F, G, H)
---	---

1.4 Fisiopatogenia e História Natural da Doença

O receptor principal para o HIV-1 é o CD4, que se expressa na superfície de linfócito T, monócito, macrófago celular e células dendríticas. O HIV também requer um co-receptor para entrada na célula hospedeira, tipicamente os receptores de quimiocinas CCR5 e CXCR4. Diferentes variantes do HIV-1 normalmente utilizam um ou outro receptor de quimiocina, mas alguns podem usar ambos; os vírus que usam estes co-receptores são chamados R5, X4 ou vírus R5X4, respectivamente. Os co-receptores CCR5 e CXCR4 são expressos diferentemente em alguns grupos de células T, com a expressão de CCR5 em níveis elevados nos linfócitos T de memória, mas não nos linfócitos T *naive*, enquanto que o CXCR4 é expresso em ambos linfócitos T. CCR5 também é expresso em macrófagos e células dendríticas (SIMON & HO, 2003).

Os alvos preferenciais da infecção são os linfócitos T ativados que, por razões ainda não esclarecidas, são mais permissíveis à infecção do que as células de repouso. Embora as células dendríticas sejam difíceis de se infectar com o HIV-1, elas são capazes de capturar o vírus e promover transinfecção dos linfócitos T vizinhos. O vírus também pode se anexar à rede dendrítica folicular, que retém o vírus infeccioso de forma concentrada dentro das células B dos

folículos dos gânglios linfáticos. Além disso, o vírus causa fibrose do tecido linfoide através de vários mecanismos, incluindo a regulação das células reguladoras T e liberação do fator transformador de $\beta 22$. A fibrose do tecido persiste durante a terapia antirretroviral ativa e a longo prazo. Grande parte dos danos associados ao vírus na doença não tratada e tratada provavelmente ocorre nessas estruturas linfoides (STEBBING et al, 2004).

Novas infecções são caracteristicamente estabelecidas por uma ou poucas variantes genéticas. Algumas dessas variantes podem ser mais complacentes para transmissão do vírus do que outras. Mais notavelmente, como CCR5 é altamente expresso em células T CD4⁺ nas superfícies de mucosa, os vírus transmitidos quase invariavelmente utilizam mais CCR5 que CXR4 para entrar na célula. Deveras, indivíduos que não expressam CCR5 (que possuem deleção Δ -32 CCR5), são quase completamente protegidos de adquirir a infecção pelo HIV. Durante o curso da infecção pelo HIV, os vírus transmitidos evoluem presumivelmente em resposta às alterações na população da célula alvo e resposta imune ao vírus. Em alguns, mas não em todos os indivíduos, a população de vírus evolui de tropismo CCR5 para tropismo CXR4; o mecanismo para esta mudança não está bem estabelecido (ESTE & TELENTI, 2007).

Estudos têm demonstrado que as sequências transmitidas das variantes do HIV-1 assemelham-se às sequências virais ancestrais do parceiro infectado, ao contrário das sequências co-existentes, sugerindo que o vírus que foi adquirido inicialmente no caso índice é ainda favorecido para a transmissão em comparação com o último vírus. Os vírus que são transmitidos tendem a possuir as proteínas do envelope com menos glicosilação do que aqueles que não são transmitidos, e algumas evidências sugerem que o vírus transmitidos são menos sensíveis às atividades do interferon do que aqueles que não são transmitidos. A natureza menos sensível dos vírus transmitidos para os interferons é relevante, dado que o HIV-1 induz uma resposta rápida de interferon e o vírus deve ser capaz de contornar esta resposta para estabelecer com sucesso uma infecção persistente (DEEKS, 2015).

Infecção Aguda ou Primária - A detecção do vírus no sangue, medida pelo nível de RNA viral, está frequentemente associada a sintomas leves: febre, linfadenomegalia, rash inespecífico, mialgia e mal-estar. Complicações mais graves, incluindo meningite, podem ocorrer, mas a maioria das pessoas é assintomática. Durante o período da infecção aguda, os níveis plasmáticos de RNA viral normalmente atingem picos elevados, aproximadamente 10^6 a 10^{10} de cópias por mL. A gravidade dos sintomas está fortemente correlacionada com o pico de carga viral durante esta fase da infecção. Uma vez que se desenvolve a resposta imune, os níveis de vírus decrescem em torno de 100 vezes para, enfim, estabilizarem num patamar que é chamado de *set point* viral. O *set point* viral pode variar de poucas cópias a 1.000.000 cópias

por ml no sangue, e tende a ser maior em crianças. Importante chamar a atenção que o nível do *set point* está correlacionado com desfechos clínicos: indivíduos com carga viral elevada progridem mais rapidamente para aids e morte que aqueles com baixa carga viral no *set point*. Uma pequena porcentagem dos indivíduos infectados (cerca de 15%) alcançam carga viral muito baixa no *set point*, dos quais em torno de 1% não terão carga viral detectada, sendo referidos como controladores de elite do HIV, que constituem um grupo de grande interesse na pesquisa (DEEKS, 2015; ROBB et al, 2016).

Estudos sugerem que o nível do *set point* da carga viral está correlacionado com a transmissão. Características virais determinam a replicação e a patogênese. Demonstrou-se em estudos que um terço a metade da variação no *set point* da carga viral está atribuída ao genótipo viral (FRASER, 2014; ALIZON, 2010).

Por mecanismos ainda pouco esclarecidos, o HIV estabelece infecção quiescente (ou latente) dentro das células T CD4⁺ de memória. Estas células são mantidas indefinidamente por proliferação homeostática; algumas células tem a capacidade semelhante à célula tronco, como auto renovação. O HIV pode também estabelecer infecção a longo prazo em células T CD4⁺ *naive*, células da linhagem dos monócitos e macrófagos e talvez outras células de vida longa. Como foi demonstrado no modelo do *Simian Immunodeficiency Virus* (SIV) em macaco, este reservatório de células infectadas pode ser estabelecida em três dias após a infecção. Uma vez que o DNA HIV está integrado à cromatina do hospedeiro, o vírus tem a capacidade de reiniciar a replicação, enquanto persiste viável a célula infectada. Devido à potência inerente do antirretroviral (ARV), a replicação é quase completamente inibida, mas replicação residual pode ocorrer em níveis muito baixos em pelo menos alguns grupos de pacientes. Os gânglios linfáticos que albergam os vírus podem representar 'santuários' para os vírus em termos da penetração limitada da droga antirretroviral e os mecanismos reduzidos de clareamento do hospedeiro. Este reservatório é também fonte recrudescente de vírus entre os indivíduos tratados efetivamente que interromperam a TARV (KATLAMA et al, 2013; MARTÍNEZ-BONET et al, 2015).

O HLA B*5701 (*Human Leukocyte antigen B*5701*) em particular, mas também outros alelos de HLA, estão associados com o controle da infecção pelo HIV na ausência de terapia antirretroviral (TARV). De fato, o HLA emergiu como a variante genética mais importante do hospedeiro no controle da infecção viral em associações subsequentes dos estudos do genoma ampliado, com evidência limitada para outros polimorfismos de nucleotídeo único do hospedeiro tendo um papel significativo. Em geral, sugere-se que essas diferenças genéticas do

hospedeiro contribuem aproximadamente de 10 a 15% na variação dos resultados clínicos (SIMON et al, 2006; FRASER et al, 2014).

A diminuição aproximada de 100 vezes na carga viral durante a infecção aguda presume-se ser atribuída em grande parte ao desenvolvimento de linfócitos T CD8⁺ citotóxicos específicos contra o HIV (CTLs- *Cytotoxic T Lymphocytes*). Com poucas exceções, esta resposta falha em controlar permanentemente o vírus. Com a exposição crônica, as células se tornam disfuncionais. Além disso, assim como as respostas de anticorpos, o vírus rapidamente gera mutações de escape CTL, levando a uma perda do controle do vírus e estabelecendo reservatórios duradouros de cepas virais que são inacessíveis aos mecanismos de clareamento preliminar do hospedeiro. Outras respostas celulares, como citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos, também têm sido associadas ao controle viral, porém são menos relevantes (DEEKS, 2015).

As vias que levam ao escape de clareamento imune *in vivo* não se limitam apenas às mutações que impedem o reconhecimento direto do epítipo. O envelope possui flexibilidade considerável no comprimento das alças variáveis e no grau de glicosilação, e alças mais longas e glicosilação aumentada ajudam a proteger os epítopos. Igualmente, várias superfícies de ligação do envelope, incluindo o domínio de ligação do co-receptor de CCR5, estão expostas apenas transitoriamente durante o processo de entrada, efetivamente mascarando os domínios funcionais conservados que poderiam ser alvos para os anticorpos. Além disso, mutações fora do epítipo de anticorpo podem interferir no epítipo, causando mudanças conformacionais (DEEKS, 2015).

Uma vez que o vírus escapa dos anticorpos e entra na célula, ele deve escapar de fatores de restrição celular, tais como: a) as proteínas APOBEC3 (*apolipoprotein B mRNA-editing catalytic polypeptide-like 3*), que modificam o genoma viral; b) as proteínas que contêm os domínios 1 SAM e HD (SAMHD1), as quais esgotam o *pool* (montante) de trifosfatos de nucleotídeos que são necessários para a transcrição reversa; e c) tetherin (que impede a saída dos vírus em desenvolvimento). As proteínas virais acessórias Vif, Vpx e Vpu são responsáveis pela neutralização da atividade da APOBEC3, SAMHD1 e tetherin respectivamente. A proteína acessória *Nef* provoca a *downregulation* das moléculas HLA da classe 1 nas células infectadas, o que resulta em qualidade inferior na apresentação de peptídeos do HIV para as células T citotóxica (KUMAR et al, 2014).

Durante a infecção aguda pode ser detectada frequentemente uma redução transitória na contagem de linfócitos T CD4⁺ no sangue periférico, mas esta contagem celular normalmente retorna próximo aos níveis basais após a resolução da infecção primária e então declina

lentamente nos anos seguintes. No decorrer dos anos, o vírus causa depleção gradual da célula T CD4⁺ circulante e na célula tecidual similar à célula T CD4⁺. Grande parte da replicação do HIV, e presumivelmente da morte das células T CD4⁺, ocorre no tecido linfoide associado ao intestino (GALT- *Gut-associated lymphoid tissue*), que abriga números elevados de linfócitos T de memória suscetíveis. Os níveis altos de replicação viral no GALT ocorridos durante a infecção aguda causam grave depleção de células T, acreditando assim fazer do intestino uma barreira permeável; a translocação sistêmica de produtos bacterianos causa aumento da ativação imune celular. A infecção pelo HIV causa elevação dramática e persistente na proliferação de células T CD4⁺ e CD8 ativadas, muitas das quais são destinadas à morte destas células mesmo na ausência de infecção. Esta ativação generalizada do sistema imune contribui para a perda progressiva dessas células, e o grau pelo qual a infecção pelo HIV causa ativação da célula T é um preditor independente da taxa de indivíduos que perdem células T CD4⁺ e progridem para aids (BRENCHLEY et al, 2006; HAYNES, 2006).

Vários mecanismos, provavelmente, explicam como o HIV depleta as células T CD4⁺. A replicação do HIV pode ser diretamente citopatogênica, embora seja improvável justificar a morte de todas as células, especialmente na infecção crônica. A infecção causada pelo HIV nos linfócitos pode gerar a transcrição reversa incompleta (DNA HIV), o que estimula uma resposta inflamatória intensa e morte de células não infectadas locais. Além de causar morte celular direta ou indiretamente, o HIV afeta de maneira negativa a capacidade do sistema imune para regenerar novas células T CD4⁺, em parte por causar dano às células tronco e do timo (STEBBING et al, 2004).

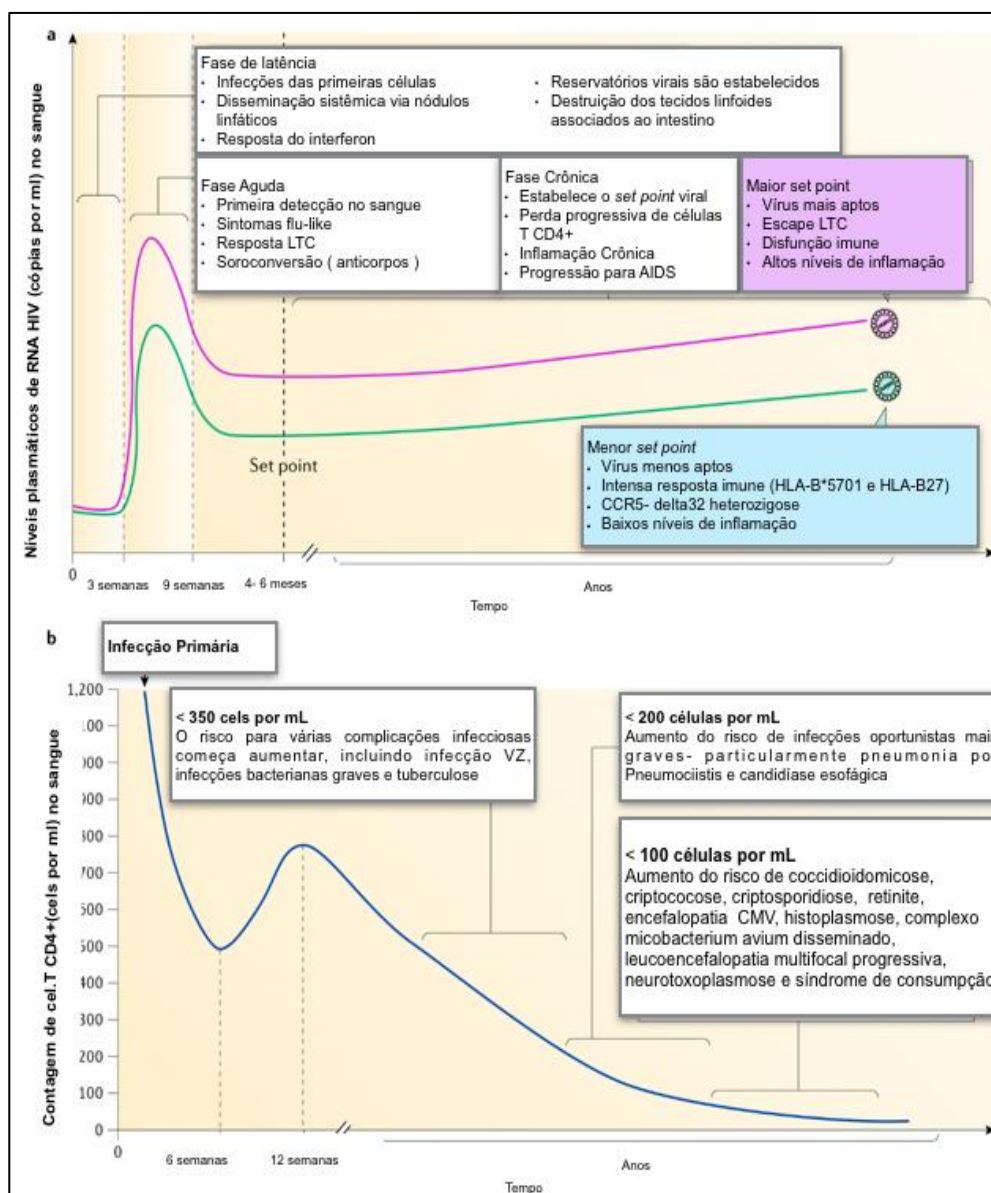


Figura 4. Infecção pelo HIV e aids. a| Durante a infecção pelo HIV, os vírus transmitidos inicialmente infectam as células alvo na mucosa dos tecidos e dissemina pelo sistema linfóide (fase latente). Os níveis de RNA viral iniciais tornam-se detectáveis após vários dias e então se elevam exponencialmente, atingindo um pico após algumas semanas, neste ponto a resposta imune adaptativa resulta um controle parcial. As resposta de anticorpos contra o HIV são ineficazes, devido ao rápido escape viral. O nível de estado constante da viremia- *set point*- refletindo as complexas interações vírus-hospedeiro, é então estabelecido. A destruição de células T CD4+ mediada pelo HIV causa imunodeficiência e inflamação crônica. b| A contagem típica de célula T CD4+ em adultos é normalmente entre 500-1200 células por mm³. Como o número de células T declina para <350 células por mm³, eleva o risco de complicações infecciosas graves progredindo para doença mais avançada (<100 células/ mm³). De fato, a imunodeficiência associada ao HIV incrementa o risco de Sarcoma de Kaposi, Linfoma, câncer cervical invasivo. AIDS, infecção pelo HIV e CD4<200 células/ml ou complicação definidora de AIDS (*The US Centers for Disease Control and Prevention*). CCR5, *CC-chemokine receptor 5*; CTL, *cytotoxic T lymphocyte*; HLA, *human leukocyte antigen*. Adaptado de DEEKS et al, 2015.

A progressão clínica da infecção pelo HIV-1 em crianças é mais rápida em relação ao adulto, devido à imaturidade imunológica. Antes da disponibilidade da terapia antirretroviral

combinada (TARVc), foram descritos três padrões distintos de doença em crianças. O primeiro é denominado de progressão rápida e ocorre em cerca de 20% a 30% das crianças não tratadas, que evoluem com quadros graves no primeiro ano de vida, particularmente antes dos 6 meses de vida, atingidas por pneumonia por *Pneumocystis jiroveci* ou outras infecções graves. Essas crianças tinham sobrevida muito curta e faleciam antes dos quatro anos. O segundo padrão, chamado de progressão intermediária, é mais lento e abrange a maioria (70% a 80%) das crianças. Nesses pacientes o desenvolvimento dos sintomas pode se iniciar na idade escolar ou mesmo na adolescência, com tempo médio de sobrevida de 9 a 10 anos, segundo dados prévios à disponibilidade de terapia específica. O terceiro padrão da doença ocorre em uma porcentagem pequena (<5%) das crianças infectadas no período perinatal e é chamado de “progressão lenta”. São crianças que apresentam progressão mínima ou nula da doença com contagem normal de LT-CD4+ (BARNHART et al, 1996; LUZURIAGA & SULLIVAN, 2000).

A dinâmica da replicação do vírus HIV-1 em crianças também diverge do que ocorre em adultos. Foi demonstrada uma elevação rápida no nível da quantificação do RNA do HIV-1 após o nascimento, atingindo um pico entre um e dois meses de idade (mediana de 318.000 e 256.000 cópias/ml com um e dois meses respectivamente) e a seguir um decréscimo gradualmente lento, alcançando uma mediana de 34.000 cópias/ml aos 24 meses. Foi verificado também que lactentes com progressão rápida da doença apresentavam níveis plasmáticos mais elevados de RNA do HIV-1 no primeiro ano de vida. Vários fatores estão relacionados aos altos níveis virais do HIV-1 em crianças, como a maior quantidade de linfócitos suscetíveis ao HIV, observada principalmente nos dois primeiros anos de vida, maior estímulo linfocitário levando a uma maior replicação viral assim como a imaturidade imunológica (SHEARER et al, 1997; LUZURIAGA et al, 1999).

A classificação clínica e imunológica das crianças abaixo de 13 anos, conforme os critérios do CDC-1994, está detalhada no anexo F.

1.4 Terapia Antirretroviral

A identificação do retrovírus em 1983 como o patógeno causador da doença foi um marco inicial no controle da doença. A descoberta das múltiplas etapas do ciclo replicativo do HIV na célula T-CD4+ humana levou à identificação de alvos potenciais de ação das drogas para deter ou retardar o processo replicativo do HIV. Esta identificação desencadeou um

progresso científico sem precedentes na descoberta e desenvolvimento das drogas antirretrovirais (tabela 1) (PAU & GEORGE, 2014).

A infecção pelo HIV tornou-se, a partir da utilização de terapia antirretroviral combinada (TARVc), uma doença de evolução crônica, controlável, com impacto expressivo no declínio da morbiletalidade e incremento na qualidade de vida das pessoas vivendo com HIV e aids (DEEKS, 2013; KATLAMA et al,2013). Além disso, a TARV tem um efeito na redução da incidência da doença por diminuir a transmissibilidade do HIV (COHEN, 2011). Até junho de 2015, 15,8 milhões de pessoas no mundo estavam recebendo tratamento (UNAIDS, 2015).

Até o final de 2015, 77% das gestantes vivendo com HIV no mundo tinham acesso à TARV, e a taxa de transmissão materno-fetal do HIV caiu de 28% para 14% em 2014 (UNAIDS, 2015). No entanto, há uma estimativa de que apenas 31% do total das crianças < 15 anos infectadas pelo HIV no mundo estavam recebendo TARV, até o final de 2015 (UNAIDS, 2015).

No Brasil, até o final de 2015, estimou-se a ocorrência de 827 mil pessoas vivendo com HIV/aids, sendo que 52% (430 mil) estavam em uso de terapia ARV, com 46% (380 mil) dessas pessoas em tratamento apresentando supressão viral por pelo menos seis meses após início da TARV (BRASIL, 2015).

Tabela 1. História nos avanços da terapia antirretroviral (1987-2015)

Anos	Avanços na Terapia Antirretroviral	Comentários
1987-1993	ITRN em monoterapia AZT ou ddI	Melhora na sobrevida dos pacientes e atraso na progressão da doença, mas não impediu o declínio do CD4
1993-1996	Terapia dupla com ITRN	Tem melhor supressão viral que a monoterapia, mas não atrasa a progressão da doença, com maior toxicidade
1994	PMTCT: AZT em monoterapia	O ensaio do PACTG 076 mostrou expressiva redução na MTCT com AZT oral durante a gestação, AZT EV durante o trabalho de parto e parto, e uso AZT oral dado ao recém-nascido
1996	Esquemas: 2 ITRN+ IP HAART	2 ITRN + IP foi o primeiro esquema que mostrou suprimir RNA HIV abaixo do nível de detecção e melhora na sobrevida e na contagem de células CD4
1998	Esquema 3 ITRN	Aprovação do ABC; poupar IP, tóxico (ABC; 3TC; AZT): menor potência
Final de 90 e início de 2000	IP reforçado com ritonavir: IPr	Uso de ritonavir: farmacocinética potência do IP, aumento da biodisponibilidade dos IP e reduzir o número de pílulas
2003-2008	Aprovação da 2ª geração de ARV: uso em situações de resistência do HIV aos ARVs: TDF; TPV; DRV e ETR	O aumento de multi-droga resistência (MDR) às classes do HIV leva à necessidade de novas opções terapêuticas e aprovação de drogas de novas gerações provenientes das classes existentes
2003	Primeiro inibidor de fusão: ENF aprovado para MDR HIV	A Enfuvirtida (ENF) ou T-20 associada ao esquema de base, pode reduzir significativamente o RNA viral em pacientes MDR. Injeção subcutânea
2006	Fórmula de dose fixa: TDF, FTC, EFV (Atripla)	Primeira combinação de dose fixa, uma pílula ao dia. Adesão
2007	Primeiro antagonista de CCR5 (MVC), para MDR	O uso do maraviroque (MVC) é limitado pelo teste de tropismo viral antes do tratamento. Foi mais tarde aprovado para paciente <i>naïve</i>
2007	Primeiro INSTI (RAL) para MDR	Pode reduzir significativamente o RNA viral em pacientes MDR. Mais tarde aprovado para pacientes <i>naïve</i>
2011	Uso de ARV como prevenção de transmissão para parceiros não infectados	O estudo HPTN 052, casais discordantes randomizados com parceiros infectados para receber TARV ou não. Redução significativa na transmissão HIV
2012	Profilaxia pré-exposição com TDF+ FTC	Aprovado pelo FDA profilaxia pré-exposição de uso contínuo em indivíduos HIV -negativo que estão em alto risco de adquirir a infecção pelo HIV.
2015	Estudo START apoia uso universal de ARV, independente do CD4 e estágio da doença	Estudo demonstrou redução na morbidade e mortalidade com início de TARV com CD4 > 500 células/mm ³ .

Abreviações: FDA, Food and Drug Administration; HPTN, HIV prevention trials network; INSTI, integrase strand transfer inhibitor; NNRTI, non- nucleoside reverse transcriptase reverse; PACTG, pediatric AIDS clinical trial group; PMTCT, prevention of mother to child HIV Transmission; AZT- azidotimidina; EV- endovenosa; ddI- didanosina; IP- inibidor da protease; HAART- High active antiretroviral therapy; ABC- abacavir; 3TC- lamivudina; ARV- antirretroviral; TDF- tenofovir disoproxil fumarato; TPV- tipranavir; DRV- darunavir; ETR- etravirina; EFV- efavirenz; RAL- raltegravir; FTC- Emtricitabine.. Adaptada de PAU & GEORGE, 2014.

Estratégias terapêuticas continuam a focar no início precoce do regime antirretroviral capaz de máxima supressão da replicação viral para prevenir a progressão da doença, preservar a função imunológica e reduzir o desenvolvimento de resistência viral. Ao mesmo tempo, a disponibilidade de novas drogas e novas formulações de drogas já em uso, com posologia mais confortável, têm levado a esquemas terapêuticos que aumentam a adesão ao mesmo (GADHI & GADHI, 2014; KELLY et al, 2016). A monitorização adequada do tratamento tem também diminuído a falência de drogas devido à toxicidade.

A recomendação para início de terapia antirretroviral (TARV) em todos os adultos e adolescentes já está bem fundamentada em fortes evidências de vários estudos clínicos (SEVERE *et al*, 2010). Estudos têm demonstrado os benefícios de terapia em adultos sintomáticos e naqueles com contagens mais baixa de células - linfócitos T CD4 (CD4). Ademais, um ensaio clínico forneceu evidência decisiva do benefício do início da TARV em adultos assintomáticos com contagens de células CD4 >500 células/mm³ (COHEN et al, 2011). O estudo START randomizou 4.685 pacientes adultos infectados pelo HIV virgens de ARV (média de idade de 36 anos) com contagens de células CD4 >500 células/mm³ para iniciar imediatamente ARV ou adiar ARV até o declínio na contagem de célula CD4 para <350 células/mm³ ou até o desenvolvimento de qualquer condição clínica que indicasse o uso de ARV. Foram detectados 42 *endpoints* primários (aids, eventos não-aids graves, ou morte) entre aqueles do grupo de tratamento precoce comparado com 96 do grupo que adiou o tratamento, significando uma redução total de 57% no risco de doença grave ou morte com tratamento precoce ($p < 0,001$). Nota-se que o risco absoluto para o desfecho (*endpoint*) principal foi baixo: 3,7% no braço que postergou versus 1,8% no braço com tratamento imediato. Sessenta e oito por cento dos *endpoints* principais ocorreram em pacientes com contagens >500 células/mm³. O risco de eventos de Grau 4 ou admissão hospitalar não programada foi similar nos dois grupos (INSIGHT START GROUP, 2015). As recomendações de diversos *guidelines* e protocolos (DHHS-USA, 2016; IAS-USA, 2016; WHO, 2015; EACS-EUROPE, 2015; PCDT- BRASIL, 2015) de indicar tratamento para todos os adultos infectados pelo HIV parece estar também baseada na disponibilidade de esquemas ARVs eficazes, com melhor tolerabilidade, e evidência que a TARV eficaz reduz a transmissão sexual secundária (COHEN, 2011).

A evolução da infecção pelo HIV é mais rápida em crianças do que em adultos e os parâmetros laboratoriais (LT-CD4+ e carga viral) são menos sensíveis para predizer o risco de progressão, especialmente em menores de 12 meses de idade. Crianças infectadas pelo HIV por transmissão vertical, que receberam TARV antes de três meses de vida, tiveram redução significativa na progressão para aids e morte (GOETHEBUER et al, 2009).

Em uma meta-análise que reuniu dados de cerca de 4.000 crianças, seguidas longitudinalmente em estudos de coorte ou em ensaios clínicos nos EUA e Europa na era pré-HAART (sigla inglesa para terapia antirretroviral potente), foi demonstrado que o percentual de LT-CD4+ e a carga viral representavam preditores independentes de risco para progressão da doença, exceto no primeiro ano de vida, sendo o percentual de LT-CD4+ preditor de risco de progressão/morte mais robusto que a CV (HIV PAEDIATRIC PROGNOSTIC MARKERS COLLABORATIVE STUDY, 2006).

Existem certas particularidades na abordagem terapêutica antirretroviral em crianças e adolescentes pré-púberes quanto a: a) diferenças imunológicas, uma vez que a contagem de células CD4+ varia conforme a idade em decorrência da imaturidade do sistema imune; b) a falta de dados de farmacocinética em crianças menores, dificultando ou impossibilitando a utilização de algumas drogas em determinada faixa etária; c) estudos clínicos com pequeno número de participantes, ocasionando atraso na utilização de novos fármacos na prática clínica; d) disponibilidade e palatabilidade da formulação; e) habilidade do cuidador ou responsável legal na administração de esquemas ARV complexos; f) adesão comprometida por aspectos psicossociais, confidencialidade, orfandade, eventos adversos, revelação diagnóstica, além do fato de que as crianças estão em fase de crescimento e desenvolvimento (GOETHEBUER *et al*, 2009).

A recomendação para início de tratamento para todas as crianças infectadas pelo HIV está contemplada nos Estados Unidos (DHHS, 2016) e pelas diretrizes da WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2015. No Brasil, O PROTOCOLO CLÍNICO E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS (PCDT) para Manejo da Infecção pelo HIV em Crianças e Adolescentes (2014) ainda não atualizou tal recomendação, assim como PAEDIATRIC EUROPEAN NETWORK FOR TREATMENT OF AIDS (PENTA) guideline europeu (quadro 1). No entanto, a força da recomendação diverge conforme a faixa etária e contagem de célula T-CD4+ prévios ao tratamento devido aos escassos dados disponíveis na população pediátrica considerando-se os benefícios e os riscos de terapia imediata em crianças assintomáticas, comparadas com os adultos. Em crianças abaixo de um ano de idade, o benefício de terapia imediata foi explicitamente demonstrado no estudo CHILDREN HIV INFECTED EARLY ANTIRETROVIRAL - CHER (VIOLARI *et al*, 2008), mas os dados em crianças mais velhas são mais questionáveis, pela falta de benefícios clínicos imediatos de TARV observada no estudo PREDICT, que registrou crianças acima de um ano de idade (média de idade de 6,4 anos) e o risco de progressão da doença foi extremamente baixo em ambos os grupos (PUTHANAKIT *et al*, 2012). Preocupações com a adesão e toxicidade tornam-se

particularmente importantes quando a terapia em crianças é iniciada em uma idade precoce e que provavelmente perdurará ao longo de toda vida.

Em lactentes menores de 12 meses, o Estudo CHER, um ensaio clínico randomizado da África do Sul, demonstrou que o início de TARV com 3 drogas, na idade de 6 a 12 semanas em lactentes assintomáticos perinatalmente infectadas, com porcentagem normal de CD4 (>25%) resultou na redução de 75% na mortalidade precoce, comparado com o tratamento adiado até que os lactentes apresentassem critério específico clínico ou imunológico (VIOLARI et al, 2008). No braço de investigação que adiou o tratamento, a maioria das mortes nos lactentes ocorreu nos primeiros 6 meses após a entrada no estudo. Um sub-estudo deste ensaio também demonstrou que lactentes tratados precocemente tiveram consideravelmente melhor desempenho no desenvolvimento neuro-motor do que aquelas onde a terapia foi adiada (LAUGHTON et al, 2012). Por causa do risco de progressão rápida ser tão mais elevada em lactentes jovens e baseado nos dados do estudo CHER, os *guidelines* recomendam início da terapia para todos os lactentes <12 meses independente do estado clínico, porcentagem de CD4 ou carga viral (DHHS-USA, PENTA-EUROPE, WHO, PCDT). O risco elevado de progressão da doença e mortalidade em lactentes sobrepujou as questões prévias relacionadas a adesão e coletas de exames laboratoriais. Estudos indicam uma relação entre a duração de exposição à replicação viral e o tamanho do reservatório de HIV-1 residual após a completa supressão viral em crianças recebendo TARV (PERSAUD et al, 2014; MARTINEZ-BONET et al, 2015). Este achado sugere que o início muito precoce, dentro dos primeiros dias de vida, pode reduzir ainda mais os reservatórios do HIV-1 de longa duração (PERSAUD et al, 2013; LUZURIAGA et al, 2015; UPRETY et al, 2015).

Em crianças maiores de um ano de idade, geralmente, a progressão da doença é menos acelerada do que naqueles menores de um ano. No entanto, as crianças com estágio 3 - definição de infecções oportunistas (quadro 1 e Definição de Caso de Infecção pelo HIV (<http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr6303.pdf>)), os *guidelines* recomendam tratamento urgente, dentro de uma ou duas semanas, para todas as crianças com doença HIV avançada independentemente do estado virológico ou imunológico. Nestes casos, a equipe clínica deve agilizar a discussão sobre aderência e providenciar acompanhamento intensivo nas primeiras semanas, com apoio às crianças e aos familiares. As crianças >1 ano de idade que têm sintomas clínicos leves ou moderados (anexo G) ou que se apresentam assintomáticas, estão sob menor risco de progressão da doença do que as crianças com sintomas clínicos graves. Nestas crianças, mais tempo pode ser necessário para avaliação completa, discutir e abordar com os familiares e a criança as questões relacionadas à adesão antes do início da terapia (DHHS, 2016).

Assim como em adultos, os dados de estudos pediátricos sugerem que o incremento no parâmetro imunológico é melhor em crianças quando o tratamento é iniciado com níveis mais elevados dos valores absoluto e percentual do CD4 (LUMBIGANON, 2011; YIN et al, 2014). Uma análise secundária do Pediatric AIDS Clinical Trial Group 390/ Paediatric European Network for Treatment of AIDS 9 (PENPACT-1) avaliou os impactos populacionais do início da TARV em diferentes percentagens de CD4 e os limites de idade na recuperação de percentagem do CD4. O PENPACT-1 foi um ensaio aberto, de fase 2 e 3, multicêntrico, randomizado, que incluiu crianças virgens de TARV em idade >30 dias e <18 anos, da Europa, América do Norte e África do Sul. O objetivo principal foi comparar o início de terapia com inibidor de protease (IP) ou inibidor da transcriptase reversa não-análogo (ITRNN) associado ao esquema de base do esquema de TARV e avaliar o limite de carga viral no intuito de trocar o ARV de primeira linha para o de segunda linha. Como não houve diferenças significativas entre os braços randomizados, os participantes foram agrupados em braços para estudar respostas de CD4. Das duzentas e sessenta e seis crianças estudadas, 162 apresentavam pelo menos imunossupressão leve, usando os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) de 2007; este grupo foi avaliado para análise de recuperação do CD4 >10% pela idade dentro de quatro anos do início da TARV. A recuperação da percentagem de CD4 foi associada significativamente com a percentagem do CD4 basal do estágio da OMS, com 97% (IC 95%: 85%-99%) daqueles com imunodeficiência leve (n=31) e 87% (IC 95%: 62%-87%) daqueles com imunodeficiência avançada (n=40) alcançando valor normal de CD4 dentro de quatro anos do início de TARV versus 60% (IC 95%: 48-68%) entre aqueles com imunodeficiência grave (n=91) ($p < 0,001$). Quando foram combinados os efeitos da percentagem do CD4 basal e a idade, mais de 90% das crianças recuperaram a contagem normal de células CD4 quando a TARV foi iniciada durante a imunossupressão leve em qualquer idade ou com imunossupressão avançada em crianças menores de três anos de idade (THE PENPACT-1- PENTA 9/390 STUDY TEAM, 2011). O início precoce para terapia inicial está associado com melhora na resposta imune e com retomada rápida do crescimento (PATEL, 2008; SHIAU, 2013). O Estudo PEDIATRIC RANDOMISED EARLY VERSUS DEFERRED INITIATION INITIATION IN CAMBODIA AND THAILAND (PREDICT) demonstrou aumento de ganho na estatura de crianças no braço de tratamento precoce comparado com o braço que adiou a TARV (PUTHANAKIT, 2012). Estes dados combinados sugerem que o início de TARV quando os valores de CD4 são mais elevados e em crianças mais jovens maximiza o benefício potencial para recuperação imunológica.

Quadro 2. Terapia antirretroviral em Crianças e adolescentes.

Idade	PCDT 2014	PENTA 2015	DHHS 2016	WHO 2015
< 1 ano	Independentemente de manifestações clínicas, LT-CD4+* e carga viral: Tratar	Tratar todos	Tratar todos Urgente <12sem (A1)	Tratar todos <u>Recomendação A</u>
1 a 3 anos	1 a 4 anos Critérios clínicos: - Categoria CDC* B*/ C ou Critérios laboratoriais: - LT-CD4+: <25% ou -Carga viral: >100.000 cópias/ml	CD4 ≤ 1000 cels/μL CD4 < 25% Estágio 3/4 WHO** Categoria CDC B/C Considerar: todos*	<u>> 1 e < 6 anos:</u> - Estágio 3 CDC*** - definição de doença oportunista- urgente (AI) - Estágio 3 CDC*** imunodeficiência CD4<500 cels/μL (Tratar- AII) - Sintomas moderados associados com o HIV Contagem de cels CD4 500-999 cels/μL (Tratar- AII) - Assintomáticos ou sintomas leves e contagem cels >1000 cels/μL (Tratar- BI)	Todos >1 ano e <10 anos <u>Prioridade recomendação A:</u> - < 2 anos - Estágio 3/4 WHO - CD4 < 25%,se < 5anos - CD4 ≤350 cels/μL >5 anos <u>Recomendação C</u> - Deve-se iniciar ARV em todas crianças HIV+ <10 anos e adolescentes 10 a 19 anos com qualquer valor de CD4
3 a 5 anos	1 a 4 anos Critérios clínicos: - Categoria CDC B*/ C ou Critérios laboratoriais: - LT-CD4+: <25% ou -Carga viral: >100.000 cópias/ml	CD4 ≤ 750 cels/μL CD4 ≤ 25% Estágio WHO 3/4 Categoria CDC B/C Considerar: CV >100.000 cópias/ml	> 6 anos: - Estágio 3 CDC - definição de doença oportunista. - Estágio 3 imunodeficiência. CD4 <200 cels/μL (Tratar urgente- AI) - Sintomas moderados associados com o HIV - Contagem de cels CD4 200-499 cels/μL (Tratar- AII) - Assintomáticos ou sintomas leves e contagem cels > 500 cels/μL (Tratar- BI)	<u>Prioridade recomendação A:</u> - Adolescentes com Estágio 3/4 WHO - Adolescentes CD4 ≤350 cels/μL
> 5 anos	> 4 anos Critérios clínicos: - Categoria CDC B* ou C ou Critérios laboratoriais: - LT-CD4+: <500 células/mm3 ou - Carga viral: >100.000 cópias/ml	CD4 ≤ 350cels/μL Estágio WHO 3/4 Categoria CDC B/C Considerar: CD4 < 500cels/μL CV>100.000 cópias/ml		

PCDT:Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Crianças e Adolescentes, 2014. DHHS-USA: *Department of Health and Human Services*. Disponível: <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines>. WHO: World Health Organization. PENTA: *Paediatric European Network Treatment of AIDS guidelines for treatment of paediatric HIV-1 infection* 2015. *CLASSIFICAÇÃO PELO HIV EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES MENORES DE 13 ANOS. CDC, 1994.(ANEXO F).

Tendo em conta que a progressão da doença em crianças com idade superior a cinco anos é similar à do adulto (DUNN, 2008) e pelo ensaio clínico START ter demonstrado redução na morbidade e mortalidade com início de TARV quando a contagem de célula CD4 > 500 células/mm³ (KITAHATA, 2009; INSIGHT START, 2015), a maioria dos especialistas acredita que a recomendação para crianças assintomáticas nesta faixa etária deve ser similar àquela feita para os adultos. As opções de drogas são mais limitadas em crianças do que em adultos e é necessário melhorar a avaliação de toxicidade potencial em uma criança em desenvolvimento, por exemplo toxicidades óssea, cardíaca, mitocondrial e outras toxicidades metabólicas pelo uso prolongado de ARV. Adesão à TARV é um requisito básico para o sucesso do controle virológico, mas alcançar a adesão consistente na infância é um desafio frequente. Adesão incompleta leva a seleção de mutações de vírus resistentes. Os benefícios relativos para o início de TARV em crianças assintomáticas com cargas virais baixas e contagem normal de células CD4 em geral superam estes riscos potenciais.

A azidotimidina (AZT), um inibidor de transcriptase reversa análogo à timidina, foi o primeiro agente ARV aprovado para uso em 1987. Mostrou benefício na sobrevida comparado com placebo em pacientes com aids avançada (FISCHL et al, 1987). Embora a monoterapia com esse ITRN demonstrasse redução na carga viral, atraso na progressão da doença e melhora na sobrevida, o uso de uma única droga não foi capaz de promover supressão viral nem recuperação da função imune. Desde então, a terapia ARV combinada tornou-se a melhor escolha de tratamento. A tabela 1 fornece alguns dos avanços da TARV (PAU & GEORGE, 2014).

Até o final de 2015, 29 drogas ARV pertencentes a 6 classes, conforme o mecanismo de ação, foram aprovadas pelo FDA (Food and Drug Administration) para o tratamento da infecção pelo HIV (GULICK et al, 2015). Alguns agentes ARVs mais antigos (delavirdina, estavudina, zalcitabina, nelfinavir, indinavir, ritonavir em dose plena) tiveram seu uso descontinuado na prática clínica pois foram substituídos por drogas novas menos tóxicas e também com maior potência e com melhor barreira genética. Embora tenha ocorrido avanços na terapia com os ARVs vigentes, permanecem vírus residuais nos reservatórios, os denominados santuários do vírus (KATLAMA et al, 2013; MARTINEZ-BONET et al, 2015). Se o tratamento for descontinuado ou interrompido resultará em rebote viral e maior risco de imunossupressão subsequente, mesmo após o reinício da TARV (AUPIAIS et al, 2014). Portanto, o tratamento atual deve ser continuado indefinidamente para manter a supressão viral (PAU & GEORGE, 2014).

As principais metas da TARV são: a) alcançar completa e sustentada supressão viral, expressada por viremia abaixo dos níveis de detecção dos testes atuais; b) restaurar ou manter a função imunológica pelo incremento no número de células T CD4+; c) prolongar a sobrevida e melhorar a qualidade de vida; d) reduzir o risco de transmissão do HIV. Para alcançar estes objetivos, os clínicos e os pacientes devem reconhecer vários princípios-chaves: a) os esquemas ARVs atuais não erradicam o HIV e o rebote viral ocorre rapidamente após a descontinuação do tratamento, seguido pelo declínio do CD4 com potencial para progressão da doença; b) adesão rigorosa ao esquema prescrito é primordial para evitar o ressurgimento da replicação viral ou rebote viral e a potencial seleção de mutação de resistência; d) o esquema ARV combinado (TARVc) deve consistir preferencialmente de três drogas ativas (DHHS, GUIDELINES FOR THE USE OF ANTIRETROVIRAL AGENTS IN PEDIATRIC HIV INFECTION, 2016).

As classes dos ARV, dose, formulação da droga para crianças e adolescentes estão disponíveis no apêndice B. O esquema preferencial do DHHS, 2016 encontra-se na tabela 2. O esquema preferencial para início de tratamento em crianças e adolescentes deve ser composto por 3 drogas ARV: 2 ITRN associados ao IP/r ou ITRNN, vide tabela 3 (BRASIL-PCDT, 2014).

O uso do lopinavir/r como escolha preferencial no esquema inicial de crianças abaixo de 3 anos, baseia-se em superioridade da supressão viral comparado com a nevirapina (PALUMBO et al, 2010; PENAZZATO et al, 2014). O estudo P1060 demonstrou a superioridade de um esquema baseado em lopinavir/r (LPV/r) em comparação com um esquema baseado na nevirapina (NVP) em crianças infectadas pelo HIV-1 abaixo de 2 meses e em crianças com idades entre 2 meses e 35 meses, independentemente da prévia exposição materna ou infantil na profilaxia periparto de dose única de nevirapina (21,7% vs 39,6% de morte, falência virológica ou toxicidade na semana 24 com exposição prévia a NVP e 18,4% vs 40,1% sem exposição prévia a NVP) (VIOLARI et al, 2012).

O teste de genotipagem do HIV deve ser colhido antes do início do tratamento (genotipagem primária ou pré-tratamento) em crianças (PCDT, 2014; DHHS, 2016).

Inibidores da transcriptase reversa análogo aos nucleosídeos (ITRN) - Os ARV desta classe, após a fosforilação intracelular, inibem a transcrição reversa do RNA viral, mediante a ação competitiva com os nucleosídeos naturais, promovendo o término precoce da síntese do DNA pró-viral. O tenofovir (TDF) já se encontra originalmente fosforilado, sendo um análogo de nucleotídeo (AKANBI et al, 2012). Existem duas formulações de tenofovir: TDF (Tenofovir Disoproxil Fumarate) e recentemente foi aprovada pelo FDA o TAF (Tenofovir Alafenamide),

que já está disponível para uso nos Estados Unidos conforme os guidelines de 2016 (GULICK; IAS, 2015; DHHS, 2016 <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines>)

Quadro 3. Inibidores da Transcriptase Reversa (ITR) análogos aos nucleosídeo e nucleotídeo.

ITR análogos aos Nucleosídeos	
• ddI	– Adenosina
• 3TC	– Citosina
• ddC	– Citosina
• AZT	– Timidina
• d4T	– Timidina
• ABC	– Guanossina
ITR análogos aos Nucleotídeos	
• TDF	– Adenosina

ddI- didanosina; 3TC- lamivudina; FTC-emtricitabine; ddC-zalcitabina, AZT- azidotimidina; d4T- estavudina, ABC-abacavir, TDF- tenofovir. Nucleotídeo: base nitrogenada (purina ou pirimidina) que forma o conteúdo genético de um ser vivo. Adaptada AKANBI, 2012.

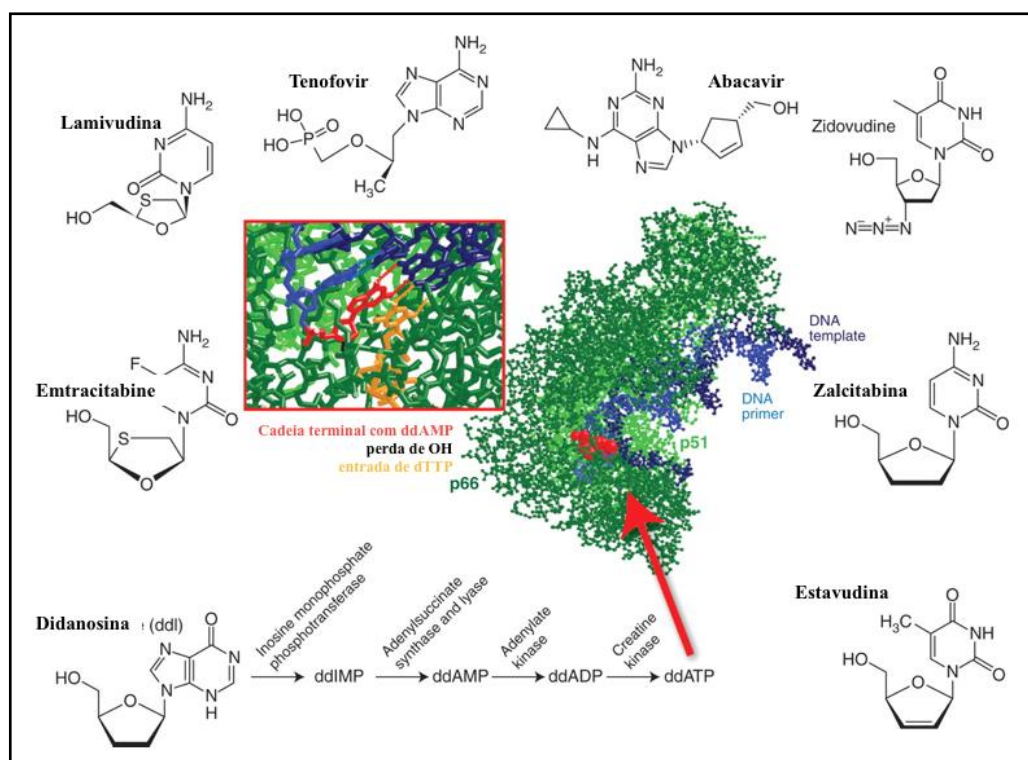


Figura 5 -Inibidores da transcriptase reversa análogos aos nucleos(t)ídeos e a estrutura da transcriptase reversa do HIV-1 no complexo do molde/ primer de DNA com a cadeia terminal com ddAMP e dTTP. Adaptada Eric J. Arts, and Daria J. Hazuda. Cold Spring Harb Perspect Med 2012;2:a007161 <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/cgi/collection/>

Inibidores da transcriptase reversa não análogos aos nucleosídeos (ITRNN) - As drogas desta classe também inibem a síntese de DNA pró-viral, no entanto, diferentemente dos ITRN,

atuam na interação direta da região hidrofóbica da TR, localizada próxima ao sítio de ligação do substrato na enzima, causando inibição alostérica da sua função (HERSCHHORN, 2010).

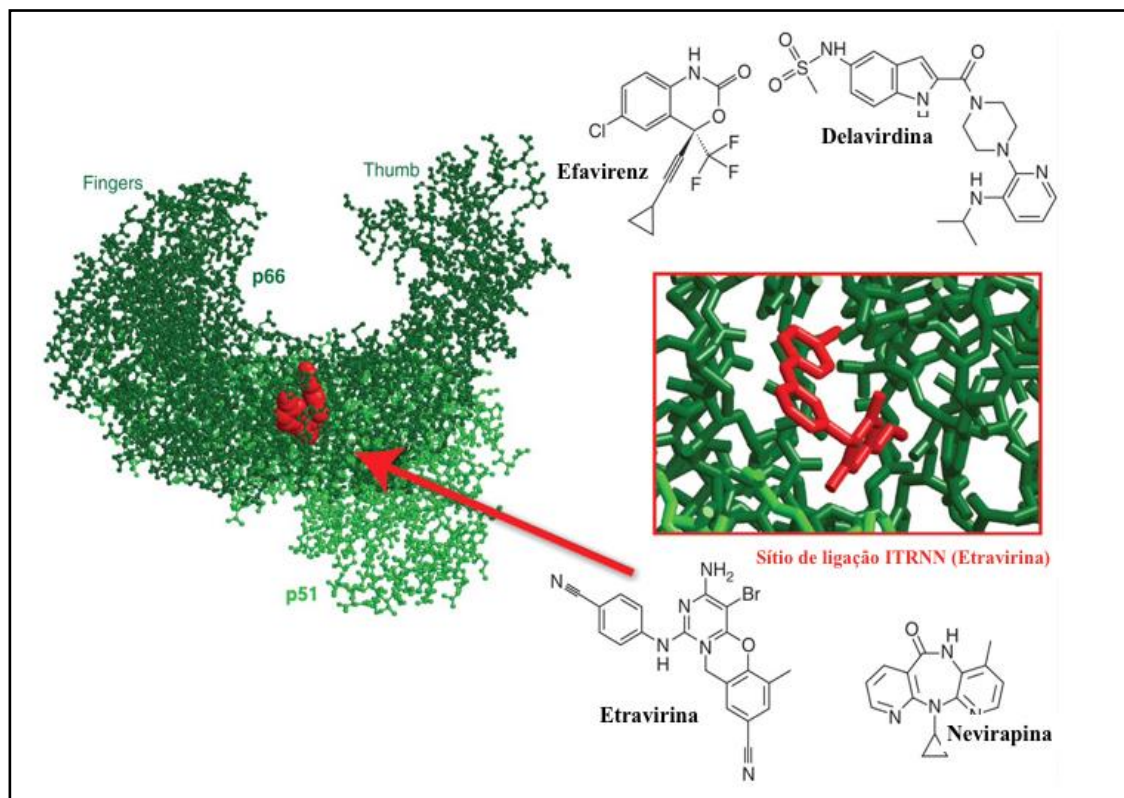


Figura 6 -Inibidores da transcriptase reversa não análogos aos nucleosídeos (ITRNN) e a estrutura da transcriptase reversa (TR) do HIV-1 com a Etravirina.
Adaptada Eric J. Arts, and Daria J. Hazuda. Cold Spring Harb Perspect Med 2012;2:a007161.
<http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/cgi/collection/>

Inibidores da protease (IP) - A ação do IP ocorre na interação direta com o sítio catalítico da protease do HIV-1, impedindo a clivagem da poliproteína viral em proteínas (simples e funcionais), a maturação e a infectividade do vírus. A biodisponibilidade do IP no meio intracelular é fundamental para a eficácia desses agentes. Dessa forma, para que se obtenha um alto nível sérico intracelular seria necessária a administração de quantidades tóxicas de medicamentos. Os IP reforçados com o ritonavir (RTV), utilizado em baixas doses de 100 a 200mg ao dia, alcançam e mantêm altos níveis no meio intracelular sem a necessidade de ingestão de altas doses de IP, já que a eliminação desse fica retardada pelo RTV ao inibir sua metabolização via citocromo p450 (CYP450). Os inibidores da protease sem o reforço de ritonavir possuem meia vida plasmática curta e requerem várias administrações diárias.

Um grande avanço ocorreu com o desenvolvimento dos IP não peptídicos, como o darunavir (DRV) e o tipranavir (TPV). Uma das barreiras para a manutenção de níveis adequados de IP no meio intracelular é a hidrólise desses medicamentos por enzimas (glicoproteína P) responsáveis pela degradação de tais substâncias. Os IP não peptídicos são menos suscetíveis à hidrólise intracelular, sendo que isto funcionaria como um *booster* adicional para tais medicamentos. Além disso, a potência de ligação do IP com o sítio ativo da PR contribui muito com a eficácia específica de um IP na presença de vírus mutantes. A potência da ligação do IP com o sítio ativo da PR é uma função dependente da capacidade de reconhecimento do sítio ativo ao qual o IP deve se ligar e da estabilidade dessa ligação. A diminuição da hidrólise intracelular, a potência da ligação do IP com a protease e o perfil de resistência diferenciado dos IPs não peptídicos contribuem para a sua eficácia no tratamento de resgate para pacientes portadores de HIV com mutações de resistência na protease (PR) (DIAZ, 2011).

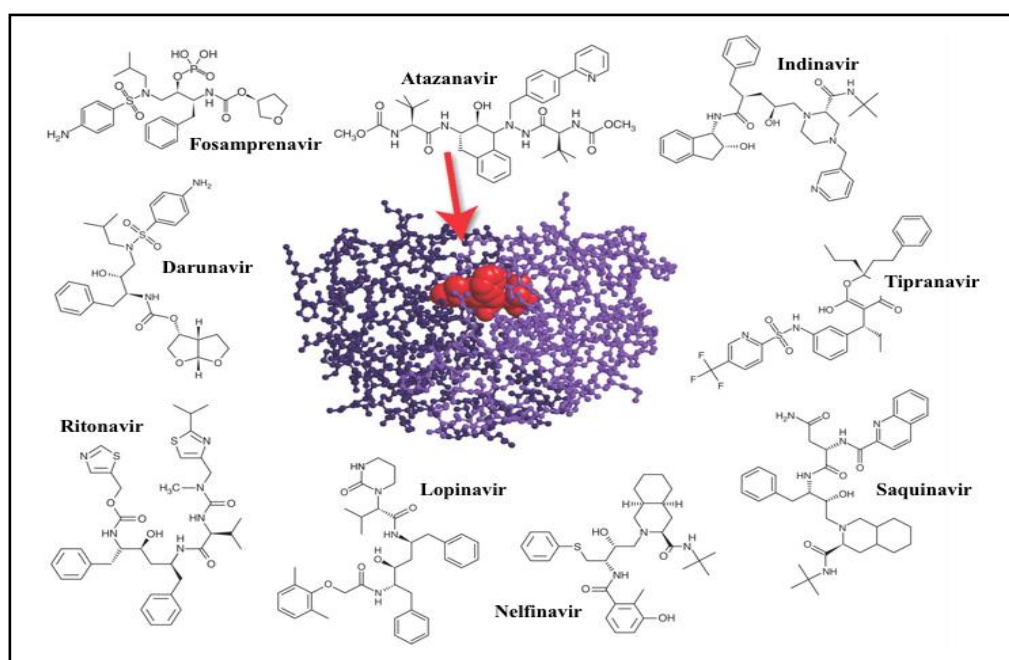


Figura 7- Inibidores da protease e o complexo da estrutura em cristal da protease do HIV-1 com o Atazanavir. Adaptada Eric J. Arts, and Daria J. Hazuda. Cold Spring Harb Perspect Med 2012;2:a007161. <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/cgi/collection/>

Inibidores da integrase (INSTI-strand transfer inhibitor) - Os inibidores da integrase bloqueiam a enzima por catalisar a formação das pontes covalente entre o DNA do hospedeiro e o DNA viral; isto por sua vez impede a incorporação do DNA viral ao cromossomo do hospedeiro.

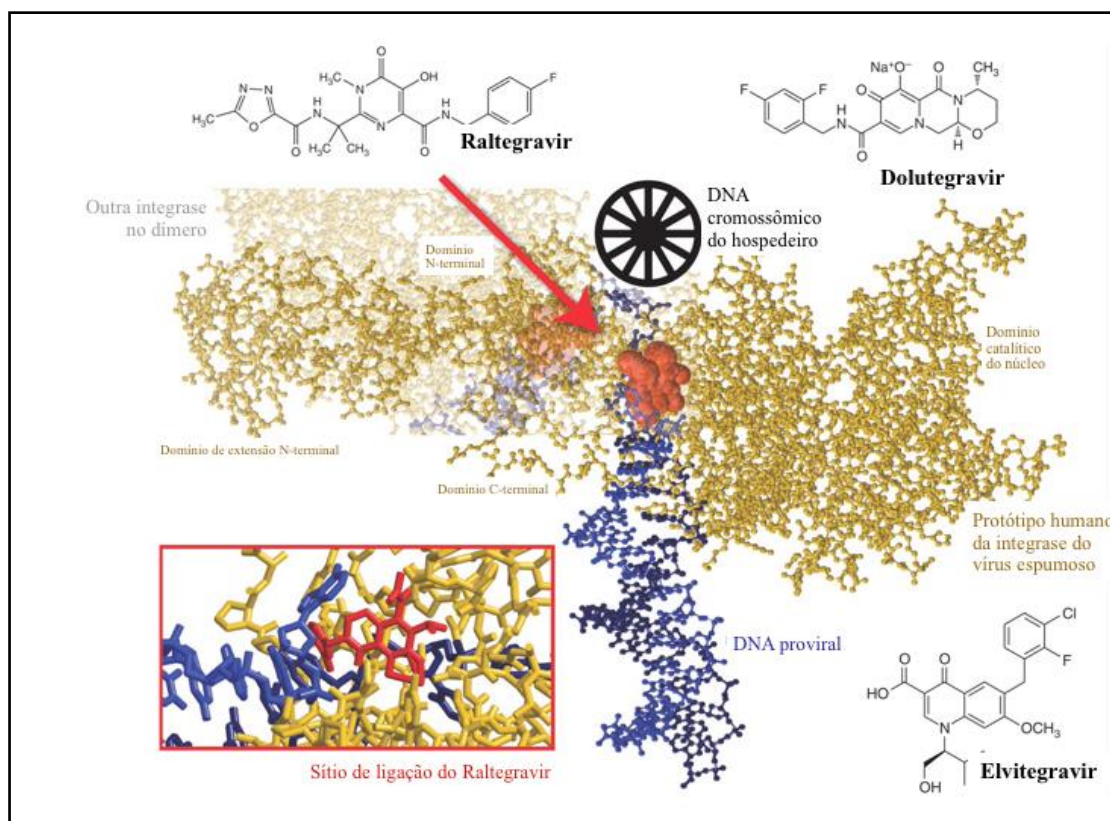


Figura 8- Inibidores da integrase e a estrutura do complexo dsDNA humano e o cristal do protótipo integrase do vírus (como um modelo do HIV-1) e o Raltegravir. Adaptada Eric J. Arts, and Daria J. Hazuda. Cold Spring Harb Perspect Med 2012; 2:a007161. <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/cgi/collection/>

Inibidores de entrada: Inibidor de fusão e inibidor de co-receptor CCR5- O inibidor de fusão, a enfuvirtida (ENF) ou T-20, mimetiza a fração HR1 (*heptad-repeat*) da gp41, ligando-se e ocupando espaço na fração HR2 que se fixa no envelope viral. Essa ligação bloqueia o mecanismo de 'zipagem' ou união da HR1, ancorado na membrana celular com a HR2. Atuam na fusão da membrana da célula do hospedeiro ao envelope viral. O antagonista de CCR5, maraviroque (MVC), único nesta classe, seletivamente liga-se ao receptor humano CCR5 na membrana celular, bloqueando a interação da gp120 do HIV no receptor CCR5 para vírus trópico. Deve-se realizar previamente o teste de tropismo para confirmar se o vírus usa o co-receptor CCR5.

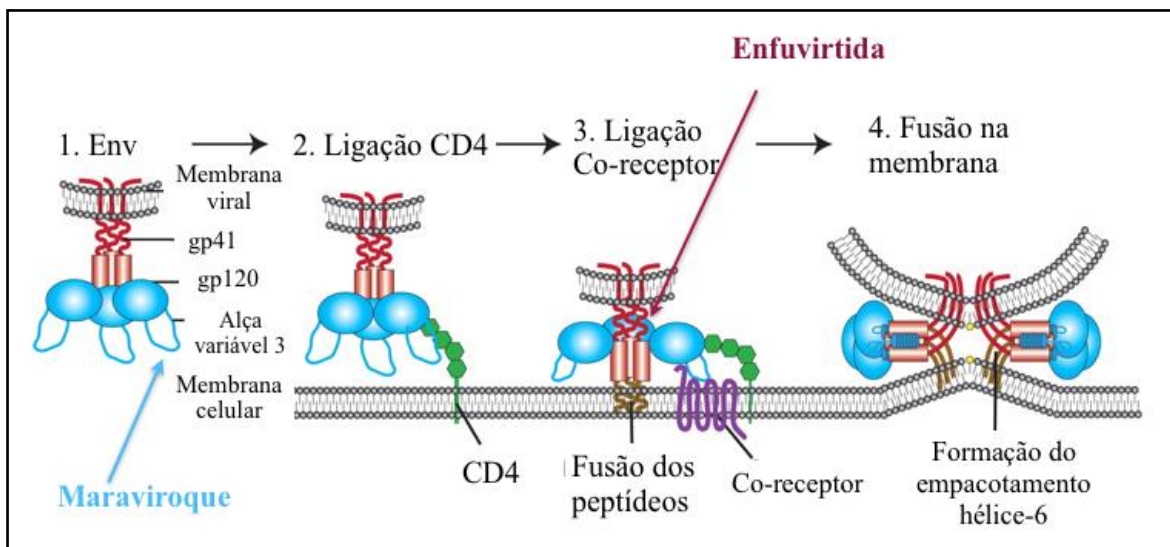


Figura 9- Sumário da entrada do HIV na célula. Para liberar o vírus dentro da célula, o envelope (Env) do HIV composta pelas subunidades da gp120 e gp41 (1), primeiro fixa-se na célula do hospedeiro, ligando-se ao CD4 (2). Isso causa mudanças conformacionais no Env, permitindo a ligação do co-receptor, que é mediada em parte pela alça V3 de Env (3). Isto inicia o processo de fusão da membrana como a fusão do peptídeo de gp41 que se anexa à membrana alvo, seguida da formação do agrupamento da hélice-6 e a fusão completa da membrana (4). Adaptada Craig B. Wilen et al. Cold Spring Harb Perspect Med 2012;2:a006866. <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/cgi/collection/>

Tabela 2 -Esquemas recomendados para o início de tratamento antirretroviral em Crianças e Adolescentes- DHHS 2016.

Faixa etária	Preferencial	Esquema alternativo
Crianças ≥ 14 dias e < 2 anos	2 ITRN + LPV/r	2 ITRN preferencial - RN até $< 3m$: AZT+ (3TC ou FTC) - > 2 anos: ABC + (3TC ou FTC) AZT + (3TC ou FTC)
Crianças ≥ 2 anos e $< 3a$	2 ITRN + LPV/r 2 ITRN+ RAL	ABC + (3TC ou FTC) AZT + (3TC ou FTC)
Crianças ≥ 3 e < 12 anos	2 ITRN + ATV/r 2 ITRN + DRV/r 2x 2 ITRN + EFV 2 ITRN + LPV/r 2 ITRN + RAL	ABC + (3TC ou FTC) AZT + (3TC ou FTC)
Adolescentes ≥ 12 anos e sem maturidade sexual (I-III)	2 ITRN + ATV/r 2 ITRN + DTG 2 ITRN + DRV/r 1 X dia 2 ITRN + EVG/c	ABC + (3TC ou FTC) TAF + (3TC ou FTC)
Adolescentes ≥ 12 anos e maturidade sexual: E. Tanner (IV ou V)	Guidelines Adultos e adolescentes	

ITRN- inibidor da transcriptase reversa análogo ao nucleos(t)ídeo; LPV/r- lopinavir; /r- reforço de ritonavir; RN- recém-nascido; AZT- azidotimidina; 3TC- lamivudina; FTC- Emtricitabine; ABC- abacavir; RAL- raltegravir; ATV- atazanavir; DRV- darunavir; EFV- efavirenz; DTG- dolutegravir; /c- reforço de cobicistat.

Estágio de maturidade sexual de Tanner (anexo C)

Fonte: Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection, DHHS 2016

Adaptada de <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines> acesso 28/03/2016

Tabela 3 - Regimes recomendados para o tratamento Antirretroviral inicial em Crianças e Adolescentes, PCDT, 2014.

PCDT Crianças e Adolescentes 2014: Esquema de terapia inicial : primeira linha
Crianças e adolescentes <35kg de peso corporal AZT + 3TC + ITRNN NVP: crianças <3 anos EFV: crianças ≥3 anos
Crianças e adolescentes ≥ 35kg de peso corporal TDF + 3TC + EFV*
Escolha preferencial de TARV duplo ITRN
2 combinações de ITRN: Preferencial → AZT + 3TC Alternativo → ABC + 3TC ou ddI + 3TC
Pós puberal ou estagio Tanner 4: TDF + 3TC
Regime baseado ITRNN
Regime preferencial → criança > 3a : 2 ITRN + EFV Alternativo → criança < 3a: 2 ITRN + NVP
Regime baseado Inibidor Protease (IP)
Regime preferencial → 2 ITRN + LPV/r (> 14 dias) Alternativo → 2 ITRN + ATV/r (criança > 6a) 2 ITRN + FPV/r (criança > 2a)

ITRN- inibidor da transcriptase reversa análogo ao nucleos(t)ídeo; **LPV/r**- lopinavir; **/r**- reforço de ritonavir; **AZT**- azidotimidina; **3TC**- lamivudina; **ABC**- abacavir; **ATV**- atazanavir; **EFV**- efavirenz; **NVP**- nevirapina; **ddI**- didanosina. Estágio de maturação sexual de Tanner (anexo 3)
 Adaptada PCDT: Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Crianças e Adolescentes, 2014. Disponível: www.aids.gov.br/publicacoes

1.5 Resistência Antirretroviral e Teste de Resistência

O desenvolvimento da terapia antirretroviral combinada, potente o suficiente para impedir o aparecimento de resistência do HIV às drogas, foi fundamental para a terapia bem sucedida. Devido à expansão do número e novas classes de ARV, a supressão virológica tornou-se alcançável mesmo em pacientes que falharam aos vários esquemas ARV previamente utilizados. No entanto, a aquisição e a transmissão de resistência do HIV às drogas tem sido um obstáculo contínuo para o sucesso da TARV. Os pacientes que adquirem ou são primariamente infectados por cepas de HIV-1 resistentes às drogas tem menos opções de tratamento e estão sob risco elevado de morbidade e mortalidade, particularmente em países em desenvolvimento onde as opções de ARV são limitadas (PALELLA, 2009). Identificar e compreender a resistência do HIV às drogas pode, portanto, impedir que os clínicos prescrevam ARV com atividade mínima e escolham novos ARV que são plenamente ativos ou quase completamente ativos (TANG & SHAFER, 2012).

1.5.1 Bases Biológicas para a Resistência aos ARV

Existem variações substanciais do HIV-1 nos pacientes infectados. Tais variações são devidas à alta taxa de replicação viral, aos níveis elevados da carga viral e aos erros cometidos durante a replicação viral. Geralmente os indivíduos são infectados com um único ou poucos clones originais, mas uma estimativa de 10^{10} vírions são produzidos cada dia em indivíduos não tratados, resultando em incontáveis variantes de vírus, denominados de *quasispecies*. A complexidade das *quasispecies* do HIV-1 é também acrescida pela alta taxa de recombinação que ocorre sempre que mais que uma variante viral infecta a mesma célula. Além disso, as variantes de vírus latentes arquivadas nos cromossomos das células infectadas podem periodicamente ser reativadas, complicando ainda mais o espectro de variantes do vírus nos pacientes infectados (TANG; SHAFER, 2012). No entanto, a raiz da diversidade do HIV-1 está relacionada com mutações que surgem durante a replicação retroviral. A capacidade de rapidamente se diversificar permite ao HIV-1 escapar do sistema imune do hospedeiro, alterar seu tropismo e desenvolver resistência aos ARV. Consequentemente, a infidelidade da replicação contribui para a capacidade de adaptação e adequação do vírus (ABRAM, 2010).

As mutações podem ocorrer em três fases da replicação retroviral: (i) quando o RNA viral é transcrito do pró-vírus pela polimerase II do RNA dependente do DNA do hospedeiro, (ii) quando o genoma do RNA viral de fita única é convertido em DNA de cadeia dupla pela transcriptase reversa (TR) do vírus, ou (iii) quando o pró-vírus é copiado pela polimerase do DNA do hospedeiro. Vários pesquisadores sugerem que a TR é a causa principal das mutações que ocorrem durante a replicação do HIV-1 (ABRAM, 2010).

A transcriptase reversa dos *lentivirus* exibe ou possui uma infidelidade que é mais expressiva que das outras polimerases envolvidas na replicação do ácido nucleico. A taxa de mutação do HIV-1 é aproximadamente 10^{-4} nucleotídeos por ciclo de replicação, uma ordem de mais alta magnitude que das outras polimerases celulares. A geração de diversidade de nucleotídeos do HIV-1 tem sido amplamente atribuída à falta de atividade da *exonuclease* 3'-5' na parte interna da TR. Embora esta falta de habilidade (ou incapacidade) de *proofreading* justifique (ou explique) uma parte (proporção) significativa da taxa de erro da TR, outras características desta enzima contribuem para a mudança do nucleotídeo em combinação com o alto nível de replicação viral (WHITNEY *et al*, 2011). Quanto a replicação do DNA celular, tem uma maior fidelidade, com uma taxa de mutação entre 10^{-9} e 10^{-12} mutação/pb/por ciclo, o que faz a DNA polimerase do hospedeiro ter uma contribuição insignificante para os erros que surgem durante a replicação ativa do HIV-1. Embora a contribuição dos erros cometidos pela RNA polimerase II do hospedeiro para a fidelidade da replicação do HIV-1 não ser conhecida, poderia ser significativa. Fatores do hospedeiro também podem contribuir para a taxa global de erro do HIV-1. Na ausência de *Vif* (*Viral infectivity factor*) do HIV-1, a APOBEC3G pode causar vastas mutações G (guanina) para A (adenina) pela deaminação de citidina na fita *minus* do DNA viral. É possível que as enzimas de reparo do DNA do hospedeiro causem mutações no DNA viral recentemente sintetizados (ABRAM, 2010).

1.5.2 Potência e Barreira Genética dos ARV

A eficácia do tratamento é uma função direta de dois fatores: a potência e o potencial de durabilidade do esquema antirretroviral instituído. A potência *in vivo* de um medicamento é definida pela determinação da queda da carga viral (CV) em voluntários humanos infectados pelo HIV expostos a períodos curtos de monoterapia com esse medicamento. Esses períodos variam entre 10 a 14 dias, e, normalmente, os voluntários são expostos a doses diferentes dos

ARV para que se defina a menor dose que proporcione a maior queda de CV. A potência de vários medicamentos de classes diferentes pode ser vista na figura 11 (DIAZ, 2011).

O potencial de durabilidade do esquema antirretroviral é fundamental para sua eficácia, ou seja, a manutenção máxima da supressão viral. A durabilidade tem relação direta com a barreira genética do esquema antirretroviral a ser utilizado. Define-se barreira genética como a facilidade com que o vírus desenvolve resistência frente aos medicamentos em uso pelo paciente. Nesse caso, quando a resistência emerge rapidamente com o uso de um determinado medicamento ou associação de medicamentos, consideramos a barreira genética como sendo baixa. Mutações preexistentes de resistência podem, *a priori*, diminuir a barreira genética de um medicamento a ser utilizado, o que ocorre na resistência cruzada ou quando há transmissão de vírus resistentes (resistência transmitida ou primária) (DIAZ, 2011).

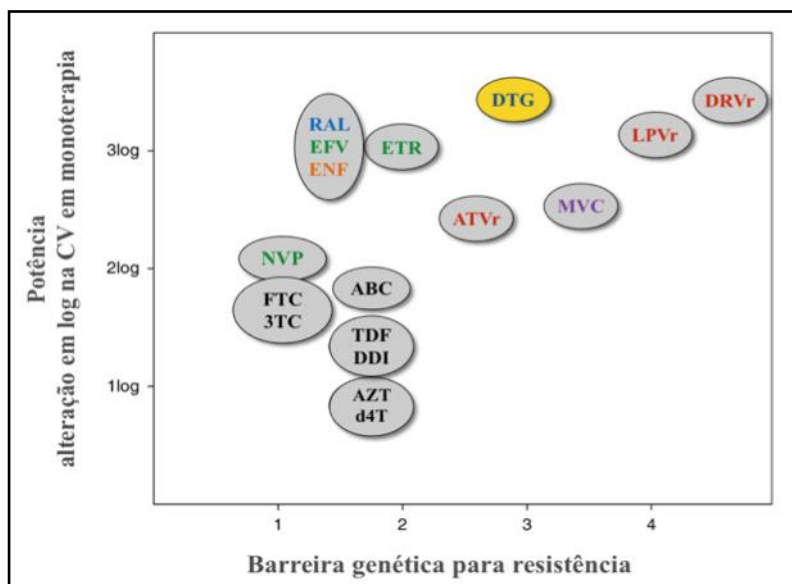


Figura 10. Diagrama esquemático da barreira (BG) para resistência e potência de ARV selecionados. A BG para resistência e potência (atividade antiviral) de um ARV determina em grande parte como o ARV é suscetível para o desenvolvimento de resistência para o HIV-1. Esta figura ilustra a BG e potência dos ARV comumente utilizados. Os ITRN são mostrados em preto, os ITRNN em verde, os IPs em vermelho, os inibidores da integrase em azul, o maraviroque (MVC) em lilás e a enfuvirtida (ENF) em laranja. O dolutegravir (DTG), um INI está em amarelo, foi aprovado pelo FDA em 2013. CV=carga viral. Adaptada de TANG & SHAFFER, 2012.

A potência *in vivo* também deve ser considerada para a associação de medicamentos. Um esquema de drogas, contendo três análogos aos nucleosídeos padeceria não só de fragilidade em sua barreira genética, mas também da limitada potência para inibição da replicação do HIV, o que fica mais óbvio na dificuldade da supressão viral quando a CV é elevada, ou seja, superior a 100.000 cópias/mL (DIAZ, 2011).

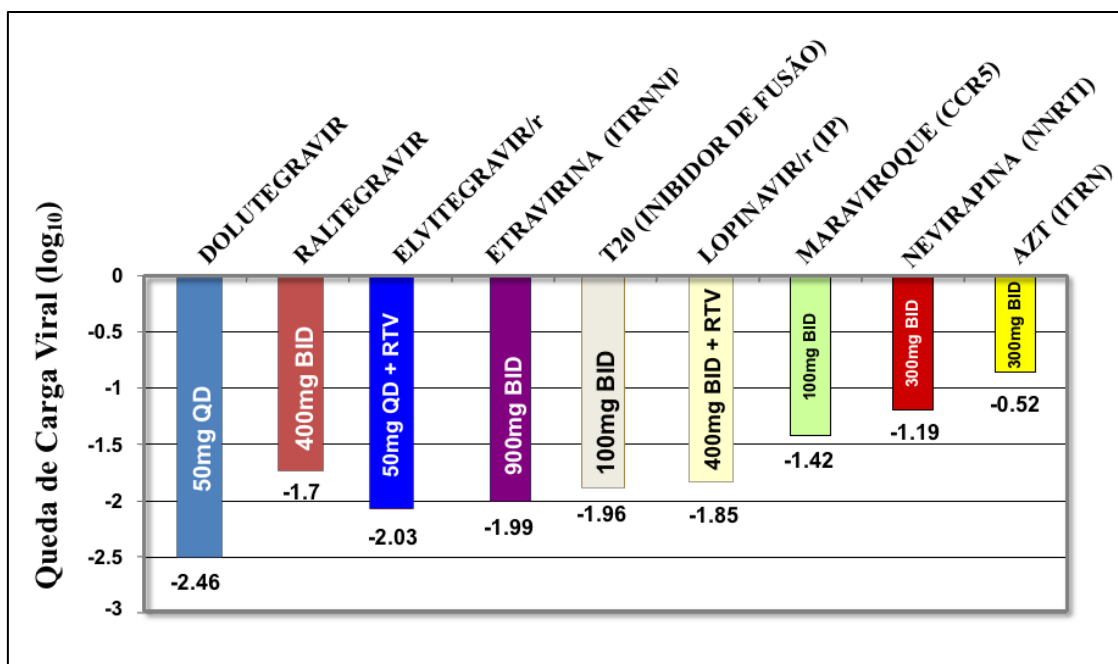


Figura 11. Potência de diversos ARVs. A potência dos ARVs é medida pela exposição a períodos curtos em monoterapia. Adaptada de DIAZ, 2011

A barreira genética de um ARV pode ser aferida *in vitro* ou *in vivo*. Os testes *in vitro* normalmente comparam medicamentos de uma mesma classe para definição em cultura sobre o tempo necessário para que haja desenvolvimento de mutações de resistência. A barreira genética *in vitro* da NVP é inferior à do EFV, que, por sua vez, é inferior à da ETR. Mesmo na presença de vírus com mutações selecionadas pela NVP e EFV, Y181C, K103N ou ambas, a barreira genética *in vitro* é elevada para a ETR (TOWNER, 2010; VINGERHOETS, 2010).

De forma semelhante, a barreira genética *in vitro* para os IP não peptídicos TPV e DRV é maior do que a barreira genética de todos os outros IP (CLOTET, 2007; HICKS, 2006).

Quando se investiga a barreira genética dos inibidores de integrase *in vitro*, conclui-se que a barreira genética do DTG é maior que a do RAL e do EVG, em que a seleção de mutações de resistência nas culturas aconteceu com um grande retardo (AKIL, 2015).

Com relação ao que ocorre *in vivo*, didaticamente divide-se a barreira genética em três grupos: um grupo que leva em consideração o número de mutações necessárias para o decréscimo do efeito antirretroviral, e que, fundamentalmente, tem relação com os IP; o

segundo grupo, que leva em conta a rapidez com que uma mutação é selecionada e tem mais relação com os ITRs, e um terceiro grupo, que leva em consideração o perfil de mutações necessárias para resistência a um esquema antirretroviral. Deve-se ter em conta que, enquanto a capacidade de supressão a níveis indetectáveis tem relação com a potência do medicamento ou esquema antirretroviral, a durabilidade do esquema ou do medicamento tem relação com a barreira genética. Como exemplo de fármaco potente e de baixa barreira genética teríamos o T-20, em que uma única mutação na gp41 levaria à perda da ação do medicamento e consequente baixa durabilidade do tratamento em caso de replicação viral na presença desse medicamento”(DIAZ, 2011).

1.5.3 Barreira Genética e Número de Mutações

Os inibidores da TR apresentam uma menor barreira genética relacionada ao número de mutações para que haja resistência, sendo que, em alguns casos, uma única mutação pode causar um impacto considerável na suscetibilidade ao medicamento em questão. Por sua vez, os IP necessitam de um número maior de mutações para que a resistência seja completa (DIAZ, 2011).

Quando os IP são usados sem o incremento do RTV, são necessárias, no mínimo, três mutações, sendo que pelo menos uma mutação deve ser do tipo principal; ou mais de quatro mutações na ausência de mutações principais. Quando usados em combinação com baixas doses de RTV, que possibilita aos IP atingirem altos níveis séricos basais, é necessário um número maior de mutações, que variariam entre seis a dez mutações, para que haja resistência ampla. Entretanto, quando o vírus apresenta mutações de resistência, a potência do IP/r fica reduzida e novas mutações de resistência podem ser selecionadas fazendo com que ocorra um aumento na resistência cruzada e a restituição da capacidade replicativa do vírus (*fitness*). Um avanço nesse sentido ocorreu com o desenvolvimento dos IP não peptídicos, como o DRV e o TPV. Uma das barreiras para a manutenção de níveis adequados de IP no meio intracelular é a hidrólise desses medicamentos por enzimas responsáveis pela degradação de tais substâncias. Os IPs não peptídicos são menos suscetíveis à hidrólise intracelular, sendo que isso funcionaria como um *booster* adicional para esses medicamentos. Além disso, a potência de ligação do IP com o sítio ativo da PR contribuiria muito com a eficácia específica de um IP na presença de vírus mutantes. A potência da ligação do IP com o sítio ativo da PR é uma função da assim chamada capacidade de reconhecimento do sítio ativo ao qual o IP deve se ligar e da

estabilidade dessa ligação, variáveis que podem ser investigadas *in vitro*. A diminuição da hidrólise intracelular, a potência da ligação do IP com a protease e o perfil de resistência diferenciado dos IP não peptídicos contribuem para a sua eficácia no tratamento de resgate para pacientes portadores de HIV com mutações de resistência na protease (DIAZ, 2011).

1.5.4 Barreira Genética e Facilidade na Seleção de Mutações

Como referido, geralmente são necessárias poucas mutações para que haja resistência aos inibidores da TR, na maior parte das vezes uma única mutação seria suficiente. Algumas mutações são selecionadas com muita facilidade e rapidez por alguns ARV, como a mutação M184V pelo 3TC. Da mesma forma, mutações selecionadas pela NVP e pelo EFV podem ocorrer com facilidade. Estudos demonstraram que aproximadamente metade dos pacientes falhando ao tratamento inicial contendo dois ITRN e EFV apresentará mutações de resistência ao EFV (RIDDLER, 2008). Desses com resistência ao EFV, metade apresentará a mutação M184V em decorrência do uso do 3TC ou FTC, e não haverá emergência de resistência a outro ITRN (TDF, ABC, ZDV) (SAX, 2009). Já medicamentos como o ddI, por exemplo, necessitam também de uma única mutação específica, mas estas são selecionadas a partir de um período de tempo bem superior de exposição a esse fármaco (mutações específicas como as dos códon 65, 69 e 74).

A barreira genética da ETR é inferior entre pacientes falhando a ITRNN em comparação aos IP/r.

No estudo SWITCHMRK, a falha e a resistência ocorreram mais frequentemente ao RAL comparadas ao LPV/r, devido a menor barreira genética do RAL (ERON, 2010).

A barreira genética para desenvolvimento de resistência à T-20 é extremamente baixa, sendo que duas semanas de viremia é suficiente para proporcionar resistência ao medicamento em praticamente todos os casos (HICKS, 2006; MELBY, 2006). Poder-se-ia dizer que o maraviroque tem uma barreira genética elevada, posto que somente a minoria, cerca de 1/3 dos pacientes em falha virológica, apresenta vírus com a mudança do tropismo para o uso do receptor CXCR4 (GULICK, 2008).

1.5.5 Barreira Genética e Associação de ARV

Em um estudo que randomizou pacientes virgens de tratamento, um grupo (n = 92) foi tratado com ABC/3TC e EFV, comparando com outro grupo (n=102) tratado com ABC/3TC e TDF. Após 48 semanas, 49% dos pacientes do braço ABC/3TC/TDF apresentaram falha virológica, comparados a 5,4% do braço ABC/3TC/EFV. Quase a totalidade dos pacientes em falha no braço do TDF apresentou a emergência das mutações M184V e K65R. A mutação M184V confere resistência ao 3TC e a mutação K65R ao TDF; a associação de ambas causa resistência ao ABC (GALLANT, 2005). Portanto, são necessárias apenas duas mutações para resistência completa no esquema ABC/3TC/TDF, caracterizando uma barreira genética extremamente baixa.

O mesmo ocorre em esquemas que utilizam a combinação de ZDV/3TC/ABC onde somente duas mutações são suficientes para comprometer seriamente a eficácia do esquema (códon 215 e 184). O estudo ACTG 5095 randomizou pacientes para receberem ZDV/3TC/ABC (n = 382) ou ZDV/3TC/EFV (n = 765), sendo que 21% dos pacientes falharam no braço do ABC, comparados a 11% no braço de EFV (MUGAVERO, 2011).

Um estudo comparando TDF/FTC e ABC/3TC demonstrou de forma inequívoca que, para níveis elevados de CV (superiores a 100.000 cópias/mL), o desempenho da dupla TDF/FTC foi superior ao ABC/3TC. Em ambos os casos, a mutação que ocorreria mais precocemente seria a M184V, mutação selecionada tanto pelo FTC quanto pelo 3TC. No entanto, a mutação M184V piora a susceptibilidade ao ABC, enquanto que melhora a ação do TDF (SAX, 2009).

Os estudos que comparam dois ITRN com ITRNN ou IP/r confirmam que o desempenho dos braços usando ITRNN (EFV ou NVP) é superior ou igual ao braço contendo IP/r. A diferença encontra-se normalmente na emergência de resistência por ocasião da falha. A falha aos esquemas contendo IP/r não demonstram desenvolvimento de resistência aos IP e menor incidência de mutações para os ITRN (RIDDLER, 2008; SORIANO, 2011).

1.7 Mecanismo de Resistência do HIV

O vírus torna-se resistente por vários fatores: aqueles inerentes ao HIV; baixa aderência à terapêutica; questões farmacológicas; os intrínsecos do indivíduo; toxicidade e interação

medicamentosa. Todos eles acarretam concentração subótima dos ARV na célula infectada, gerando a seleção de cepas resistentes às drogas ARV. Como o objetivo principal da TARV é suprimir efetivamente a replicação viral, grande é o desafio para atingir esta meta, uma vez que a adequada adesão depende da compreensão plena do paciente em relação à necessidade continuada, interminável, da manutenção da TARV, de acordo com o conhecimento atual (COHERE, 2011).

A resistência do HIV é definida pela presença de mutações que reduzem a suscetibilidade do vírus às drogas ARV, quando comparado ao vírus selvagem. A nomenclatura das mutações é definida baseado nas diferenças dos aminoácidos de uma sequência de referência. Para indicar uma mutação, usa-se a letra referente ao aminoácido consenso, seguido do número da posição do códon e da letra referente ao aminoácido da mutação (SHAFFER, 2007).

Por exemplo, a mutação M184V, significa que na posição do códon 184, o aminoácido metionina (M) do consenso foi substituído pelo aminoácido valina (V).

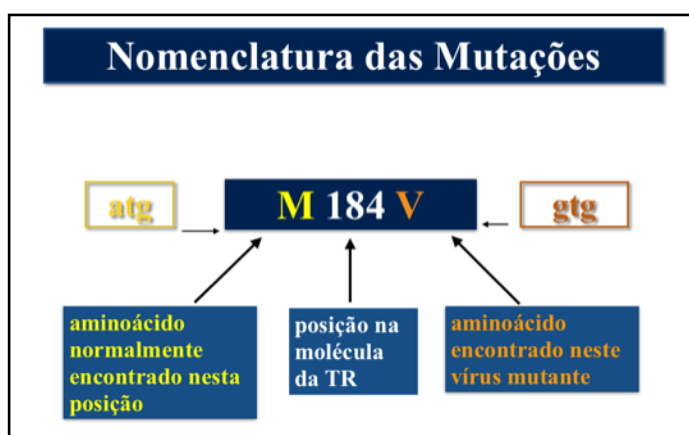


Figura 12. Nomenclatura das mutações do HIV frente aos ARV. A mutação M184 é selecionada pela pressão seletiva da lamivudina. A metionina (M) no códon 184 da transcriptase reversa é o aminoácido consenso (vírus selvagem) e a valina (V) é o aminoácido do vírus com mutação.

Mecanismo de resistência aos ITRN: Os mecanismos pelos quais as mutações na TR causam resistência aos ITRN têm sido categorizados em dois grupos: (i) mutações que propiciam um aumento na habilidade da TR do HIV-1 em discriminar entre o ITRN e o substrato natural, levando a uma incorporação preferencial do último e (ii) mutações que aumentam a habilidade da enzima em eliminar o ITRN que se encontra ligado ao final da cadeia com a função de impedir seu alongamento. Em outras palavras, no primeiro mecanismo, a enzima passa, por exemplo, a incorporar preferencialmente a citosina ao invés do 3TC a partir da presença da mutação de resistência presente em sua estrutura. As mutações de resistência que levam a uma diminuição da incorporação do falso nucleotídeo são também denominadas de mutações

discriminatórias. No segundo, a ZDV, que se encontraria ligada no final da cadeia de nucleotídeos impedindo a continuação da TR seria retirada, possibilitando a incorporação da timidina. Para ilustrar melhor esse último, na TR com mutações de resistência à ZDV haveria uma incorporação de ZDV no final da cadeia sendo polimerizada de forma quase tão eficiente como na presença da TR sem mutações de resistência. Entretanto, as mutações de resistência aumentariam a habilidade da TR em retirar a molécula de ZDV presente no final dessa cadeia. Tal retirada é catalisada por uma pirofosfatase que retira o fósforo da ZDV, proporcionando o desprendimento da ZDV em um mecanismo denominado “excisão” (CLAVEL & HANCE, 2004). Mutações relacionadas à resistência à ZDV provavelmente aumentam a afinidade dessas pirofosfatases com a enzima mutante. Essa capacidade aumentada de excisão da enzima mutante não é específica para a ZDV, o que ajuda a explicar a enorme resistência cruzada entre a ZDV e outros ITRN (TANG & SHAFER, 2012). As mutações selecionadas pelos análogos da timidina (TAM) incluem M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y e K219Q/E. As mutações discriminatórias mais comuns são M184V/I, K65R, K70E/G, L74V, Y115F e o complexo de mutação Q151M (figura 13).

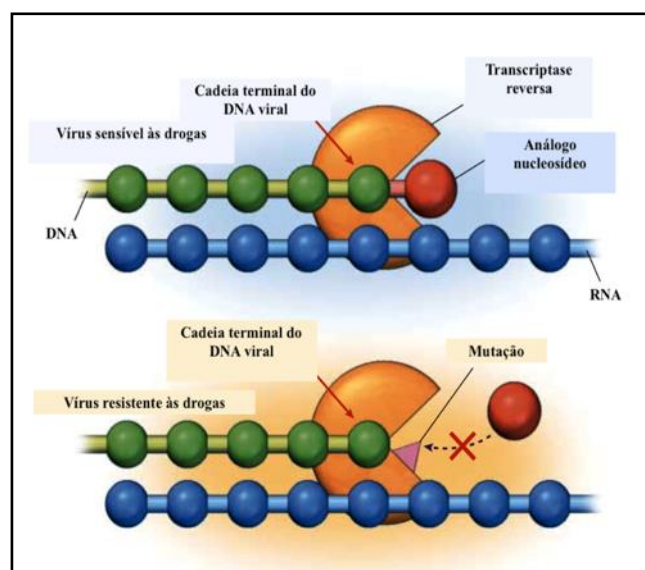


Figura 13. Resistência pela interferência com a incorporação dos Análogos de Nucleosídeos. A incorporação de um análogo nucleosídeo em vírus sensíveis às drogas resulta na interrupção da cadeia do DNA viral. As mutações de vírus resistentes às drogas impedem a incorporação do análogo de nucleosídeo para o alongamento da cadeia do DNA viral. Mutações: 184V, 65R, 70E/G, 74V, 115F, 151M. Adaptada de CLAVEL & HANCE, 2004.

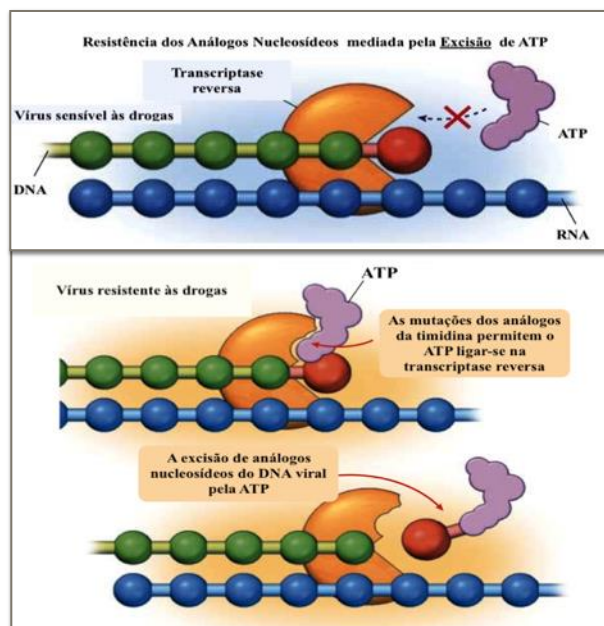


Figura 14. Resistência aos Análogos de Nucleosídeos por excisão mediada pelo ATP. O ATP nos vírus sensíveis às drogas não tem acesso à transcriptase reversa formado por um complexo com o análogo nucleosídeo. As mutações que causam resistência aos análogos de nucleosídeos referidas como *Thymidine Analogue Mutations* (TAMs), permitem o ATP ligar-se próximo da extremidade 3' terminal do DNA viral pela incorporação do análogo nucleosídeo. O ATP então retira o análogo do DNA viral, permitindo que a transcrição reversa prossiga normalmente. Mutações: 41L, 67N, 70R, 210M, 215Y, 219E. Adaptada de Clavel & Hance, 2004

Quadro 4. Sinopse das mutações de resistência dos ITRN.

	Mutações Discriminatórias					Mutações dos análogos da timidina (TAMs)						Mutações MDR	
Cons	184 M	65 K	70 K	74 L	115 Y	41 M	67 D	70 K	210 L	215 T	219 K	69 T	151 O
3TC	<u>VI</u>	R	E									Ins	M
FTC	<u>VI</u>	R	E									Ins	M
ABC	VI	<u>R</u>	E	<u>VI</u>	<u>F</u>	L			W	YF		<u>Ins</u>	<u>M</u>
ddI	VI	<u>R</u>				L			W	YF		<u>Ins</u>	<u>M</u>
TDF	***	<u>R</u>	E		F	L			W	YF		<u>Ins</u>	M
d4T	***	R	*	*		L		R	W	<u>YF</u>	QE	<u>Ins</u>	<u>M</u>
ZDV	***	***	*	*		L	N	R	W	<u>YF</u>	QE	<u>Ins</u>	<u>M</u>

As mutações são representadas pela posição numérica e código de letra do aminoácido. O aminoácido consenso da sequência do tipo selvagem é representado por letras na linha superior, enquanto que os aminoácidos das mutações estão abaixo. **Negrito e sublinhado** indica resistência clínica ou fenotípica relevante; **negrito** indica contribuição importante para resistência; texto sem formatação indica primariamente contribuição acessória para resistência. Asterisco (***) representa aumento da suscetibilidade para a droga se a mutação está presente. **Cons**= consenso do tipo selvagem; **TAMs**: *Thymidine analog mutations*; selecionadas pelo AZT ou d4T. **Ins**= inserção; **MDR**= *Multi-drug resistance mutations*; a T69ins ocorre com TAMs; a Q151M ocorre com as Nao-TAMs e as mutações acessórias A62V, V75I, F77L e F116Y. **M184VI**: embora causam alto nível de resistência para o 3TC/FTC, elas não são contraindicações para o uso do 3TC/FTC porque elas aumentam a suscetibilidade do TDF e ZDV e diminuem o *fitness* da replicação viral. **Mutações adicionais**: K65N é similar porém mais fraca que K65R. K70GQ é similar à K70E. T69D e V75MT reduzem a suscetibilidade ao d4T e ddI. T215SCDEIV (mutações reversas da T215) que evolui a partir da T215Y na ausência dos ITRNs. As mutações E40F, E44DA, D67GE, V118I e K219NR são TAMs acessórias. As deleções T69 ocorrem em combinação com K65R e/ou Q151M. Associadas com K65R (mas não com Q151M) elas aumentam a suscetibilidade ao AZT. Adaptada: Tang & Shafer. *Drugs* 2012;72(9) e <http://hivdb.stanford.edu/DR/NRTIResiNote.html> 09/03/2015

Mecanismos de resistência aos ITRNN: O mecanismo de resistência relacionado aos ITRNN é distinto. Esses medicamentos se ligam em sítios específicos da TR localizados próximo ao sítio ativo da transcriptase. Essa ligação impede a ação da enzima e as mutações de resistência promovem uma alteração na conformação estrutural da enzima, impedindo a ligação dos ITRNN (CLAVEL & HANCE, 2004). As mutações mais frequentes são: L100I, K101E/P, K103N/S, V106A/M, Y181C/I/V, Y188L, G190A/S/E e M230L. Com exceção da L100I, essas mutações causam alto nível de resistência para a NVP. Exceto a V106A e a Y181I/C, as mutações relacionadas conferem intermediário a alto nível de resistência para o EFV. As mutações de ITRNN, exceto a K103N/S e a V106A/M, estão associadas com diminuição da suscetibilidade para a ETR e/ou RPV (TANG & SHAFER, 2012). A ETR possui escore de susceptibilidade genotípica de mutação (figura 16).

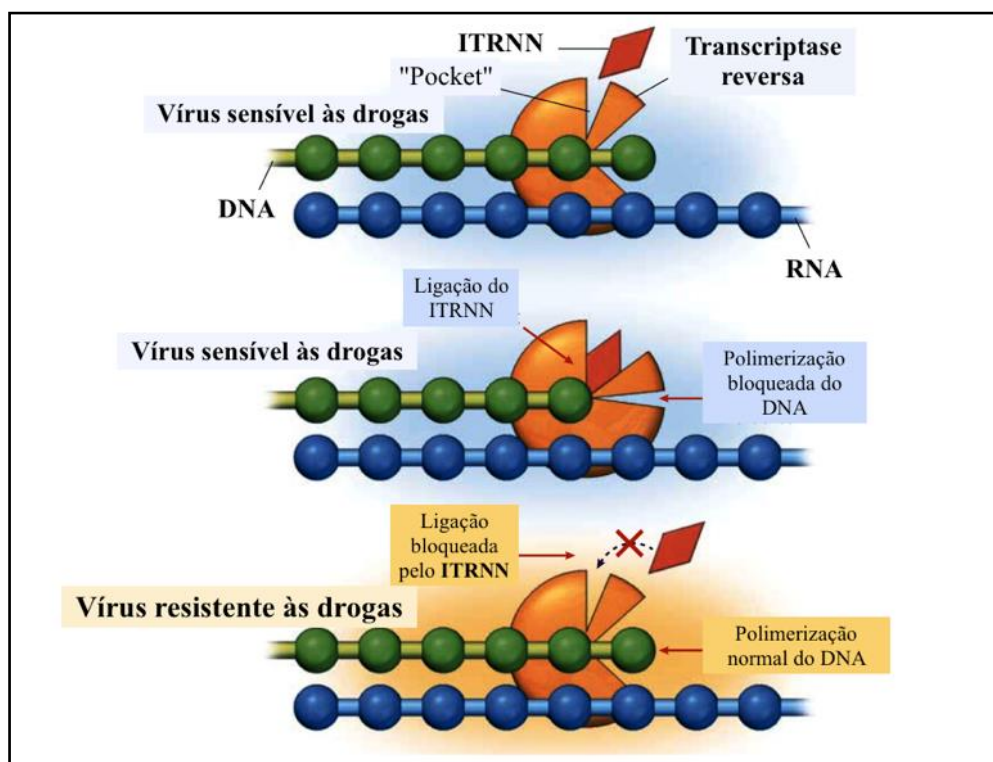


Figura 15. Mecanismo de Resistência do HIV aos Inibidores da Transcriptase Não Análogos de Nucleosídeos (ITRNNs). Os ITRNNs tem uma forte afinidade com um "pocket" próximo ao sítio ativo da TR. Nos vírus sensíveis às drogas, os ITRNNs se ligam neste "pocket" e bloqueiam a polimerização do DNA através da TR. Nos vírus resistentes às drogas, as mutações impedem a ligação dos ITRNNs, permitindo a polimerização do DNA prosseguir normalmente. Adaptada de CLAVEL & HANCE, 2004.

Quadro 5. Mutações de resistência dos ITRNN.

Cons	100 L	101 K	103 K	106 V	138 E	179 V	181 Y	188 Y	190 G	227 F	230 M
NVP	<u>I</u>	PEH	<u>NS</u>	AM		DEF	CIV	LCH	ASEQ	LC	<u>L</u>
EFV	<u>I</u>	PEH	<u>NS</u>	AM		DEF	C	LCH	ASEQ	LC	<u>L</u>
ETR	<u>I</u>	PEH					CIV		EQ	C	L
RPV	<u>I</u>	PEH			KAGQ	DEF	CIV	<u>L</u>	EQ	<u>C</u>	<u>L</u>

As mutações são representadas pela posição numérica e código de letra do aminoácido. O aminoácido consenso da sequência do tipo selvagem é representado por letras na linha superior, enquanto que os aminoácidos das mutações estão abaixo. Negrito e sublinhado indica resistência clínica ou fenotípica relevante; negrito indica contribuição importante para resistência; texto sem formatação indica primariamente contribuição acessória para resistência. Associações sinérgicas: V179D+K103N reduzem a suscetibilidade da NVP e EFV >10X. Y181C+V179F causam alto nível de resistência ETR RPV. Mutações adicionais, não polimórficas, geralmente acessórias: V90I (ETR), A98G (NVP, EFV, ETR, RPV), V108I, V179T (ETR), V179L (RPV), P225H (EFV), K238T (NVP, EFV), L318F (NVP). Genotypic susceptibility score (GSS) ETR: Y181IV (3,0); L100I, K101P, Y181C, M230L (2,5); V90I, E138A, V179F, G190S (1,5); A98G, K101EH, V106I, V179DT, G190A (1,0); < 2,5 suscetível; 2,5-3,0 intermediária ; >3,0 elevado nível de resistência. As mutações V90I, A98G, V106I, E138A, V179DT, G190A/S tem pequeno efeito na suscetibilidade da ETR, exceto se elas ocorrerem associadas com as mutações em negrito. Cons= consenso tipo selvagem. Adaptada: Tang & Shafer. Drugs 2012;72(9) e <http://hivdb.stanford.edu/DR/NRTIResiNote.html> 09/03/2015.



Figura 16. Lista de mutações dos inibidores da transcriptase reversa não análogos aos nucleosídeos (ITRNN) com resposta reduzida para Etravirina (ETR). Conforme a mutação selecionada pela pressão seletiva ao uso prévio de NVP, EFV ou RPV e os pesos das mutações somadas em um escore ponderado, resultando em resposta suscetível, intermediária ou alto nível de resistência para a utilização da ETR. Adaptada de VINGERHOETS et al, 2010. Atualizada <http://hivdb.stanford.edu/DR/NRTIResiNote.html> 9/3/2015.

Mecanismo de resistência aos Inibidores da Protease (IP): A protease (PR) apresenta-se na forma de um dímero e é responsável pela clivagem de grandes poliproteínas virais antes do encapsulamento do vírus. Os IP foram desenhados para, de forma competitiva, ocupar o sítio ativo da PR. Isto significa que aleatoriamente o sítio ativo da PR pode ser ocupado tanto pelo seu substrato natural, as poliproteínas virais a serem clivadas, quanto pelas moléculas produzidas artificialmente, os IP (IYIDOGAN & ANDERSON, 2014).

As mutações de resistência selecionadas pelos IP levam a uma alteração na conformação tridimensional da PR. As consequências disso são a diminuição do tempo de ligação dos IP à protease e a diminuição do tempo que a PR levaria para clivar seu substrato natural, o que corresponde a uma diminuição do *fitness* viral. Com a diminuição do tempo de ligação entre a PR e seus inibidores, haverá uma vantagem a favor do substrato natural, as poliproteínas virais, na competição pelo sítio ativo da PR (IYIDOGAN & ANDERSON, 2014).

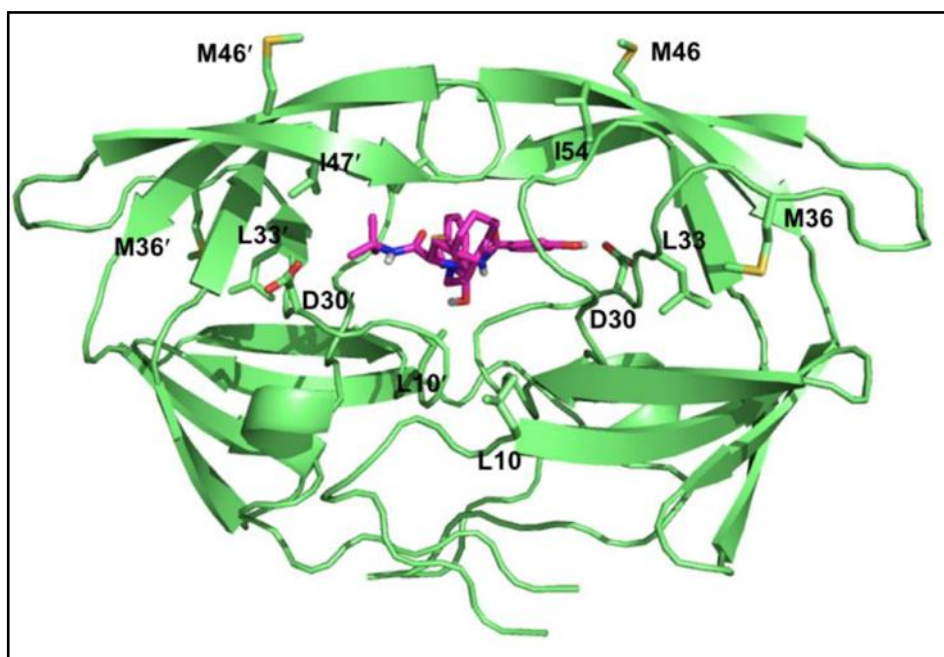


Figura 17. Vista detalhada de ligação do inibidor de protease. O Nelfinavir (NFV) é mostrado como fitas de cor *pink* e os sítios de mutação de resistência do NFV são mostrados em fitas verdes. Adaptada de IYIDOGAN & ANDERSON, 2014

Existem muitas mutações de resistência aos IP. As mutações principais de resistência dos IP individualmente reduzem a suscetibilidade a um ou mais IP. O acúmulo gradual de mutações principais no gene da protease, incluindo M46I, I54V e V82A caracterizam a resistência aos IP. As mutações acessórias ou secundárias dos IP compensam a replicação reduzida e em combinação com as mutações principais reduzem ainda mais a suscetibilidade

dos IP (IYIDOGAN & ANDERSON, 2014). A maioria das mutações dos vírus resistentes aos IP também requerem pelo menos uma mutação compensatória no sítio de clivagem da Gag (GIANDHARI, 2016).

As mutações principais dos IP são: **D30N**, **V32I**, **M46L**, **G48M**, **I50L**, **I54VTALM**, **L76V**, **V82ATFS**, **I84V**, **N88S** e **L90M**. (quadro 5). A mutação D30N, selecionada pelo NFV, e a mutação I50L, selecionada pelo ATV, são distintas por conferirem alto nível de resistência apenas a um IP. Ao contrário, cada uma das mutações principais restantes reduzem a suscetibilidade para dois ou mais IP. A resistência cruzada entre os IP é complexa como um resultado de um grande número de mutações de resistência e o fato que mutações diferentes na mesma posição podem ter efeitos marcadamente diversos na suscetibilidade do IP. Este é o caso particular da mutação na posição 50, 54 e 82 (TANG & SHAFER, 2012; RHEE, 2010).

Quadro 6. Sinopse das mutações de resistência dos Inibidores da protease (IP).

Cons	24 L	30 D	32 V	46 M	47 I	48 G	50 I	54 I	76 L	82 V	84 I	88 N	90 L
ATV/r			I	IL	V	VM	<u>L</u>	VTAM		<u>ATFS</u>	<u>V</u>	<u>S</u>	M
DRV/r			I		VA		V	LM	V	F	V		
FPV/r			I	<u>IL</u>	<u>VA</u>		<u>V</u>	VTALM	<u>V</u>	ATFS	<u>V</u>		M
IDV/r			I	IL	VA			VTA	V	<u>ATFS</u>	<u>V</u>	<u>S</u>	<u>M</u>
LPV/r	I			IL	<u>VA</u>	VM	V	VTALM	V	ATFS	V		M
NFV		<u>N</u>		<u>IL</u>	VA	<u>VM</u>		VTALM		ATFS	<u>V</u>	<u>DS</u>	<u>M</u>
SQV/r						<u>VM</u>		VTAM		AT	<u>V</u>	<u>S</u>	M
TPV/r			I	IL	VA			VTAM		<u>LT</u>	V		

As mutações são representadas pela posição numérica e código de letra do aminoácido. O aminoácido consenso da sequência do tipo selvagem é representado por letras na linha superior, enquanto que os aminoácidos das mutações estão abaixo. Negrito e sublinhado indica resistência clínica ou fenotípica relevante; negrito indica contribuição importante para resistência; texto sem formatação indica primariamente contribuição acessória para resistência. Mutações adicionais: D30N e N88D são mutações de resistência principais para NFV. Mutações acessórias não polimórficas mais comuns: L10F, V11I, K20TV, L23I, K43T, F53L, Q58E, A71IL, G73STCA, T74P, N83D, L89V. Hipersuscetibilidade: a I50L aumenta a suscetibilidade para todos os IPs, exceto para o ATV; a L10F, L24F, I50V, I54L (TPV); L76V (ATV, SQV, TPV); I47A (SQV); N88S (FPV). Escores de suscetibilidade genotípica (*Genotypic susceptibility scores- GSS*) do DRV (Tibotec): 11I, 32I, 33F, 47V, 50V, 54LM, 74P, 76V, 84V, 89V; <3 suscetível; 3-4 baixa/intermediária; >4 alto nível de resistência. TPV (Boehringer): 47V (+4), 74P (+4), 82LT (+4), 83D (4), 58E (3), 84V (3), 36I (2), 43T (2), 54AMV (2), 10V (1), 33F (1), 46L (1), 24I (-2), 76V (-2), 50LV (-4), 54L (-6); <4 suscetível ; 5-10 intermediária; > 10 elevado nível. **Cons**= consenso tipo selvagem. Adaptada de Tang & Shafer. Drugs 2012:72(9) e <http://hivdb.stanford.edu/DR/NRTIResiNote.html>. Março, 2015

Mecanismos de resistência aos inibidores da integrase: Após a transcrição reversa, com a produção de fita dupla de RNA do HIV, a integrase tem a função de incorporar o genoma transcrito do HIV no genoma celular do hospedeiro. Em seu mecanismo de ação, a enzima integrase se liga às extremidades do DNA do HIV, que são a região 5', a porção proximal, e região 3', que é a porção final do DNA. Desse modo, o DNA do HIV fica em uma forma circular com as suas duas extremidades ligadas à integrase. A integrase leva o DNA do HIV ao interior do núcleo celular, promove a catálise (ruptura) do DNA humano em uma determinada posição e introduz o genoma do HIV dentro do genoma do hospedeiro (integração).

Os inibidores da integrase raltegravir (RAL), elvitegravir (EVG) e dolutegravir (DTG) se ligam a uma alça da integrase entre os resíduos proteicos que correspondem aos aminoácidos 140 e 149. Essa é justamente a região da enzima conhecida como domínio catalítico, que faz com que exista uma “quebra” no genoma do hospedeiro para “introdução” do genoma do HIV. Além disso, a interação mais potente desses inibidores se dá com os resíduos Y143, Q148, N155 ou E92, alguns dentro e outros fora dessa alça. A ligação dos inibidores nessa alça diminui a flexibilidade da enzima integrase e impede a ligação da região terminal do genoma do HIV (região conhecida como 3') à região do genoma humano. Essa alça, onde se ligam os inibidores, também perde a flexibilidade quando mutações de resistência são selecionadas, sendo que essa flexibilidade é condição necessária para catalisar a integração (TANG & SHAFER, 2012).

A resistência ao raltegravir ocorre por três vias mutacionais principais: N155H seguida pela E92Q; Q148HRK + G140A, e Y143CR + T97A. Cada um desses pares de mutações está frequentemente acompanhado por outras mutações acessórias. Diversas mutações da integrase, incluindo N155H, Q148R e Y143R mostraram reduzir mais que 10 vezes a suscetibilidade ao RAL. Muitos pares de mutações reduzem a suscetibilidade acima de 100 vezes. Estas mutações parecem interferir com a enzima integrase e os íons de magnésio (TANG & SHAFER, 2012).

Com exceção da Y143CR, a maioria das mutações de resistência do RAL confere resistência cruzada ao elvitegravir (EVG). Da mesma forma, parece que a maioria das mutações de resistência do EVG são prováveis de conferir resistência para o RAL. O dolutegravir (DTG) possui uma barreira genética mais elevada do que o RAL e o EVG. Estudos sugerem que apenas a combinação de mutações Q148 + G140 reduzem a suscetibilidade do DTG e que a resistência cruzada completa do DTG pode requerer pelo menos uma mutação adicional (TANG & SHAFER, 2012).

Embora a maioria dos pacientes em uso de RAL ou EVG que desenvolve falha virológica, tenha duas ou mais mutações de resistência ao INI, o fato de que uma única mutação possa reduzir a suscetibilidade do RAL (e EVG) mais que 10 vezes sugere que estes inibidores

têm uma baixa barreira genética. Mais uma evidência para a baixa barreira genética vem do fato que o RAL frequentemente seleciona mais de uma linhagem de resistência num mesmo paciente. De fato, embora os vírus pertencentes à via N155H geralmente surjam precocemente após a falha terapêutica na maioria das vezes são substituídos por vírus decorrentes das vias Q148 e menos frequentemente da via Y143 dentro de semanas. Apesar da importância do *fitness* viral na evolução das variantes resistentes do RAL, vários estudos mostraram que existe pouco benefício virológico em continuar o uso de RAL quando ocorreu resistência (TANG & SHAFER, 2012).

Quadro 7. Sinopse das mutações de resistência dos Inibidores da Integrase (INI).

Cons	66 T	92 E	138 E	140 G	143 Y	147 S	148 Q	155 N
RAL	A	Q	KA	SAC	<u>CRH</u>		<u>HRK</u>	<u>H</u>
EVG	<u>IAK</u>	<u>Q</u>	KA	SAC		<u>G</u>	<u>HRK</u>	<u>H</u>
DTG		Q	KA	SAC			HRK	

As mutações são representadas pela posição numérica e código de letra do aminoácido. O aminoácido consenso da sequência do tipo selvagem é representado por letras na linha superior, enquanto que os aminoácidos das mutações estão abaixo. **Negrito e sublinhado** indica >10 a 20 vezes suscetibilidade reduzida; o texto em **negrito** indica contribuição importante para resistência; texto sem formatação indica <5 a 10 vezes suscetibilidade reduzida. **Mutações adicionais:** acessórias: H51Y, L74M, T97A, S153YF, G163RK, S230R, R263K. Variantes incomuns: E92GV, E138T, Y143KSGA, Q148N, N155ST. Mutações raras de resistência EVG:P145S, Q146P. Mutações não polimórficas raras INI: G118R, F121Y. **Cons**= cepa selvagem de consenso. Adaptada de Tang & Shafer. Drugs 2012;72(9) e <http://hivdb.stanford.edu/DR/NRTIResiNote.html>, Março 2015.

Mecanismos de resistência aos inibidores de fusão: Os inibidores de fusão são moléculas que se ligam à região transmembrana da gp160 do HIV-1, que é a gp41, exercendo sua atividade antirretroviral pelo bloqueio da fusão entre o vírus e a célula. O T-20 ou Enfuvirtida se liga à região da gp41 conhecida como HR1. É justamente na região entre os aminoácidos 36 a 45 que se liga o T-20, e o mecanismo mais comum de resistência é o mecanismo conhecido como direto, em que as mutações de resistência impedem a ligação do medicamento com a gp41. Existe outro mecanismo de resistência conhecido como indireto, cuja resistência não está atribuída a alterações do sítio de ligação do T-20 *per se*, mas a outras alterações estruturais na

gp120, levando à diminuição da suscetibilidade ao medicamento através de um mecanismo mais complexo.

As mutações principais da T-20 são :G36DEV, V38EA, Q40H, N42T e N43D. Uma única mutação de resistência da T-20 geralmente reduz a suscetibilidade do T-20 em torno de 10X, enquanto duas mutações geralmente reduz a suscetibilidade próximo de 100X.

A enfuvirtida tem uma baixa barreira genética, e desenvolve resistência rapidamente em pacientes em terapia de resgate que não estão recebendo o número suficiente de drogas ativas adicionais (TANG & SHAFER, 2012).

Mecanismo de resistência aos antagonistas de CCR5: Existem dois tipos de cepas virais de HIV-1: as cepas conhecidas como R5, que utilizam o CCR5 como receptor, e as cepas conhecidas como X4, que utilizam um receptor equivalente conhecido como CXCR4. Algumas variantes do HIV têm o chamado tropismo duplo, significando que podem utilizar ambos os receptores. Os inibidores de CCR5 atuam somente contra os vírus R5. Mais de 80% dos pacientes são infectados com vírus R5 na fase inicial da infecção pelo HIV-1. Aproximadamente 50% dos pacientes cronicamente infectados pelo HIV-1 estão eventualmente albergando vírus com tropismo X4. Os vírus X4 surgem na fase tardia da infecção pelo HIV-1 em algumas pessoas e são vírus considerados mais citopáticos. Quando surgem os vírus com tropismo X4, eles estão frequentemente presentes em baixas proporções relativas aos vírus com tropismo R5.

O maraviroque é o único antagonista de CCR5 atualmente liberado nesta classe. O maraviroque é uma pequena molécula que inibe alostericamente a ligação da gp120 do HIV-1 ao correceptor CCR5 (R5) do hospedeiro.

O teste de tropismo deve ser executado antes do uso do maraviroque, para confirmar que o paciente não está infectado com variantes de tropismo X4. O tropismo pode ser detectado fenotípica ou genotipicamente. O teste fenotípico TROFILE (Monogram) avalia o tropismo completo dos genes do env amplificados de amostras de pacientes expressando CCR5 ou CXCR4. Tem a sensibilidade de detectar populações de variantes X4 menores de 1%.

O teste genotípico para tropismo usa algoritmos que prevêm tropismo da sequência da alça V3 do envelope. O teste genotípico padrão utiliza sequenciamento de Sanger e tem especificidade de ~85% e sensibilidade de 50-70%. A baixa sensibilidade do teste genotípico padrão surge do fato que as variantes de tropismo X4 estão frequentemente presentes em níveis abaixo de 20% do sequenciamento padrão e por causa de determinantes do tropismo estarem na parte externa da alça V3. No entanto, a sensibilidade do teste genotípico pode ser melhorado utilizando o sequenciamento múltiplo de alíquotas independentes do DNA complementar

(cDNA) ou pelo uso de tecnologia "deep sequency" da Roche/454 Life Sciences (TANG & SHAFER, 2012).

A causa mais frequente de falha terapêutica do maraviroque é a presença de variantes minoritárias de vírus com tropismo X4 não detectadas ao teste.

Vias Mutacionais e Resistência Cruzada: A via mutacional é um grupo de mutações específicas selecionadas pela pressão seletiva de um determinado ARV. O ARV pode selecionar mutações por várias vias mutacionais distintas *in vitro* e *in vivo*, mas, geralmente, ocorre somente uma via mutacional. A relevância dessas vias mutacionais está no fato que algumas mutações podem implicar em resistência cruzada a outro ARV da mesma classe.

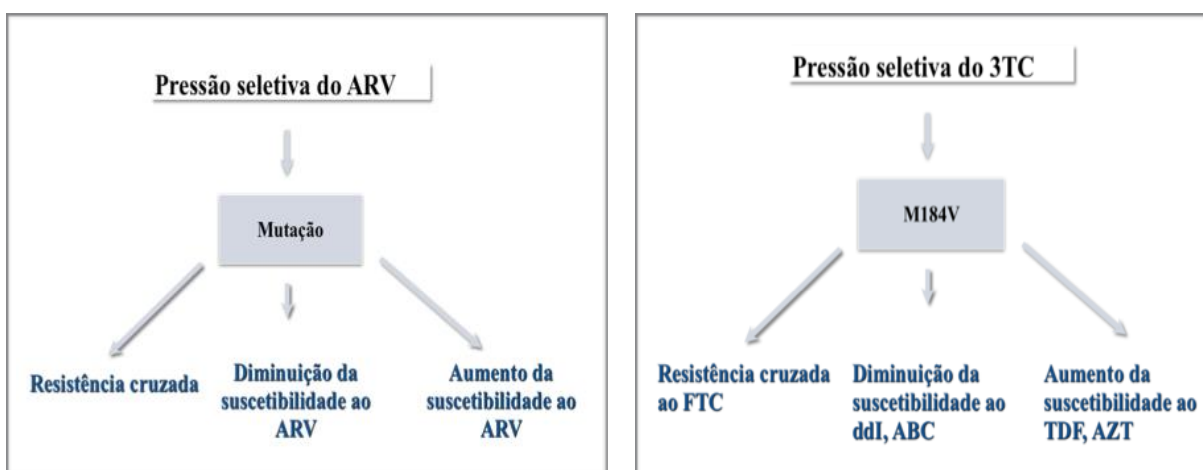


Figura 18. Via mutacional: grupo de mutações específicas, selecionadas pela pressão seletiva de um antirretroviral. Por exemplo, a mutação M184V, que emerge pela pressão seletiva da lamivudina (3TC) ocasiona a resistência cruzada emtricitabina (FTC), e no entanto reduz a suscetibilidade ao abacavir (ABC) e a didanosina (ddI); por outro lado aumenta a suscetibilidade ao tenofovir (TDF) e ao AZT (azidotimidina).

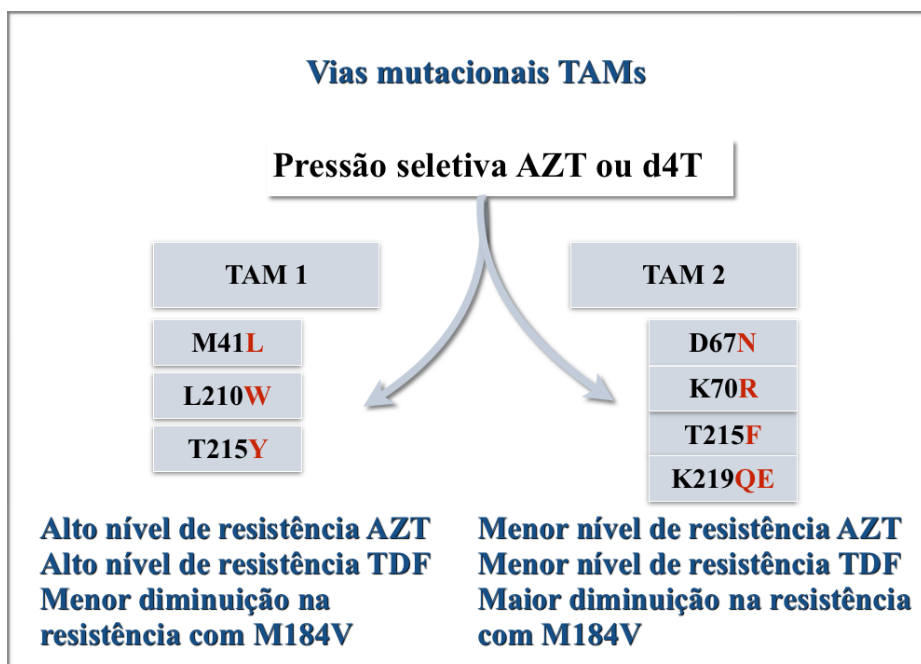


Figura 19. Vias mutacionais dos análogos da timidina: a pressão seletiva do AZT (azidotimidina) ou do d4T (estavudina) pode selecionar mutações da via mutacional 1 (TAM1) que conferem alto nível de resistência ao AZT/d4T e também resistência cruzada a outros inibidores do TR, especialmente ao TDF (tenofovir). A via mutacional 2 (TAM2) resulta em menor nível de resistência.

A mutação M184V selecionada pelo 3TC e pelo FTC propicia alto nível de resistência fenotípica ao 3TC e FTC. Também causa baixo nível de resistência cruzada ao ABC e em menor grau ao ddI (WENSING, 2015).

Embora as TAM sejam selecionadas por esquemas contendo AZT ou d4T, as TAM conferem resistência cruzada para o TDF, ABC e ddI. As TAM ocorrem através de duas vias mutacionais distintas, pela via TAM1, seleção dos códons M41L, L210W e T215Y; e pela via TAM2, seleção dos códons D67N, K70R e K219Q/E/M. A via mutacional TAM1 causa maior nível de resistência clínica e fenotípica para os análogos da timidina e resistência cruzada ao TDF, ABC e ddI do que a via TAM 2. A via TAM1 é mais frequente nos vírus do subtipo B e a via TAM2 ocorre mais comumente nos subtipos F e C. As TAM proporcionam uma redução de suscetibilidade *in vitro* em grau variado a todos os ITRN. O acúmulo de TAM é causa de multidroga resistência (MDR).

A hipersuscetibilidade é um fenômeno em que as mutações selecionadas aumentam a ação de um ou mais ARV sobre os vírus que albergam estas mutações. A mutação M184V/I selecionada pelo 3TC ocasiona um aumento da ação do AZT ou do TDF. Essa hipersensibilização tem a capacidade de reverter o efeito deletério da mutação de resistência. A

mutação M184V também hipersensibiliza o TDF em decorrência das mutações K65R ou Q151M ou das TAM, sendo que na presença de três ou mais TAM, incluindo o codon 41 e/ou 210 (TAM 1), essa reversão é parcial (WHITCOMB, 2003).

A mutação K65R é a segunda mutação discriminatória mais importante. É selecionada principalmente pelo TDF e em menor grau pelo ABC e ddI. A K65R causa resistência a todos ITRN, com exceção do AZT, droga para a qual produz hipersensibilização (WENSING, 2015).

A inserção no códon 69 surge da ocorrência de um ou mais aminoácidos nessa região, fenômeno que pode ser decorrente da pressão seletiva de qualquer análogo de nucleosídeo, embora ocorra mais comumente com múltiplas TAM. Geralmente, a presença da inserção no codon 69 confere ampla resistência aos análogos de nucleosídeo e ao TDF (MILLER, 2004).

A mutação Q151M, que emerge em associação com com um grupo de mutações acessórias (V75I, F77L, F116Y), proporciona alto nível de resistência ocasionando MDR, resistência a toda classe de ITRN (MILLER, 2004).

A deleção no códon 67 da TR também é acompanhada de mutações acessórias específicas, além de ocasionar a perda da suscetibilidade aos nucleosídeos. Associada com a K103N, contribui na resistência aos não nucleosídeos, sendo um dos raros exemplos de resistência cruzada entre classe de ARV.

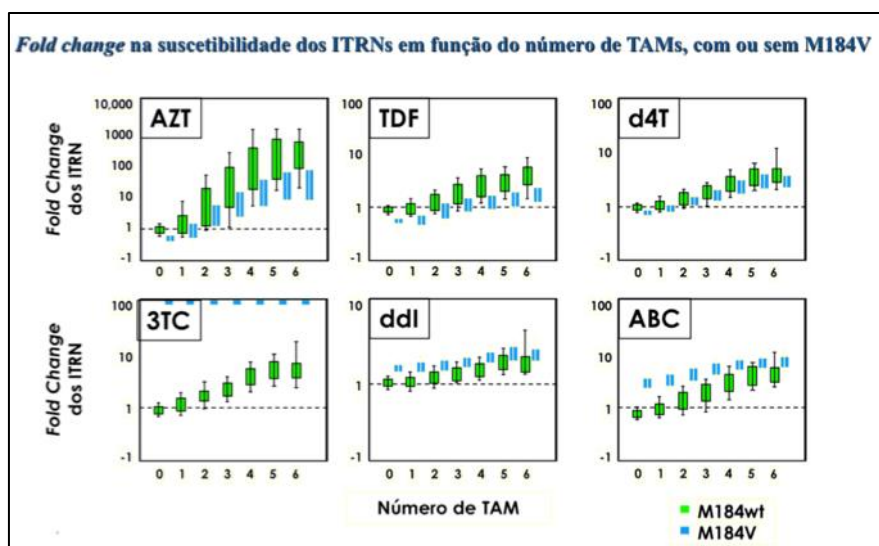


Figura 20. O impacto de TAM na suscetibilidade fenotípica dos ITRNs, na ausência e na presença da mutação M184V. No eixo Y, está representado a alteração do *fold change* para cada um dos ITRNs de acordo com o número de TAM (eixo X). Os retângulos verdes representam sem a mutação M184V (M184wt), enquanto que os azuis representam os vírus com a mutação M184V.

O alto nível de resistência para NVP geralmente requer uma única mutação, e para o EFV uma ou duas mutações. A falha terapêutica ao EFV está associada primariamente à mutação K103N, que normalmente está acompanhada das mutações L100I e P225H. Por outro lado, a resistência à NVP está geralmente associada à mutação Y181C, que normalmente acompanha as mutações K101E e G190A. As mutações selecionadas pela NVP tem maior possibilidade de resistência cruzada ao ETR (VINGERHOETS, 2010).

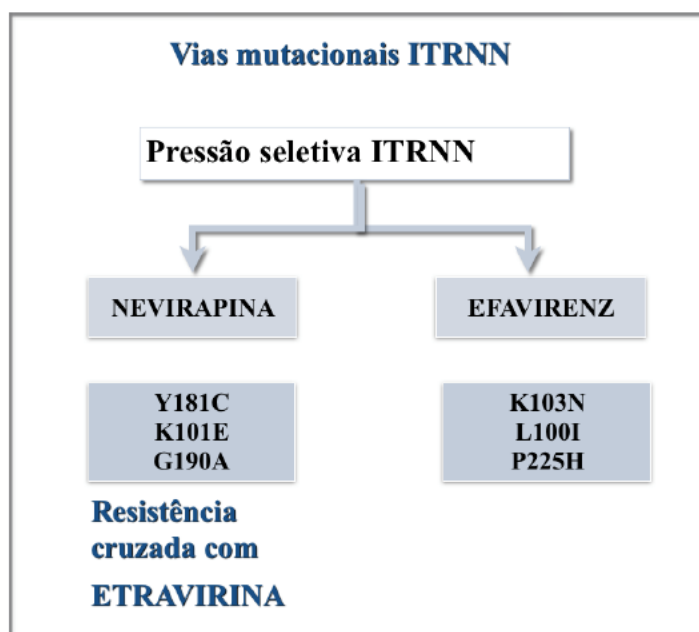


Figura 21 – Vias mutacionais dos inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa.

O nelfinavir (NFV) apresenta uma mutação característica, a D30N, que invariavelmente é acompanhada pela N88D. Mais da metade dos indivíduos com falha terapêutica desenvolveram a resistência pela seleção da mutação D30N e o restante apresentou a mutação L90M, caracterizando duas vias mutacionais distintas. A mutação D30N tem baixa resistência cruzada, com maior chance de sucesso no resgate terapêutico com o uso de outros IP. Na presença da mutação L90M, existe alta probabilidade de resistência cruzada, porque essa mutação está presente no perfil de resistência da maioria dos IP. A mutação L90M é mais frequentemente selecionada após falha terapêutica entre os vírus dos subtipos não B (MUNERATO, 2010).

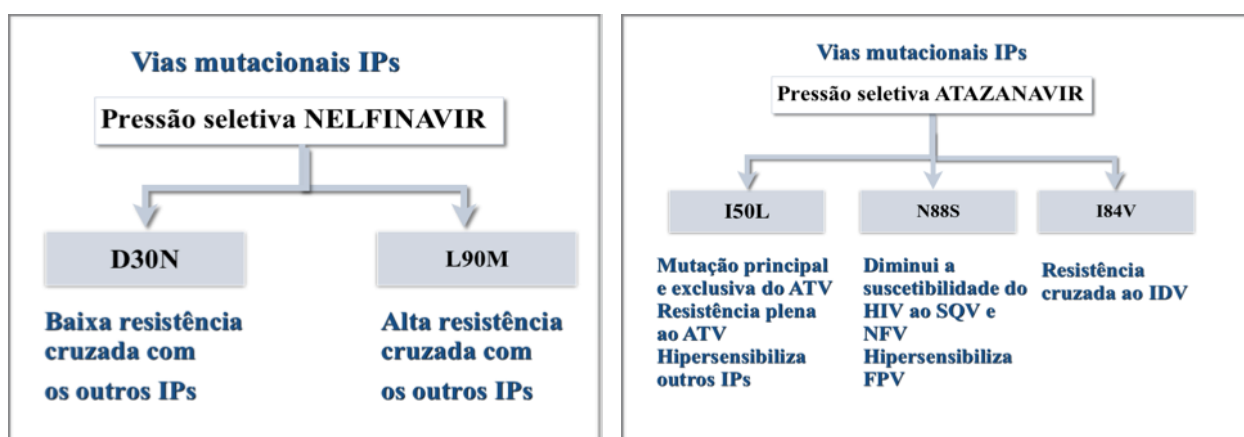


Figura 22. Vias mutacionais dos inibidores de protease (nelfinavir e atazanavir).

Existem três vias mutacionais distintas para o ATV, nos códons 50, 88 ou 84. A mutação I50L é típica e exclusiva do ATV (COLONNO, 2004). A mutação N88S ocorre com

frequência e também diminui a suscetibilidade do HIV ao SQV e NFV, tendo a peculiaridade de hipersensibilizar o vírus ao FPV (ZIERMANN, 2000). Outra mutação que emerge é a mutação I84V que é também uma mutação principal para o IDV e o RTV. A mutação I50L hipersensibiliza o HIV a todos os outros IP, pressupondo um resgate mais fácil, ao contrário da via mutacional dos códons 88 e 84. Enquanto que a mutação principal do ATV é a mutação I50L, a mutação principal do FPV é a mutação I50V, que leva a hipersensibilidade ao ATV (RHEE *et al*, 2010).

O raltegravir apresenta três vias mutacionais para seleção de variantes do HIV com resistência, os códons da integrase 155 (45%), 143 (25%) e 148% (25%) (CLAVEL 2009; MALETI, 2015). A resistência cruzada ao EVG ocorre por qualquer uma das três vias mutacionais. O DTG apresenta potencial de resgate com a falha pelo RAL quando selecionadas as vias mutacionais dos códons 155 e 143. A mutação no códon 155 pode evoluir para vírus com a mutação no códon 148 se a pressão seletiva do RAL for mantida por período prolongado, em falha terapêutica, o que potencialmente dificultaria o futuro resgate com o DTG (CASTAGNA, 2014).

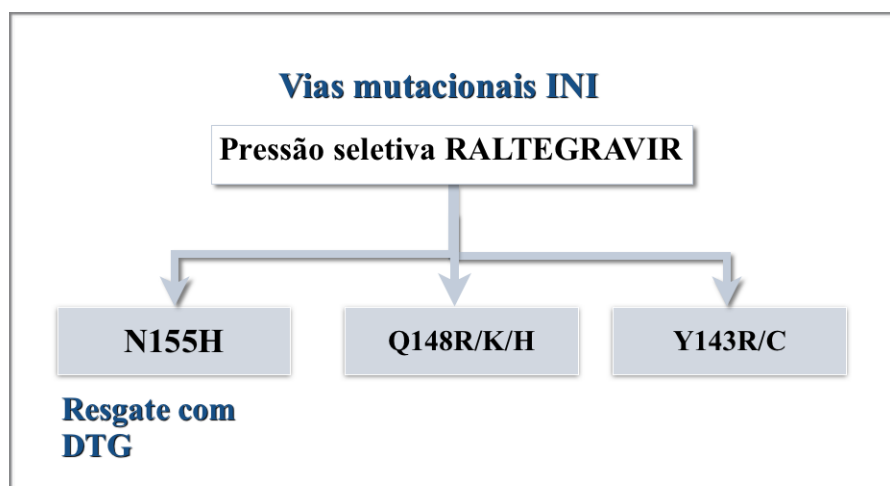


Figura 23. Vias mutacionais dos inibidores de protease (lopinavir e fosamprenavir).

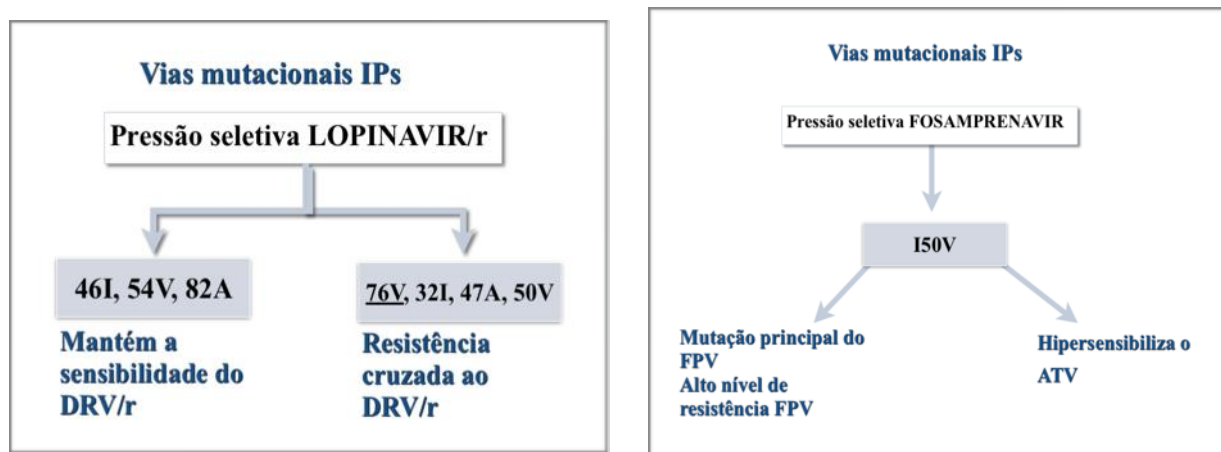


Figura 24. Vias mutacionais do inibidor de integrase (raltegravir).

Fitness viral: O *fitness* do HIV-1 corresponde à capacidade de adaptação do HIV no meio ambiente e compreende vários aspectos que incluem a capacidade de ser transmitido (erroneamente denominado *fitness* de transmissão), a capacidade de infectar novas células (normalmente negligenciado na avaliação do *fitness* do HIV) e a capacidade replicativa que pode ser indiretamente medida pela CV. O *fitness* do HIV tem sido considerado importante porque o vírus com mutações de resistência têm capacidade replicativa reduzida e seria menos citopáticos. Alguns especialistas assumem como estratégia alternativa a manutenção de vírus com baixa capacidade replicativa quando o tratamento eficaz não é possível entre pacientes que não têm opção terapêutica, seja por resistência viral ou por intolerância grave a alguns medicamentos, e, assim, postergar a progressão da doença. O paradigma que se estabelece é o de que mutações de resistência produzem uma diminuição da capacidade replicativa dos vírus, o que levaria a uma perda do *fitness* viral, proporcionando a emergência de um “vírus aleijado”. Porém, o fato é que a manutenção de um esquema antirretroviral por longos períodos na presença de CV detectável, leva a um acúmulo progressivo de mutações de resistência. Esse acúmulo de mutações de resistência não só piora a suscetibilidade do vírus aos medicamentos utilizados como potencialmente aumenta a resistência cruzada. Além disso, essas mutações adicionais que são selecionadas recuperam o *fitness* do vírus, a ponto de que a CV aumente paulatinamente até os níveis próximos ou mesmo superiores aos níveis basais para esse paciente (DIAZ, 2011).

Uma das maiores provas de que, em condições naturais, o vírus do tipo selvagem possui mais *fitness* que o mutante está no fato de que, quando se interrompe o tratamento com ARV

para um indivíduo com falha terapêutica e vírus resistente, os vírus sensíveis reaparecem num período relativamente curto (8 a 12 semanas). Entretanto, como *fitness* viral é um conceito relativo ao meio ambiente em que se encontra o vírus, o vírus com melhor *fitness* na presença de ARV é o vírus com mutações de resistência, posto que o vírus sensível não sobrevive na presença de ARV (DIAZ, 2011).

O conhecimento relacionado à perda de *fitness* decorrente das mutações de resistência revela que as mutações selecionadas pelos ITRNN não proporcionam uma perda da capacidade replicativa tão significativa quanto as mutações aos ITRN ou aos IP. Dessa forma, vírus em que preponderam as mutações relacionadas à ITRNN tendem a reverter em menor proporção para o perfil do vírus selvagem na ausência do tratamento antirretroviral ou na ausência específica dos ITRNN. Esse fato por si só justificaria a especulação de que a recente tendência no aumento da incidência de resistência primária aos ITRNN estaria, entre outras coisas, relacionada à preservação do *fitness* viral a despeito das mutações de resistência aos ITRNN (DIAZ, 2011).

Sumariamente, os paradigmas relacionados ao *fitness* viral são:

1. Mutações de resistência diminuem o *fitness* viral (vírus é menos citopático e a progressão mais lenta).
2. Não trocar a medicação frente à falha virológica leva ao acúmulo de mutações de resistência.
3. Acúmulo de mutações de resistência leva à piora da resistência ao esquema utilizado e à resistência cruzada ampla.
4. Acúmulo de mutações de resistência restitui o *fitness* viral com retorno do risco de progressão da doença mais acelerada.

1.8 Testes de Resistência

Existem duas classes de testes laboratoriais para avaliar resistência aos ARV: os testes para determinação de resistência fenotípica ou fenotipagem e os testes para determinação de resistência genotípica ou genotipagem. A resistência fenotípica representa o 'comportamento' do vírus em meio de cultura na presença de ARV. A resistência genotípica representa a

determinação das mutações no gene do HIV-1 pela qual poderia se prever as mudanças no fenótipo do vírus em relação aos ARV (DIAZ, 2011).

Teste de Resistência Fenotípica ou Fenotipagem: O teste de suscetibilidade fenotípica mede a replicação viral em cultura de célula na presença de diluições seriadas de cada um dos ARV. Os testes fenotípicos determinam a quantidade de droga necessária para inibir a replicação do HIV-1, *in vitro*, sendo que o aumento das concentrações do ARV gera uma curva sigmoide dose-resposta resultando as concentrações que inibem a replicação viral em 50, 90 ou 95% (IC50, IC90 ou IC95). O quociente inibitório é a relação entre a concentração mínima (nível basal ou nível mínimo) do ARV e a IC95 para o isolado viral testado. Se o quociente inibitório (relação C_{min}/IC_{95}) for menor que 1, considera-se que o ARV tem atividade. O resultado da fenotipagem é dado pela 'variação de concentração', *fold change* (FC) dos ARV, que indica a quantidade de ARV necessária *in vitro* para inibir a replicação do vírus do paciente, em comparação com a quantidade necessária para inibição de um vírus padrão, do tipo selvagem (TANG & SHAFER, 2012).

Calcula-se a FC dividindo o IC50 (concentração inibitória para a supressão de 50% das cepas virais *in vitro*) do vírus do paciente pelo IC50 do vírus do tipo selvagem (Figura 25). Por exemplo, se o IC50 do vírus do paciente for 5mM e o IC50 do vírus do tipo selvagem for 0,5mM, o FC é igual a 10. Isso significa que foi necessário usar 10 vezes mais medicamento para inibir o vírus do paciente do que é necessário para inibir o vírus do tipo selvagem. Se o corte para resistência (*cut-off*) for igual a 2, conclui-se que o vírus do paciente testado será resistente a esse determinado ARV (DIAZ, 2011).

Os testes fenotípicos são caracterizados por três tipos de *cut-offs* ou pontos de corte para definição da resistência fenotípica para cada ARV: (i) *cut-off* técnico, reprodutibilidade do teste por ARV; (ii) *cut-off* biológico, ou *biologic cut-off* (BCO) específicos aos medicamentos, é uma indicação da oscilação normal da suscetibilidade do HIV-1 a cada medicamento em um ensaio *in vitro*, avaliada através dos valores de IC50 determinados para inibir os vírus selvagens e (iii) *cut-off* clínico, ou *clinic cut-off* (CCO), são derivados de análise de estudos de indivíduos sob tratamento com respostas variáveis (máxima, reduzida ou mínima). Avalia-se, portanto, a perda do efeito virológico dos ARV em estudos clínicos e definem-se os valores de FC médio dos vírus nos quais 80% dos indivíduos tratados com esquema contendo o ARV respondem com CV indetectável, sendo esse *cut-off* denominado CCO inferior. O CCO superior é quando o corte de FC no qual somente 20% dos pacientes albergando esse tipo de vírus que irão obter CV indetectável (Figura 26).

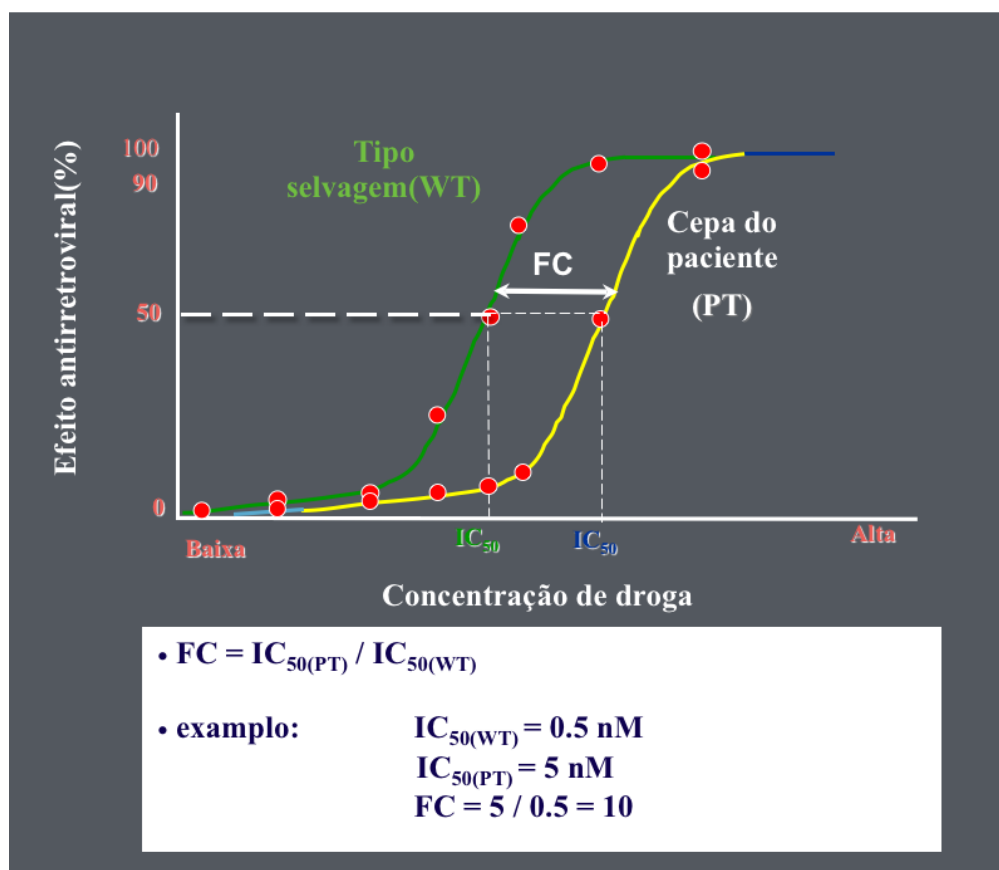


Figura 25. Variação na concentração ou (*fold change*). Cálculo de resistência para os testes de fenotipagem. FC=*fold change*, IC₅₀= concentração inibitória de 50% das cepas testadas. Resistência é quando a curva sigmoide se move para a direita em relação ao vírus do tipo selvagem testado (adaptada de DIAZ, 2011).

Os testes padronizados com vírus recombinantes têm maior aplicabilidade clínica, sendo esses os testes utilizados pelas empresas VIRCO (Bélgica), MONOGRAM (Califórnia, EUA), e VIRALLIANCE (França). Estes testes diminuem o tempo para o resultado de 6-8 semanas nos testes convencionais para 2-3 semanas.

A Fenotipagem virtual é a mais utilizada na prática clínica, pelo ótimo desempenho e menor custo e substitui a fenotipagem clássica do laboratório VIRCO. É um instrumento quantitativo que faz uma previsão de suscetibilidade fenotípica de resistência do HIV aos ARV, baseado no perfil mutacional encontrado no sequenciamento genômico. Utiliza um banco de dados com milhares de amostras pareadas, previamente analisadas por genotipagem e fenotipagem. A sequência genômica do paciente é submetida ao banco de dados e através de um sistema de informática, *neural network*, o perfil fenotípico é identificado. Analisa-se a informação da fenotipagem como *fold change* e os *cut-offs* clínicos (DIAZ, 2011) (figura 27).

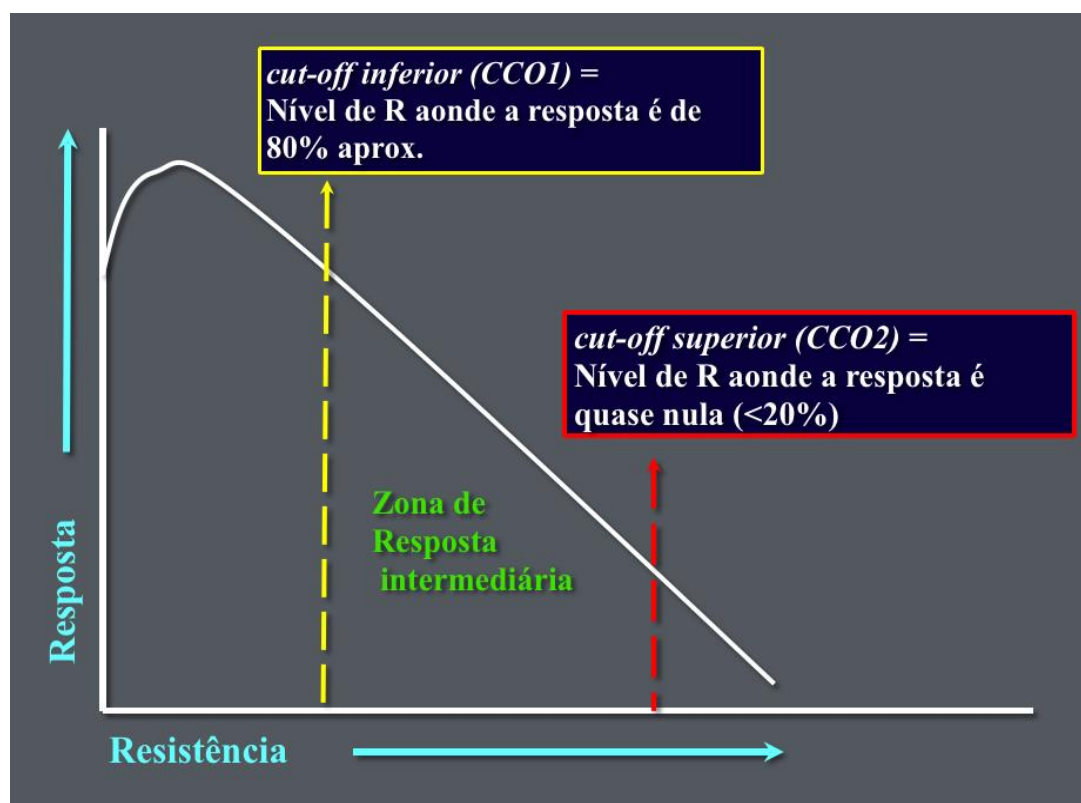


Figura 26. Definição de *cut-offs* clínicos, baseada na perda do efeito do ARV a partir da análise de estudos clínicos. CCO1 representa o corte em que 80% dos pacientes albergando vírus com aquele FC, apresentam CV indetectável, durante o tratamento (perda de 20% da resposta virológica). O CCO2 representa o corte onde somente 20% dos indivíduos apresentando vírus com aquele FC responderiam com CV indetectável (perda de 80% da resposta). **FC**= *fold change*, **CV**= carga viral do HIV, **R**= resistência (adaptada de DIAZ, 2011).

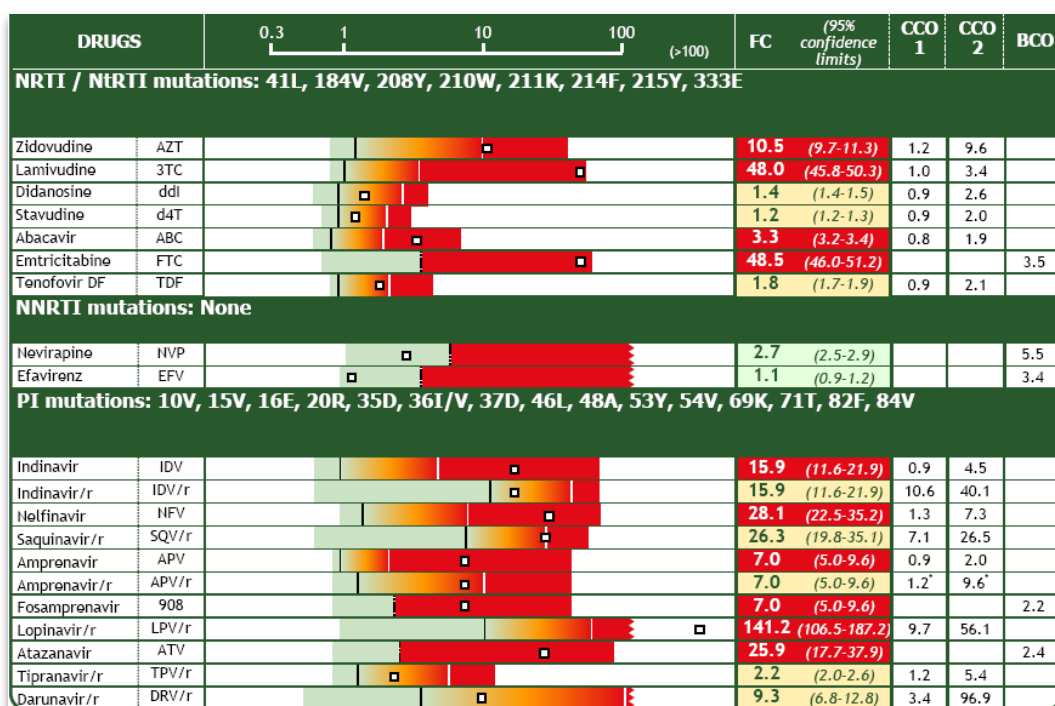


Figura 27. Fenotipagem virtual. Laudo de fenotipagem virtual que apresenta uma lista de mutações detectadas na genotipagem, o *fold change* para cada ARV *cut-off* clínico e a interpretação do resultado com resposta máxima, resposta reduzida ou mínima.

Teste Genotípico ou Genotipagem: O teste de resistência genotípica determina a sequência genômica da região que codifica a proteína que pode estar alterada em decorrência da pressão seletiva dos ARV. O teste baseia-se na detecção de mutações de resistência nos alvos enzimáticos da terapia antirretroviral: protease, transcriptase reversa do gene da *pol* e, se especificamente solicitado, a integrase (RAL, EVG, DTG), gp41 (T-20) e da alça V3 da gp120 (maraviroque). O processamento da amostra pode ter métodos diferentes no sequenciamento genômico como a polymerase chain reaction (PCR) seletiva e a PCR com hibridização pelo uso de sondas. A abordagem padrão deste teste é o sequenciamento direto de dideoxinucleotídeo (Sanger) pela *polymerase chain reaction* (PCR). O teste genotípico produz uma sequência de nucleotídeos geralmente englobando 297 nucleotídeos completos (ou 99 aminoácidos) da protease do HIV-1; e a região codificada da polimerase 5' da transcriptase reversa do HIV-1, geralmente englobando os aminoácidos nas posições de 40 a 240, a parte da TR contendo a vasta maioria das mutações de ITRN e ITRNN. O sequenciamento da integrase é geralmente solicitado como um teste separado. A sensibilidade dos testes de resistência genotípica varia de 100 a 1.000 cópias/ml de RNA HIV-1 plasmático, dependendo do teste utilizado. Em nível de

RNA HIV-1 plasmático baixo, o teste genotípico tem baixa sensibilidade para as cepas minoritárias, que representam menos de 20% da população viral (TANG & SHAFER, 2012).

A sequência de nucleotídeos é traduzida para suas sequências de aminoácido. Isto é, quando o RNAm é traduzido em proteína. A seguir a sequência de aminoácido é comparada com a sequência de aminoácido do subtipo B da cepa de vírus selvagem do laboratório ou comparada com a sequência de aminoácido do subtipo B da cepa selvagem do consenso. As diferenças entre um vírus clínico sequenciado (vírus do paciente) e a sequência do vírus do tipo selvagem de referência gera uma lista de mutações (TANG & SHAFER, 2012). Normalmente, as mutações são descritas como no exemplo, M184V, o que significa que o códon na posição 184 da TR, o aminoácido metionina (M), que se encontra naturalmente nessa posição, foi substituído pelo aminoácido valina (V). A interpretação da mutação M184V é a resistência ao 3TC ou FTC. No entanto, o que ocorre nesse caso é a uma troca de nucleotídeos, em que o ATG (Adenina, Timina, Guanósina) que codifica o aminoácido metionina é substituído pelo GTG (Guanósina, Timina, Guanósina), que codifica o aminoácido valina (tabela 1). Como o sequenciamento direto da PCR é realizado numa população de genomas virais, não é incomum o método detectar mais de um aminoácido na posição. Por exemplo, a mutação M184M/V significa que ambos os vírus foram detectados na posição 184 (DIAZ, 2011).

Tabela 4. Aminoácidos com seus códigos de três ou uma letra e as trincas de nucleotídeos que os codificam (Adaptada de DIAZ, 2011).

Aminoácido	Código de 3 letras	Código de 1 letra	Nucleotídeos
Alanina	Ala	A	GCT GCC GCA GCG
Arginina	Arg	R	CGT CGC CGA CGG AGA AGG
Aspargina	Asn	N	AAT AAC
Ácido aspártico	Asp	D	GAT GAC
Cisteína	Cys	C	TGT TGC
Ácido glutâmico	Glu	E	GAA GAG
Glutamina	Gln	Q	CAA CAG
Glicina	Gly	G	GGT GGC GGA GGG
Histidina	His	H	TAC CAC
Isoleucina	Ile	I	ATT ATC ATA
Leucina	Leu	L	TTA TTG CTT CTC CTA CTG
Lisina	Lis	K	AAA AAG
Metionina	Met	M	ATG
Fenilalanina	Phe	F	TTT TTC
Prolina	Pro	P	CCT CCC CCA CCG
Serina	Ser	S	TCT TCC TCA TCG AGT AGC
Treonina	Thr	T	ACT ACC ACA ACG
Triptofano	Trp	W	TGG
Tirosina	Tyr	Y	TAT TAC
Valina	Val	V	GTT GTC GTA GTG
Códon de terminação	Stop		TAA TAG TGA

Antes de liberar o resultado de um teste genotípico, a lista de mutações na sequência deve ser examinada a fim de identificar aquelas mutações associadas à resistência com a suscetibilidade diminuída ao ARV. Este processo geralmente é realizado pelo sistema de interpretação da resistência genotípica utilizada pelo laboratório que está realizando a sequência. Existem vários sistemas de interpretação utilizados, alguns estando disponíveis *on-line* ao público. Existem dois kits disponíveis comercialmente para o teste de interpretação de

resistência genotípica: o TRUGENE Genotyping Assay (Siems, USA) e o Celera ViroSeq HIV-1 Genotyping System (TANG & SHAFER, 2012).

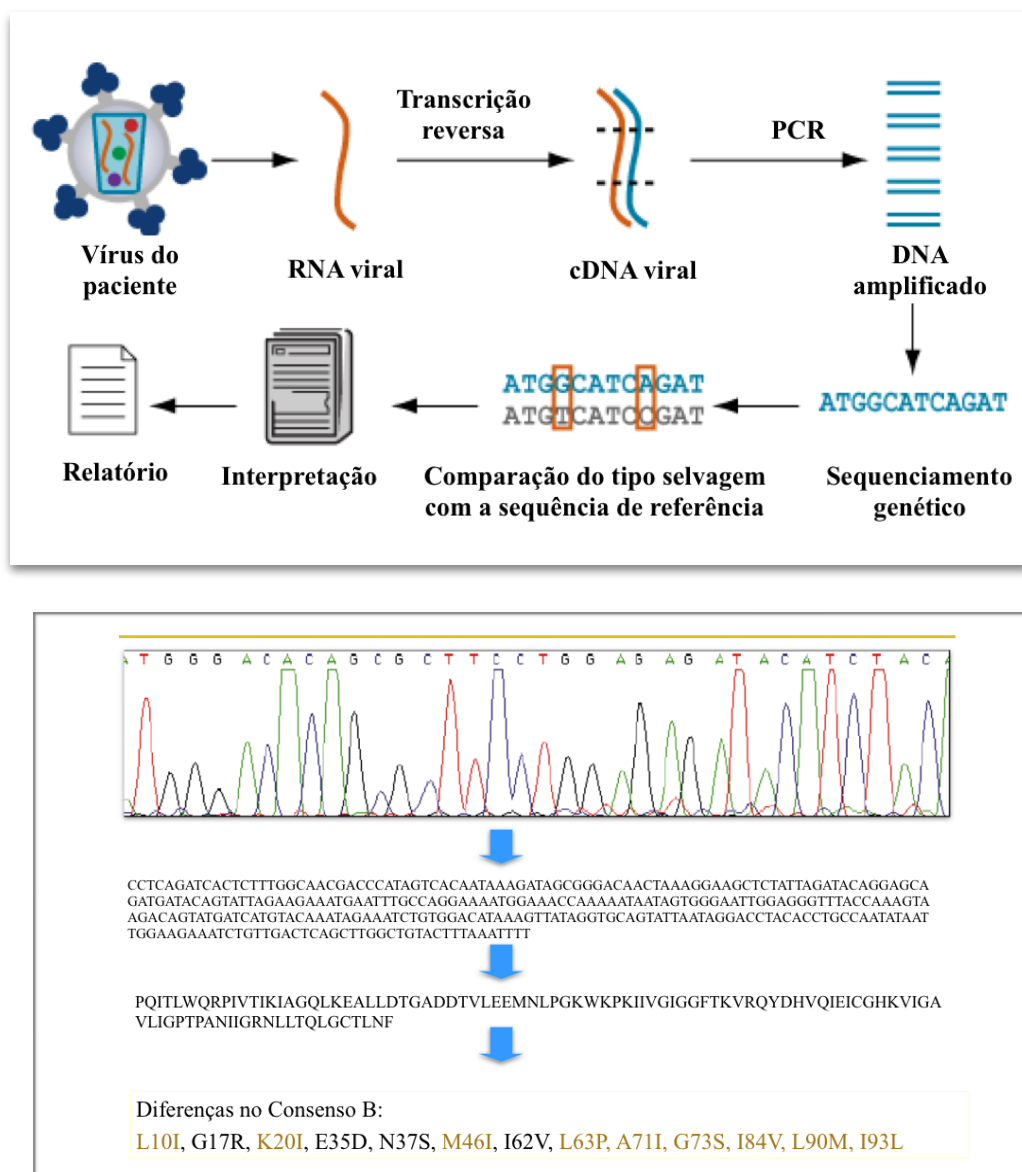


Figura 28. O teste genotípico é realizado identificando um padrão de mutação do vírus HIV obtido de uma amostra do plasma do indivíduo. Este padrão genético específico está associado com resistência ao ARV específico fornecendo uma previsão de suscetibilidade

Passos laboratoriais do teste de genotipagem:

1. Purificação do RNA ou DNA do HIV-1 presente na amostra de sangue do paciente.
2. Transcrição reversa (transformação de RNA viral em cDNA; nos casos em que o RNA foi purificado).
3. Amplificação da região da TR e da PR pela metodologia da PCR.

4. Sequenciamento do genoma do HIV no fragmento amplificado pela PCR.
5. Produção de uma lista de mutações dos códons relacionados com resistência aos ARVs.
6. Interpretação, onde se correlaciona as mutações presentes com a possível diminuição de suscetibilidade de cada um dos medicamentos ou em alguns casos com associações de medicamentos (ex. ATV/r, TDF+3TC) (DIAZ, 2011).

Testes de Resistência na prática clínica: Os guidelines dos EUA, *Department of Health and Human Services* (DHHS), o *International AIDS Society* (IAS) e os guidelines europeus (EACS, BHIVA, PENTA) recomendam que o teste de resistência aos ARVs devam ser realizados em pacientes recentemente diagnosticados com infecção pelo HIV-1, antes do início de TARV, e em pacientes com falha terapêutica (DHHS, 2016; IAS, 2015; EACS, 2015; BHIVA, 2015; PENTA, 2015). No Brasil, os critérios da Renageno para solicitação do teste de Genotipagem do HIV-1 são: (i) falha terapêutica virológica confirmada com dois resultados de carga viral acima de 1.000 cópias/mL, com intervalo mínimo de 4 semanas; (ii) o paciente deve estar em uso de TARV durante no mínimo 6 meses, em adultos; (iii) genotipagem pré-tratamento ou primária está liberada somente em crianças, gestantes e parceria sorodiscordante confirmada (BRASIL, 2015).

A falha terapêutica pode ser categorizada em falha virológica, falha imunológica e falha clínica, ou a associação de todas elas. A falha virológica incompleta ocorre como uma resposta inicial ao tratamento ou como um rebote viral após supressão viral ser atingida. A supressão viral é definida como ter carga viral plasmática abaixo do menor nível de quantificação utilizando o teste mais sensível (20-75 cópias/mL). A falha virológica em crianças é definida com cargas virais plasmáticas >200 cópias/mL confirmadas, após 6 meses de terapia. Como os lactentes possuem cargas virais plasmáticas muito elevadas no início da terapia ARV, ocasionalmente levam um período mais longo que 6 meses para alcançar supressão virológica e alguns experts mantêm o esquema para estes lactentes se a carga viral estiver em declínio, embora ainda >200 cópias/mL (DHHS, 2016). Alguns estudos em adultos mostraram que cargas virais repetidamente entre 50 e 200 cópias/mL podem estar associadas com um risco elevado de falha virológica (LAPRISE *et al*, 2013, VANDENHENDE *et al*, 2015). Os *blips* são definidos como episódios isolados de carga viral detectável em níveis baixos, <500 cópias/mL, seguidos pelo retorno de supressão viral; são comuns e geralmente não refletem falha virológica. A detecção de carga viral plasmática repetida ou persistente acima de >200 cópias/mL

(especialmente >500 cópias/mL), após ter alcançado supressão virológica geralmente representa falha virológica (GRENNAN, 2012).

O PCDT de Adultos e adolescentes e o PCDT de Crianças e Adolescentes definem falha virológica a detecção de RNA HIV-1 superior a 50 cópias/ml após 24 semanas de TARV. De uma forma geral, frente a qualquer replicação viral após a obtenção de valores indetectáveis recomenda-se repetir o exame de CV em períodos de 4 semanas para confirmar o resultado (BRASIL, 2014 e 2015).

Os testes genotípicos são mais frequentemente utilizados que os testes fenotípicos porque eles têm menor custo, maior rapidez em sua execução e liberação de resultado, em média de 14 a 30 dias. Além do mais, são superiores em detectar as mutações de resistência mesmo antes da mudança fenotípica (TANG & SHAFER, 2012).

O teste fenotípico é particularmente útil para determinar a suscetibilidade de ARV recentemente aprovados para os quais as mutações relacionadas a resistência ainda não foram bem definidas. Na prática clínica, é útil para determinar a suscetibilidade dos vírus com padrões mutacionais complexos. É particularmente relevante para selecionar um IP para resgate terapêutico porque os padrões de mutações dos IP podem ser difíceis de interpretar (TANG & SHAFER, 2012).

A vigilância das mutações que conferem resistência aos ARV é realizada pela OMS (BENNET et al, 2009), IAS-US (WENSING *et al*, 2015). Existem vários algoritmos para análise das mutações, IAS, Stanford, Renageno (STANFORD HIV DRUG RESISTANCE DATABASE, 2015; IAS, 2015)

1.8.1 Variantes Virais Minoritárias de Resistência às Drogas

Embora o teste genotípico demonstre ser mais sensível que o teste fenotípico em detectar mutações presentes como parte de uma mistura, o teste genotípico padrão é incapaz de detectar de forma confiável as variantes minoritárias resistentes presentes em níveis abaixo de 20% da população viral circulante. Na última década, a distribuição de variantes minoritárias resistentes aos ARV em indivíduos virgens e experimentados de terapia tem sido estudada usando limites de diluição no sequenciamento clonal (também denominado como sequenciamento genômico único), testes de mutações pontuais e *deep sequencing*, que utiliza novas tecnologias de sequência com 'paralelo maciço' *massively parallel* (TANG & SHAFER, 2012).

Estes estudos mostraram que as mutações principais de resistência em variantes minoritárias variam de 1 a 20%, são frequentemente detectadas em pacientes experimentados de terapia e ocasionalmente são detectadas em pacientes virgens de terapia. Os estudos que examinaram a significância clínica de mutações de resistência em variantes minoritárias demonstraram que as mutações de resistência principais aos ITRNNs em variantes minoritárias, tais como as K103N presentes em níveis tão baixo como 1%, parecem interferirem com a eficácia dos esquemas subsequentes contendo ITRNN.

Os métodos para detecção de variantes minoritárias são utilizadas, no presente, principalmente em setores de pesquisa, porque o teste de resistência genotípica padrão tem sido amplamente usado na prática clínica há cerca de quinze anos e uma vasta literatura corrobora a reprodutibilidade desta tecnologia na significância clínica das mutações presentes em níveis detectáveis. Além disso, os dois métodos com potencial comercialmente viável para detectar mutações de resistência em variantes minoritárias, os testes de mutações pontuais e *deep sequencing*, enfrentam desafios técnicos antes deles serem utilizados na prática clínica. Finalmente, a significância clínica de populações minoritárias além da resistência associada aos ITRNN necessita de mais estudos (TANG & SHAFER, 2012).

1.9 Subtipos de vírus não-B

Os antirretrovirais são tão eficazes em vírus HIV-1 do grupo M nos subtipos não-B quanto nos subtipos B principalmente encontrados nos EUA e na Europa. As mutações que causam resistência nos vírus do subtipo B causam também resistência nos outros subtipos. No entanto, os subtipos variam em suas tendências para desenvolverem mutações específicas como resultado de três fatores potenciais: (i) diferenças entre os aminoácidos no uso do códon; (ii) diferenças entre os aminoácidos do subtipo que resultam em diferenças estruturais sutis ou mínimas no alvo da terapia; (iii) diferenças entre os subtipos no contexto de sequência em torno de um nucleotídeo na qual uma substituição resulta numa mutação de resistência (TANG & SHAFER, 2012).

A tendência para os vírus do subtipo C de desenvolverem a mutação V106M durante o tratamento com ITRNN- mais que V106A, que é mais frequentemente observado em vírus do subtipo B- resulta do fato que a V106 é codificada pelo GTA nos vírus do subtipo B e a GTG

nos vírus do subtipo C. Uma única transição G para A (o erro mais comum da transcriptase reversa) na primeira posição do códon 106 nos vírus do subtipo C resulta em V106M, que confere alto nível de resistência ao EFV e à NVP. Em contraste, nos vírus do subtipo B, a V106M necessita de duas substituições de nucleotídeos (GTA---> ATG), e portanto ocorre raramente. Um fenômeno semelhante tem sido observado no códon 82 da protease nos vírus do subtipo C para desenvolver a mal caracterizada V82M (DIAZ, 2011; TANG & SHAFER, 2012).

As diferenças nos aminoácidos entre os subtipos podem gerar diferenças mínimas no microambiente estrutural que podem predispor o HIV-1 para mutações diferentes sob pressões seletivas similares. Por exemplo, os pacientes infectados pelo subtipo B recebendo NFV são mais prováveis de desenvolverem a mutação D30N do que aqueles com vírus pertencentes aos subtipos C, F, G e CRF 01-AE, que são mais propensos a desenvolverem L90M ou N88S. Estudos *in vitro* têm sugerido que diferenças entre subtipos no aminoácido consenso na posição 89 com leucina (L) no subtipo B e metionina (M) na maioria dos outros subtipos, são responsáveis pelos diferentes padrões de resistência observados.

Várias linhas de evidências sugerem que os pacientes infectados com subtipo C tratados com d4T/3TC/EFV ou d4T/3TC/NVP podem ser mais propensos a desenvolver mutação de resistência para ITRN, K65R, que os pacientes infectados com os subtipos B. A pesquisa bioquímica sofisticada sugere que o contexto de uma única sequência na região da K65R, especificamente numa extensão de cinco adenosinas consecutivas precedendo a adenosina na segunda posição do códon K65R, torna mais provável que seja uma mutação durante a transcrição reversa (TANG & SHAFER, 2012).

A falha terapêutica no subtipo C é caracterizada pela alta resistência ao esquema ARV de primeira linha incluindo EFV, NVP e lamivudina, com resistência aos nucleosídeos incluindo as mutações de análogos timidínicos da via mutacional 2 (TAM 2), K65R, T69~~del~~ e M184V. No entanto os algoritmos de previsão de resistência genotípica são principalmente baseados no subtipo B e podem sub ou hiperestimar resistência no subtipo não B (DERACHE *et al*, 2016).

1.10 Resistência Transmitida

A resistência transmitida às drogas resulta de uma infecção com uma cepa de HIV-1 contendo uma ou mais mutações associadas à resistência. A transmissão de uma cepa resistente geralmente ocorre no momento da infecção, mas pode também ocorrer com uma exposição subsequente, denominado como super-infecção pelo HIV-1. Essas cepas podem ser transmitidas de indivíduos virgens de tratamento ou de pessoas experimentados de terapia em falha virológica. (BAXTER et al, 2015). A resistência transmitida tem sido relacionado com um risco elevado de resposta virológica sub-ótima para os esquemas iniciais de ARV e podem também ter impacto nas opções de terapia no futuro (PAREDES et all, 2010).

No ensaio clínico *Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment* (START), foi analisada a resistência baseada na definição da OMS de 2009 modificada para as novas mutações (T215N/F/Y e E138A) através do teste de resistência genotípica. Foram avaliados 1946 participantes no estudo. As taxas mais elevadas de resistência ocorreram na Europa (86,7%), nos Estados Unidos (81,3%), Austrália (89,9%) comparadas com a Ásia (22,2%), América do Sul (1,8%) e África (0,1%). A prevalência total de resistência transmitida foi de 10,1%, mais frequente para ITRNN (4,5%), ITRN (4%) comparada com IP (2,8%). As mutações mais frequentes observados na transcriptase reversa foram M41L, D67N/G/E, T215F/Y/I/S/C/D/E/V/N, 219Q/E/N/R para ITRN; K103N/S e Q190A/S/E para ITRNN; na protease foram M46I/L e L90M. Por países, a prevalência foi mais elevada na Austrália (17,5%), França (16,7%), nos Estados Unidos (12,6%) e Espanha (12,6%) (BAXTER, 2015).

Embora os pacientes infectados com um vírus contendo uma mais mutações de resistência transmitida sejam mais prováveis de albergar variantes minoritárias resistentes, a resposta virológica para um esquema baseado nos resultados de um teste genotípico padrão parece ser quase tão eficaz quanto o tratamento inicial de um paciente sem resistência transmitida. No entanto, os pacientes com resistência transmitida de ITRNN devem provavelmente ser tratados com um regime com uma barreira genética alta como IP/r combinado com dois ITRNs. O regimes com barreira genética mais baixa, tais como raltegravir ou rilpivirina associados a dois ITRNs, podem representar um risco elevado de falha virológica como um resultado adicional de variantes minoritárias de ITRN e ITRNN (TANG & SHAFFER, 2012).

Em um estudo realizado em São Paulo, o teste de genotipagem foi executado em 217 pacientes infectados pelo HIV, dos quais 31 eram crianças e adolescentes, virgens de terapia ARV, num período de 2012 a 2014. As mutações de resistência transmitidas foram identificadas

em 23,5% dos pacientes, que apresentaram uma ou mais mutações de resistência, sendo 5,3% para ITRN (GUIMARÃES et al, 2015).

O tratamento do HIV-1 em crianças está associado com um risco elevado de falha virológica. Além de fatores relacionados à variabilidade farmacocinética e opções terapêuticas limitadas, a exposição materna aos ARV utilizados na profilaxia da transmissão vertical podem ocasionar em resistência transmitida. Principalmente relacionado à nevirapina, anteriormente utilizada em dose única nos países da África, ou em mães previamente tratadas com outros esquemas ARV (PALUMBO, 2010; HAUSER, 2011; PENAZZATO, 2014).

1.11 Falha Terapêutica Antirretroviral ao Esquema de Primeira Linha

As causas de falha terapêutica virológica são multifatoriais. Nos pacientes recebendo esquemas ARV de alta barreira genética para resistência, tais como os recomendados pelo guidelines DHHS, as causas mais frequentes são a falta de adesão, potencialmente fatores farmacológicos ou resistência transmitida de cepas minoritárias. Nas regiões com recursos limitados, desafios adicionais incluem o acesso intermitente aos ARV, menos opções de drogas ARV, toxicidade ou intolerância medicamentosa e supressão virológica incompleta em pacientes com níveis plasmáticos elevados de RNA HIV-1 que são tratados com esquemas ARV com baixa barreira genética. Antes de selecionar um esquema ARV de segunda linha, o teste de genotipagem pode indicar se a falha virológica foi devido primariamente à falta de adesão, se não são detectadas mutações de resistência (DHHS, 2016; TANG & SHAFER, 2012).

Na falha virológica para um esquema ARV de primeira linha, o grau ou extensão da resistência é mais ou menos proporcional à duração da replicação do vírus não controlada em relação à pressão seletiva da droga. Se o esquema é mantido, sem a supressão viral, ocorrerá acúmulo de mutações e níveis mais elevados de resistência cruzada.

As tabelas 2 e 3 apresetam um resumo dos padrões de resistência mais comuns associadas com os esquemas de primeira linha recomendados pelos guidelines (DHHS, WHO), e fornecem uma orientação para selecionar a terapia de segunda linha baseada nesses padrões. A tabela 2 descreve os padrões de resistência frequentemente observados com o uso de ITRN. Se na presença isolada da M184V (o cenário mais comum em pacientes monitorados com

regularidade), o TDF/3TC ou TDF/FTC deve provavelmente ser usado como parte da terapia de segunda linha, tenha o TDF sido ou não utilizado no primeiro esquema. A opção de AZT/3TC é uma alternativa aceitável. Se as TAM estão presentes, como ocorre com frequência em pacientes recebendo um regime contendo AZT ou d4T, a escolha de TDF é preferencial para compor o esquema de segunda linha. Na presença de K65R, como ocasionalmente ocorre em regimens contendo TDF ou d4T, a opção preferencial seria AZT/3TC para terapia de segunda linha. A tabela 3 descreve os padrões de resistência observados comumente com esquemas de primeira linha contendo os ITRNN. Esta tabela destaca a importância de IP reforçado na terapia de segunda linha.

Tabela 5 - Perfil de resistência genotípica associada com 2 ITRNs utilizados em TARV inicial: implicações para opções de ITRNs para TARV de segunda linha.

Terapia 1ª linha		Mutações precoces	Mutações tardias	Estratégia para terapia 2ª linha		
Base	Backbone			ITRNs	Base	Alternativa
EFV	2 ITRNs	M184V e/ou 1-2 DRMs de ITRNN	DRMs adicionais de ITRN e ITRNN	2 ITRNs	DRV/r	ATV/r ou LPV/r >RAL ou MVC
NVP	2 ITRNs	M184V e/ou 1-2 DRMs de ITRNN	DRMs adicionais de ITRN e ITRNN	2 ITRNs	DRV/r	ATV/r ou LPV/r >RAL ou MVC
ATV/r	2 ITRNs	M184V	DRMs adicionais de ITRN e raro DRMs ATV/r	2 ITRNs	DRV/r	LPV/r ou DRV/r ou RAL > MVC
LPV/r	2 ITRNs	M184V	DRMs adicionais de ITRN e raro DRMs LPV/r	2 ITRNs	DRV/r	RAL > MVC
DRV/r	2 ITRNs	M184V	DRMs adicionais ITRN	2 ITRNs	DRV/r ou RAL	RAL > MVC
RAL	2 ITRNs	M184V +/- 1-2 DRMs de RAL	DRMs adicionais de ITRN e DRMs RAL	2 ITRNs	DRV/r	LPV/r ou ATV/r > ETR ou EFV ou MVC

As mutações tardias representam alto nível de multirresistência aos ITRNs associadas ao complexo Q151M ou a inserção T69, são observadas quase que exclusivamente com regimes contendo AZT/3TC e d4T/3TC ou com ddI. TAMs: M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y e K219QE.

O ABC é geralmente uma opção inferior para resgate comparada ao TDF porque a M184V diminui a suscetibilidade para o ABC mas aumenta a suscetibilidade para o TDF. Para pacientes sob alto risco para resistência avançada aos ITRNs e poucas opções disponíveis de tratamento, alguns experts tem orientado o uso de TDF/FTC/AZT ou AZT/3TC/ABC. **ARV**=antirretroviral; **ITRN**=inibidor de transcriptase reversa análogo de nucleosídeo; **TAMs**=*Thymidine-analogue associated mutations*; > indica que ocorre mais frequente que; >> indica que ocorre muito mais frequente que. Adaptada de TANG & SHAFER, 2012.

Tabela 6. Perfil de resistência genotípica associada com a falha de TARV inicial: implicações para escolha de TARV de segunda linha.

ITRN	Mutações precoces	Mutações tardias	Esquema recomendado de 2ª linha
TDF/FTC	M184V	K65R>K70E	Continuar TDF/3TC, a não ser que a K65R ou K70E estão, neste caso usar AZT/3TC
TDF/3TC	M184V, K65R	K65R>K70E	Continuar TDF/3TC ou troca para TDF/3TC, a não ser que a K65R ou a K70E estão presentes, neste caso usar AZT/3TC
ABC/3TC	M184V	L74V>K65R, Y115Y	Trocar para TDF/3TC, a não ser que a K65R ou K70E estão presentes, neste caso usar AZT/3TC
AZT/3TC	M184V	TAMs>>> Q151M T69ins	Trocar para TDF/3TC
d4T/3TC	M184V	TAMs>K65R >>Q151M, T69ins	Trocar para TDF/3TC

As mutações principais mais frequentes de resistência aos ARVs para os ARV de primeira linha incluem: EFV-K103N, G190S, Y188L, e V106M; NVP-Y181C, K103N, G190A/S, Y188L, e V106A/M; ATV/r-I50L e N88S; LPV/r-M46I, I54V, V82A e L76V; RAL-Q148HRK, N155H e Y143CR. **ARV**=antirretroviral, **DRM**=drug resistance mutations, **ITRN**= inibidor de transcriptase reversa análogo de nucleosídeo, **IP**=inibidor de protease. Adaptada de TANG & SHAFFER, 2012

1.12 Terapia de Resgate para Esquemas de Segunda linha e Resistência Múltipla aos ARV

Os princípios da terapia de resgate devem ser similares para todos os pacientes que falharam a seus esquemas ARV, tanto no primeiro como nos esquemas subsequentes, isto é, o esquema de resgate deve ser suficientemente potente para suprimir os vírus para níveis abaixo do limite de detecção e devem possuir uma barreira genética de resistência suficientemente alta para impedir o rebote virológico ou para manter uma resposta virológica sustentada. Portanto, o esquema de resgate deve ter pelo menos duas ou preferencialmente três drogas ARV plenamente ativas (DHHS,2015; TANG & SHAFFER, 2012). As drogas selecionadas para

compor o esquema devem ser baseadas na probabilidade que elas serão ativas. Para isso, deve-se realizar uma investigação minuciosa do histórico de tratamento do paciente, tanto dos ARV prévios como outros medicamentos em uso atual, testes de resistências atuais e prévios às drogas, comorbidades, nível de RNA HIV, contagem de célula CD4. O teste fenotípico também é frequentemente útil em pacientes com resistência avançada, particularmente para avaliar a suscetibilidade dos IP e da Etravirina, que possuem padrões mutacionais que podem ser difíceis de interpretação (TANG & SHAFER, 2012).

A maior parte dos ARV frequentemente utilizados para resgate avançado de terapia são o DRV/r, ETR, RAL, MVC, ITRN e, ocasionalmente, o T20 e TPV/r. Os ARV na terapia de resgate podem ser colocados na seguinte hierarquia: (a) ARV pertencentes a uma classe de droga não utilizada previamente; (b) ARV pertencentes à classe de droga previamente utilizada mas que mantêm atividade antiviral residual significativa; (c) combinações de ITRN, como aqueles que parecem comumente manter atividade virológica *in vivo* mesmo na presença de suscetibilidade reduzida de ITRN *in vitro*; e (d) ARV associados com falha virológica prévia e resistência à droga que parecem ter possibilidade de recuperar sua atividade como resultado de reversão viral para tipo selvagem (TANG & SHAFER, 2012).

Classe de Antirretroviral Não Utilizada Previamente: A maioria dos ARV frequentemente utilizados nesta categoria incluem os inibidores de integrase (INI), o maraviroque (MVC) e a enfuvirtida (T20). São recomendadas preferencialmente duas classes novas de ARV para construir o regime de resgate, mas uma classe nova combinada com ARV parcialmente ou plenamente ativos de classes previamente utilizadas podem ser suficientes para atingir a supressão virológica sustentada (TANG & SHAFER, 2012). Estes dados foram exemplificados no estudo TRIO, no qual 86% dos pacientes que tiveram uso prévio de ITRN, ITRNN e experimentados de IP, alcançaram supressão virológica com 48 semanas quando foram tratados com raltegravir (um ARV pertencente a uma classe não utilizada previamente) associado com etravirina e darunavir com reforço de ritonavir (ARV novos de classes de ARV utilizados anteriormente) em combinação com um esquema de base otimizada (YAZDANPANAHI *et al*, 2009).

Antirretrovirais Pertencentes a Classes de Drogas Previamente Utilizadas: Os inibidores da protease são componentes importantes para a terapia de resgate devido à sua elevada barreira genética para resistência e incompleta resistência cruzada entre a classe. (RHEE *et al*, 2010). Por exemplo, a assinatura das mutações de resistência associadas com o ATV/r, I50L e

N88S, não confere resistência para outros IP, e a I50L confere suscetibilidade elevada para outros IP (COLONNO *et al*, 2004; ZIERMANN *et al*, 2000). O atazanavir/r é frequentemente utilizado em pacientes experimentados com ITRNN e virgens do uso de IP, mas não em pacientes experimentados de IP porque as mutações de resistência selecionadas por outros inibidores de protease causam resistência cruzada com ATV/r (RHEE *et al*, 2010). Portanto, a maioria dos IP frequentemente utilizados em terapia de resgate são o LPV/r (particularmente em regiões de recursos limitados), o DRV/r e menos comumente o TPV/r.

O lopinavir/r é útil na terapia de resgate por causa de sua alta barreira genética de resistência e frequentemente retém atividade antiviral contra muitos vírus que desenvolveram resistência aos outros IP. No entanto, o LPV/r tem menor barreira genética que o DRV/r e também é menos eficaz que o DRV/r em pacientes tratados previamente com IP, como foi demonstrado no estudo TITAN (MADRUGA *et al*, 2007). A falha virológica para o LPV/r está associada à emergência de vírus com duas distintas vias mutacionais: uma que mantém sensibilidade para o DRV/r (caracterizado pelo desenvolvimento da M46I, I54V, V82A) versus aquela que confere resistência cruzada para o DRV/r (caracterizado pelo desenvolvimento de L76V e menos comumente V32I, I47A e I50V) (BARBER *et al*, 2012). O darunavir/r é, em geral, o IP mais ativo contra os vírus que desenvolveram resistência para os outros IP (POZNIAK *et al*, 2008). Além do mais, os vírus resistentes ao DRV/r são geralmente resistentes para todos os outros IPs, com exceção ocasional do tipranavir (RESIST). Existem algumas mutações genótípicas chave que podem corroborar na identificação de vírus pelos quais o TPV/r pode ser mais ativo que o DRV/r: I50V, I54L e L76V (BETHELL *et al*, 2012).

A etravirina (ETR) é o único ITRNN recomendado para terapia de resgate em pacientes com vírus resistentes a NVP e EFV. Se o teste genotípico revela poucas mutações de resistência associada a ETR, esta pode ser um adjunto importante para a terapia de resgate. Todavia, o uso da ETR seguido da falha de outro ITRNN necessita da inclusão de pelo menos uma nova classe de ARV, particularmente se teve falha prévia de ITRNN associada com replicação viral prolongada na presença da pressão seletiva de ITRNN. Este cenário aumenta a probabilidade do paciente albergar cepas de variantes minoritárias múltiplas de vírus resistentes ao ITRNN, incluindo algumas cepas associadas com alto nível de resistência à ETR (HAUSER, *et al*, 2011).

O dolutegravir (DTG) é o único inibidor de integrase (INI) para terapia de resgate em pacientes experimentados de INI. No ensaio clínico VIKING-4, foram analisados pacientes adultos com vírus resistentes aos INI (falha virológica ao EVG ou RAL), e que apresentavam ampla resistência às classes de ARV (resistência ≥ 2 classes de ARVs), mas com pelo menos uma opção de droga plenamente ativa. Este estudo foi complementar ao ensaio VIKING-3, que

previamente demonstrou que DTG era ativo em pacientes falhados de INI. No estudo VIKING-4 foram incluídos um controle de placebo em monoterapia para demonstrar que a atividade antiviral era atribuída ao DTG (AKIL, 2015; CASTAGNA, 2014).

No estudo SALING, demonstrou-se que o DTG combinado com um regime de *backbone* otimizado, foi virologicamente superior comparado com o RAL em pacientes experimentados de ARV e virgens de INI. Foram analisados 715 pacientes (354 com DTG, 361 com RAL). Os pacientes que usaram DTG (71%) tiveram níveis de RNA HIV-1 <50 cópias/mL, versus 64% dos pacientes que fizeram uso de RAL, até 48 semanas do estudo (CAHN *et al*, 2013).

Existem atualmente 29 drogas antirretrovirais (ARV) aprovadas pelo FDA para tratamento da infecção pelo HIV (GULICK, 2015). São drogas distribuídas em seis classes diferentes de antirretrovirais (ARV): sete inibidores da transcriptase reversa análogos aos nucleosídeos (ITRN), cinco inibidores da transcriptase reversa não análogos aos nucleosídeos (ITRNN), nove inibidores da protease (IP), um inibidor da fusão, um antagonista de receptor CC5 de quimiocina (CCR5) e três inibidores da integrase (INI) (tabela 1). Alguns desses ARV foram retirados da prática clínica devido a toxicidade (ddC, d4T, IDV), outros tiveram seu uso descontinuado pela baixa atividade antiviral associada ou não a toxicidade (delavirdina, NFV, RTV). O ritonavir (RTV) foi mantido em baixa dose como reforço para os outros IP. O cobicistat é utilizado como *boosted* em combinação com ARV. No Brasil, não foram registrados o FTC, RPV, EVG e o cobicistat. O DTG teve seu registro aprovado pela Agência Vigilância de Saúde (ANVISA) em 2014, previsto sua distribuição para uso nos pacientes atendidos na rede pública em janeiro de 2017. Embora existem vários ARV para uso em pacientes adultos, nem todas as drogas são liberadas para uso em crianças e adolescentes. Dos 29 ARV atualmente aprovados em adultos, apenas 18 são aprovados para uso em crianças. A disponibilidade do ARV na criança depende da faixa etária e nos adolescentes avalia-se a maturidade sexual através do estágio de Tanner (estágios I, II, III, IV e V; vide anexo C). Os adolescentes com estágio IV e V seguem a recomendação do uso de ARV dos guidelines de adultos (DHHS, 2016; PCDT, 2015).

Tabela 7. Antirretrovirais atualmente licenciados pelo FDA, para uso em adultos e crianças

Nome genérico	Abreviação	Idade***	Disponibilidade Brasil:
Inibidores da transcriptase reversa análogos aos nucleos(t)ídeos (ITRNs)			

Abacavir	ABC	≥ 3 meses	2001
Didanosina	ddI	≥ 14 dias	1998
Emtricitabine	FTC	≥ 3 meses	Não disponível
Estavudina	d4T	Neonato	1997
Lamivudina	3TC	Neonato	1999
Tenofovir	TDF	> 2 anos	2003
Zidovudina	AZT, ZDV	Neonato	1993
Inibidores da transcriptase reversa não-análogos aos nucleosídeos (ITRNNs)			
Delavirdine	DLV	> 18 anos	Não disponível
Efavirenz	EFV	≥ 3 anos	1999
Etravirina	ETR	≥ 6 anos	2010
Nevirapina	NVP	Neonato	2001
Rilpivirine	RPV	≥ 12 anos	Não disponível
Inibidores da protease (IPs)			
Atazanavir	ATV	> 3 meses	2002
Darunavir	DRV	> 3 anos	2007
Fosamprenavir	FPV	> 6 meses	2008
Indinavir	IDV	> 18 anos	1997
Lopinavir/ritonavir	LPVr	≥ 14 dias	2001
Nelfinavir	NFV	> 2 anos	1998
Ritonavir	RTV, /r	Reforço dos IPs	1996
Saquinavir	SQV	≥ 2 anos; > 16	1996
Tipranavir	TPV	≥ 2 anos	2011
Inibidores da integrase			
Dolutegravir	DTG	≥ 12 anos	2014*
Elvitegravir	EVG	> 12 anos	Não disponível

Raltegravir	RAL	≥ 4 semanas	2008
Antagonista de CCR			
Maraviroque	MVC	≥ 18 anos	2013
Inibidor de fusão			
Enfuvirtida (T20)	ENF	≥ 6 anos	2005

CCR5=CC *chemokine receptor* 5; /r indica reforçado (*boosted*) pelo ritonavir; FDA, US Food and Drug Administration. Adaptada GUPTA *et al*, 2009; PCDT em Crianças e Adolescentes, 2014. www.aids.gov.br/publicações Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection. Available at <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/pediatricguidelines.pdf>. Março de 2016.

2 JUSTIFICATIVA

Existem inúmeros desafios no tratamento de crianças e adolescentes infectados pelo HIV, incluindo a necessidade de drogas ARV com formulações pediátricas, palatáveis, seguras e eficazes; ausência de estudo de farmacocinética em lactentes para as novas classes já utilizadas em adultos (dolutegravir, MVC, por exemplo); esquema com dose fixa combinada favorecendo a comodidade posológica e consequentemente a melhora na adesão ao tratamento; necessidade de monitorar a toxicidade das drogas. É de fundamental importância a identificação precoce dos pacientes que não estão respondendo ao tratamento ARV, reforçando a adesão e monitorando a carga viral, e, consequentemente, indicar a realização do teste de resistência se ocorreu a falha virológica.

As estratégias de eliminação de novas infecções HIV em crianças e melhora da saúde e sobrevivência das mães e seus filhos no contexto do HIV foram parte dos objetivos da UNAIDS para o ano de 2015. Com certeza houve progresso, mas ainda há transmissão perinatal do HIV inclusive em 2016.

Mais esforços são necessários para o diagnóstico e tratamento ARV precoce da infecção pelo HIV em lactentes ou neonatos, a fim de reduzir a progressão para aids, óbito e diminuir os vírus em latência em seus reservatórios. Apesar do aumento de 84% no acesso à terapia ARV desde 2010, somente 35% das crianças abaixo de 15 anos vivendo com HIV e aids mundialmente estavam em TARV até o final de 2015, segundo relato da UNAIDS 2015.

O incremento na sobrevida e qualidade de vida são os objetivos do tratamento de doenças crônicas. Futuras abordagens terapêuticas deverão buscar a erradicação dos reservatórios do HIV, intensificando a pesquisa, já em andamento, em direção a cura da infecção pelo HIV.

As crianças são mais vulneráveis em situações de doenças, pois, além da imaturidade imune, estão em desenvolvimento neurológico, cognitivo e todos devemos nos esforçar para não tirar delas a plenitude da infância.

O teste de resistência genotípica é um instrumento valioso para o manejo de DRM em crianças e adolescentes e auxilia o clínico na escolha de drogas ativas para alcançar a supressão virológica sustentada.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Analisar o perfil de mutações de resistência aos antirretrovirais em crianças e adolescentes infectadas pelo HIV-1 com falha terapêutica, pelo teste da genotipagem.

3.2 Objetivos Específicos

- Descrever as características clínico-laboratoriais (sexo, idade, classificação clínica e imunológica, esquemas de ARV, tipagem do HIV, contagem de linfócitos T-CD4, nível plasmático de RNA HIV) e os esquemas terapêuticos utilizados em criança e adolescentes infectados pelo HIV-1 com falha terapêutica aos antirretrovirais.
- Avaliar a resposta terapêutica após a troca da TARV baseada no teste genotípico, através da quantificação do PCR HIV-1 e contagem de linfócitos T-CD4.
- Caracterizar a prevalência e o perfil de mutações apresentadas na genotipagem desses pacientes.
- Avaliar o efeito do acúmulo de mutações de resistência em uma ou mais de uma classe de ARV no resgate terapêutico.

4 MÉTODOS

4.1 Modelo do Estudo

Trata-se de um estudo longitudinal com coorte retrospectiva.

4.2 População e Amostragem

O estudo foi realizado em crianças e adolescentes infectados pelo HIV provenientes de vários municípios de Goiás, com diagnóstico de resistência secundária aos ARV através do teste de genotipagem. O período do estudo foi definido pela realização do teste de genotipagem, de março de 2003 a dezembro de 2014, após falha terapêutica virológica. Os pacientes foram atendidos no Hospital de Doenças Tropicais (HDT), no município de Goiânia. O HDT é um serviço de referência em doenças infecto-contagiosas, com atendimento ambulatorial e de internação. A triagem dos pacientes foi realizada nos prontuários e selecionados daqueles que preencheram os critérios de inclusão. Dos 153 prontuários avaliados, 65 foram selecionados para a pesquisa (Fig. 30). Os dados do estudo foram coletados nos prontuários dos pacientes. Os pacientes foram acompanhados no ambulatório do HDT desde o diagnóstico da infecção pelo HIV, com avaliação clínica em consultas mensais ou bimensais. Os exames laboratoriais de contagem de linfócitos T-CD4, e PCR RNA quantitativo (carga viral) do HIV-1 foram realizados rotineiramente a cada 4 ou 6 meses. Foram analisados dados clínicos, epidemiológicos, demográficos, laboratoriais e os esquemas de ARV utilizados pelos pacientes conforme descritos nos prontuários e coleta utilizando-se uma ficha específica (apêndice A).

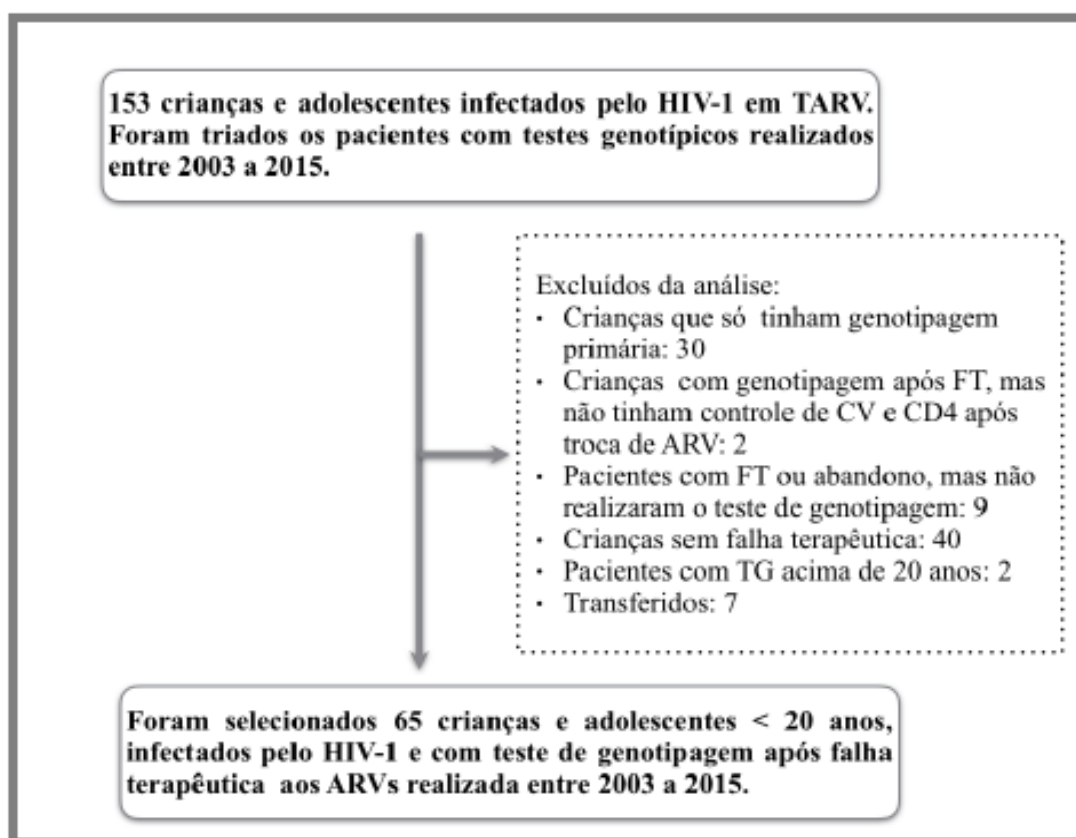


Figura 29. Distribuição dos pacientes no estudo

4.3 Critérios de inclusão

- Foram incluídos no estudo as crianças e adolescentes (até 19 anos, 11 meses e 29 dias de vida) com HIV e AIDS em uso de terapia ARV que apresentaram falha terapêutica e que realizaram teste de genotipagem do HIV;
- Falha virológica confirmada em coleta consecutiva de CV após intervalo mínimo de quatro semanas.
- Uso regular de TARV por pelo menos seis meses, sendo um primeiro esquema terapêutico antirretroviral de qualquer natureza ou de esquema triplo contendo dois ITRN mais um ITRNN ou IP.
- CV detectável, superior a 1.000 cópias/ml na vigência de esquema terapêutico (ou superior aos critérios anteriores da RENAGENO);
- Ter última carga viral realizada no máximo dois meses antes da coleta da genotipagem.

4.4 Critérios de exclusão

- Abandono do esquema terapêutico na ocasião do exame;
- Não realização da carga viral e CD4 após a mudança da TARV baseada no teste genotípico;
- Realização somente do teste de resistência primária;
- Abandono do seguimento ou transferência para outro serviço antes do resultado do teste de genotipagem.

4.5 Teste de genotipagem

As amostras de sangue para os testes de genotipagens foram coletados no Laboratório Central de Goiás (LACEN-GO) e executados pelo laboratório da RENAGENO, através do Programa Nacional DST e Aids do Ministério da Saúde. Após os resultados dos testes genotípicos, estes foram encaminhados ao Hospital de Doenças Tropicais para emissão de relatório com sugestões de esquemas ARV de resgate elaborados pelos médicos de referência em genotipagem (MRG) do Estado de Goiás.

As amostras de sangue foram coletadas no LACEN-GO e armazenadas a -80°C, até a realização do teste. O laboratório de referência da RENAGENO, em Brasília-DF, executou o ensaio de resistência genotípica (extração de RNA, transcrição reversa, amplificação genômica, sequenciamento nucleotídico e edição das sequências). A metodologia do teste genotípico, pelo sequenciamento de DNA, foi realizada utilizando o TrueGene HIV-1 Genotyping Test (Siemens Diagnostics, USA) ou o ViroSeq HIV-1 Genotypic Test (Celera Diagnostics, USA). Em cada teste genotípico foi realizada a amplificação parcial da polimerase do HIV (códon 1-99 da protease e códon 1-325 da transcriptase reversa).

Para a interpretação de resistência aos antirretrovirais foram utilizados o algoritmo Brasileiro (RENAGENO- Algoritmo versão 12, 2012) e o algoritmo The Stanford University HIV Drug Resistance Database (Stanford HIV drug resistance database, 2015; disponível: <http://hivdb.stanford.edu>, resumidas em <http://hivdb.stanford.edu/pages/drugSummaries.html>) (anexos J e K). Os ARV foram classificados como tendo resistência intermediária, alto nível de resistência, ou baixo nível de resistência de acordo com os algoritmos.

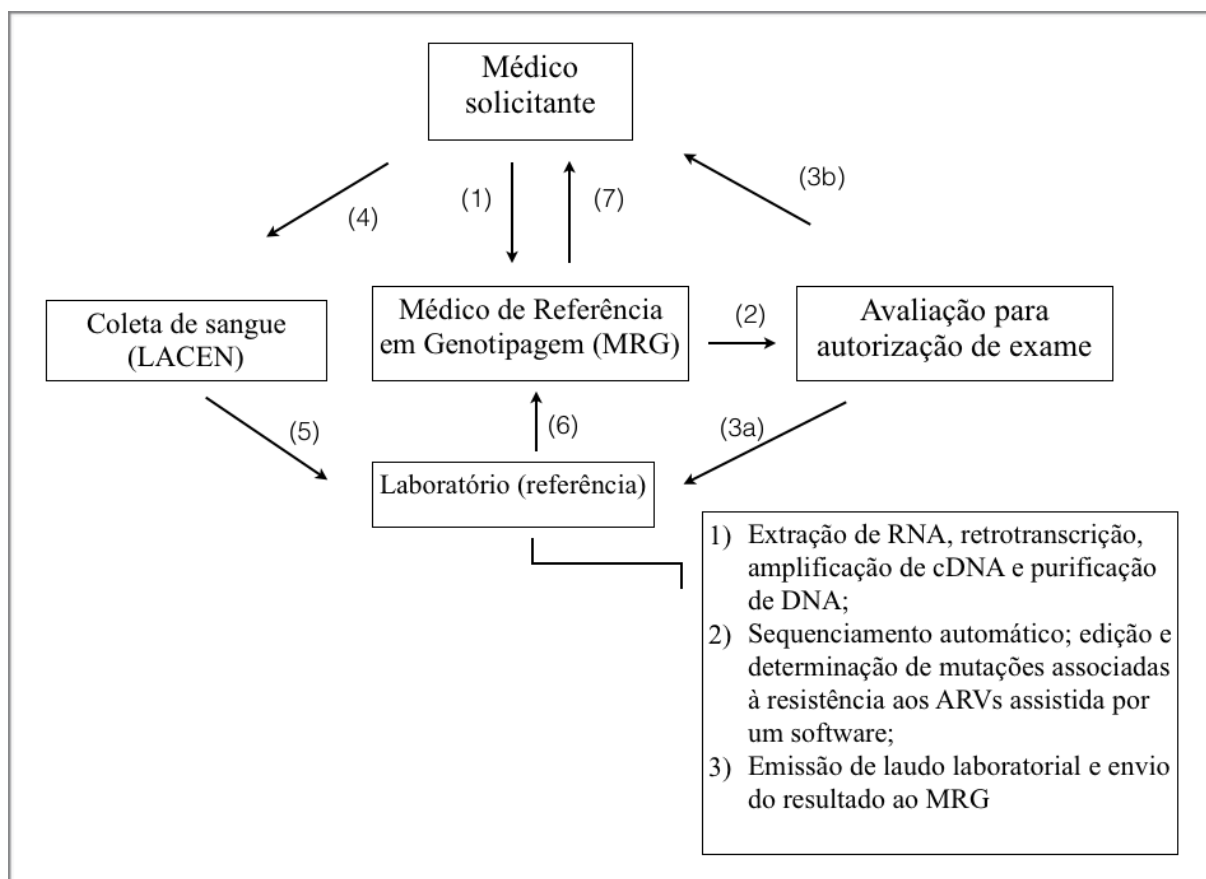


Figura 30. Fluxograma da realização do teste de genotipagem do HIV: (1) médico assistente encaminha solicitação de teste de genotipagem; (2) médico de referência em genotipagem (MRG) avalia a solicitação; (3a) MRG autoriza realização do exame e envia o formulário ao laboratório que realiza o exame; (3b) MRG autoriza realização do exame e envia formulário com autorização. Caso não autorize, envia relatório com a justificativa para a não autorização; (4) médico assistente encaminha paciente para coleta de material para o exame autorizado pelo MRG; (5) material biológico é encaminhado para execução do exame de genotipagem; (6) laudo com resultado da genotipagem é encaminhado para do MRG; (7) MRG avalia laudo laboratorial e envia relatório médico com interpretação clínica e sugestão de esquema terapêutico baseado em dados clínicos e laboratoriais.

Foram avaliadas os perfis mutacionais de resistência conforme as classes dos ARV (ITRN, ITRNN e IP). São analisadas, na transcriptase reversa, as mutações de resistência para os ITRN, descritas como TAM-mutações dos análogos timidínicos (M41L, D67N, K70R, L210W, 215F/Y, K219Q/E), e não-TAM (M184V/I, K65R, 70E, 74LV, 118I, 44A, 115Y). Multirresistência aos ITRN foi definida pela presença de pelo menos três TAM, incluindo a 41L e/ou 210W com comprometimento da sensibilidade de toda classe independentemente da via mutacional; a inserção no códon 69 (69ins), a deleção 67 (del67) e o complexo 151M, conferem resistência extensa a toda classe de ITRN. As principais mutações selecionadas pelos ITRNN, também na transcriptase reversa são: L100I, K101E/P, K103N/S, V106A/M, Y181C/I/V, Y188L, G190A/S/E, e M230L. As seguintes mutações são consideradas principais

na protease: 30N, 32I, 33F, 46I/L, 47V, 48V, 50L/I/V, 54L/M, 58E, 74P, 76V, 82A/T/F/S, 84V, 88S, 90M. Foram analisadas as mutações acessórias da protease.

Para avaliação do efeito cumulativo de falha terapêutica aos antirretrovirais e o desenvolvimento de resistência a estes medicamentos, os pacientes foram divididos em três grupos distintos:

Grupo 1- mutação de resistência de uma única classe de ARV (ITRN ou ITRNN ou IP)

Grupo 2- mutações de resistência em duas classes de ARV (ITRN + ITRNN ou ITRN + IP)

Grupo 3-mutações de resistência às três classes de ARV (ITRN + ITRNN + IP)

4.6 Classificação Clínica e Imunológica

A classificação clínica e imunológica foi baseada na **Classificação da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes menores de 13 anos** *CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION* - CDC-1994 (anexo F).

4.7 Contagem de linfócitos T-CD4 e PCR RNA HIV-1

Os exames laboratoriais de contagem de linfócitos T-CD4 e quantificação do RNA viral do HIV-1 (carga viral) foram previamente realizados a cada 4 ou 6 meses, no Laboratório Central (LACEN-GO). Os testes são executados pela rede pública através da Rede Nacional de Laboratórios de CD4/CD8 e da Rede Nacional de Laboratórios de Carga Viral, implantadas pelo Departamento de DST e Aids e Hepatites Virais em 1997. Os métodos dos testes estão relatados nos resultados dos exames, conforme o período da realização. A contagem de célula CD4 foi executada pela medição de Citometria de Fluxo- Facscalibur- Multitest. Na quantificação do RNA HIV-1 utilizou-se o método RT-PCR Amplicor HIV-1 Monitor (Roche Molecular Systems) durante os anos 1997-2002, assim como o método NASBA (*Nucleic Acid Sequence Based Amplification*) Nuclisens HIV-1 RNA QT (BioMérieux), com limites de detecção de 400-750.000 cópias/ml e 80-10.000.000 cópias/ml, respectivamente. Em seguida, de 2002 a março de 2013, a técnica b-DNA Quantiplex HIV-1 RNA 3,0 Assay (BAYER DIAGNOSTICS), com limite mínimo de detecção de 50 cópias/ml e limite máximo de 500.000 cópias/ml. A partir de março ou abril de 2013 o LACEN passou a utilizar o método RT-PCR Abbott RealTime HIV-1 (Abbott Molecular), com limite mínimo de detecção de 40 cópias/ml

e limite máximo de detecção de 10.000.000 cópias/ml. São descritos os exames de CD4 basal e carga viral basal. A falha virológica foi confirmada pela realização da carga viral após 1 ou 2 meses, conforme orientação da RENAGENO antes da execução do teste de resistência. A carga viral foi descrita em valores absolutos (cópias/ml) e em log10. A contagem de CD4 em valores absolutos (células/mm³) e em valores percentuais. Após a mudança da TARV, baseada no laudo e interpretação do teste de genotipagem, foram relacionados os exames de CD4 e carga viral. Foi analisada a carga viral do HIV após 6 meses da mudança da TARV baseada no teste genotípico.

4.8 Histórico de TARV e Teste genotípico prévio

Foram analisados os esquemas de TARV utilizados pelos pacientes, prévios ao teste de resistência, assim como os esquemas anteriores ao esquema atual. As crianças e adolescentes haviam recebido os esquemas de ARV de acordo com as recomendações dos guias e protocolos do MS, vigentes nos respectivos anos de publicação destes e atualizados regularmente. Antes do desenvolvimento da TARVc, as crianças foram expostas a monoterapia com AZT ou ddI, terapia dupla com AZT/ddI, AZT/3TC, d4T/ddI, d4T/3TC, assim como a esquemas contendo dose plena de RTV.

As razões para a mudança dos esquemas de ARV utilizados pelos pacientes antes da falha terapêutica que determinou o teste de genotipagem atual foram: intolerância medicamentosa, eventos adversos (anemia, diarreia, vômitos, exantema, lipodistrofia), interação medicamentosa (tratamento de tuberculose), falha terapêutica documentada ou não por teste de resistência prévio ou mais raramente pelo indisponibilidade (interrupção) do ARV pelo MS. No entanto, apenas o teste de resistência prévio foi relatado nesta pesquisa.

Naqueles pacientes que tinham teste de genotipagem anterior, este foi analisado e as mutações foram adicionadas ao teste genotípico atual. O teste de genotipagem primária, isto é, efetuado antes do início de qualquer esquema de TARV, foi realizado em alguns pacientes e também foram avaliados pela possibilidade de resistência transmitida.

4.9 Análise Estatística

Para a elaboração do banco de dados e sua análise, foram utilizados os softwares Microsoft Excel versão 2010 e Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®) 20.0 para Windows. Análises descritivas e bivariadas foram realizadas, considerando o nível de significância de 5%. Os resultados foram submetidos aos seguintes testes estatísticos, levando-se em consideração a natureza das variáveis estudadas: a) medidas de tendência central e de variabilidade - média, mediana, desvio-padrão ($\pm DP$) e intervalo de confiança da média (IC 95%), avaliadas por estatística descritiva; b) teste t-Student - foi utilizado na comparação entre variáveis numéricas que apresentem distribuição normal; c) teste U-Mann-Whitney – foi utilizado na comparação entre variáveis que não apresentem distribuição normal.

4.10 Procedimentos Éticos

O presente trabalho foi aprovado pela Plataforma Brasil (parecer nº 1.210.496)/ Comitê de Ética do Hospital das Clínicas - UFG e do HDT/HAA e, como foi realizado com um modelo retrospectivo, contemplou a dispensa do aconselhamento livre e esclarecido dos pacientes fontes. Consta a autorização dos setores administrativos da unidade de origem dos pacientes para análise de prontuários e dos dados dos pacientes do estudo.

O projeto foi submetido e aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital de Doenças Tropicais da Secretaria da Saúde de Goiás e pelo Hospital de Clínicas da UFG (anexos A e B) respeitando as Diretrizes e Normas Regulamentares de Pesquisa em Seres Humanos estabelecidas na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS.

5 RESULTADOS

5.1 Características da População do Estudo

Foi analisado o padrão de mutações de resistência aos antirretrovirais em 65 crianças e adolescentes infectados pelo HIV, em falha terapêutica e acompanhados no ambulatório de infectologia pediátrica do HDT desde o diagnóstico. Os pacientes tiveram diagnóstico da infecção pelo HIV entre 1992 e 2013. A mediana de idade foi de 29 meses (variação de 2 meses a 120 meses). Foram avaliados 92 testes de resistência genotípica realizados no período de 2003 a 2015. Do total dos testes de genotipagem, apenas um foi realizado em 42 pacientes, 20 pacientes realizaram 2 testes, 2 pacientes submeteram-se a 3 testes e apenas um paciente realizou 4 testes em períodos diversos. A mediana da idade no momento da coleta do teste de resistência foi de 10 anos, sendo que 36/65 pacientes (55%) estavam acima de 15 anos de idade.

As características gerais dos 65 pacientes estão apresentadas na tabela 8. A maioria dos pacientes (98,5%) adquiriu a infecção por transmissão vertical. Uma criança contraiu a infecção pelo HIV-1 através de transfusão de sangue no período neonatal, em 2001. Houve predominância de crianças e adolescentes do sexo feminino (36/65).

Foram analisados os estados imunológico e clínico dos pacientes no início do seguimento, antes do primeiro esquema antirretroviral. Aproximadamente 55% dos pacientes apresentavam imunossupressão grave ao diagnóstico de HIV, e 33% pertenciam a classe B ou C, conforme a classificação clínica e imunológica do CDC-1994. A mediana de contagem basal de linfócitos CD4 basal foi 921 células/mm³. A viremia foi avaliada através da carga viral do HIV nos pacientes virgens de terapia antirretroviral. A mediana de carga viral basal foi de 678.998 cópias (log 5,83). No momento da coleta do teste de genotipagem, o valor do CD4 variou de 1 a 2940 células/mm³, com mediana de 608 células/mm³, sendo que a carga viral teve mediana de 40.548 cópias/mL (log 4,60) (tabela 8).

Tabela 8 - Características clínicas e laboratoriais das crianças e adolescentes infectadas pelo HIV, ao diagnóstico

	n válido *	mediana/variação ou %
Idade (meses) ao diagnóstico	65	29,2 (2 - 120)
Sexo masculino	29/65	44,61
Modo de aquisição	65	-
Transmissão vertical	64/65	98,46
Transfusão sanguínea	1/65	1,54
Classificação Clínica (CDC-1994)	65	100
Categoria N	7/65	10,77
Categoria A	14/65	21,53
Categoria B	22/65	33,85
Categoria C	22/65	33,84
Contagem absoluta de CD4 (células/mm ³)	65	921 (34 - 4.372)
HIV-1 RNA (cópias/mL)	58	678.891,84 (400 - 10.000.000)
HIV-1 RNA (log ₁₀ cópias/mL)	58	5,83
TARV inicial	65	
AZT	4/65	6,15
AZT + ddI ou AZT + 3TC	23/65	35,38
AZT+ ddI (ou AZT + 3TC) + RTV	7/65	10,77
AZT + ddI (ou AZT + 3TC) + NFV	7/65	10,77
AZT + 3TC + (NVP ou EFV)	18/65	27,70
AZT +3TC + LPV/r	6/65	9,23

Tabela 9- Características laboratoriais e esquemas antirretrovirais antes do teste de genotipagem.

	n	mediana/variação ou %
Idade (anos) ao realizar TG	65	10 anos
<1 ano	2/65	3,07
1- 5 anos 11m	17/65	26,15
6- 12 anos 11m	23/65	35,38
>13 anos	23/65	35,38
Data da execução do TG atual (ano)	65	-
2003- 2005	21/65	32,30
2006- 2008	18/65	27,69
2009- 2015	26/65	40,00
Contagem absoluta CD4 (cels/mm3)	65	(37 a 2.940)
CD4%	46/65	70,77
<15%	10/46	21,73
15- 24%	6/46	13,04
>25%	30/46	65,21
CV HIV (cópias/mL)	65	40.548,52 (1.009 a 543.897)
Teste de genotipagem anterior (n%)	23/65	35,38
Teste de resistência primária (n%)	6/65	9,23
Esquemas ARVs antes da coleta do TG atual	65	100
2ITRN + 1ITRNN	29/65	44,62
2ITRN + 1IP	24/65	36,92
2ITRN + 1IP + 1ITRNN	3/65	4,62
2ITRN	5/65	7,70
2IP	2/65	3,07
Esquemas de 3ª linha (RAL ou DRV/r)	2/65	3,07

Os esquemas de antirretrovirais utilizados antes da realização do teste de resistência estão descritos na tabela 9. Os esquemas ARVs mais frequentes (43,1%) foram 2 ITRN

combinado com ITRNN (NVP ou EFV), ou associado ao IP/r (33,8%). Relevante ressaltar que alguns pacientes fizeram uso prévio de monoterapia (9,5%) ou terapia dupla (47,6%) na terapia ARV inicial. Vários esquemas subsequentes incluindo ARV de 3ª linha (3,1%) foram utilizados no resgate de falhas terapêuticas, direcionados ou não por teste genotípico prévio.

Tabela 10 – Mutação de resistência por classes de ARV.

	n	mediana/variação ou %
Presença de qualquer mutação de resistência por classes de ARV	65	%
ITRN	64/65	98,46
ITRNN	49/65	75,38
IP	29/65	44,61
ITRN + ITRNN	27/65	41,63
ITRN + IP	8/65	12,30
ITRN + ITRNN + IP	23/65	35,38
Resistência completa ITRN	36/65	55,38
Resistência completa ITRNN	6/65	9,23
Resistência completa IP	-	-

ITRN, inibidor da transcriptase reversa análogos aos nucleosídeos; ITRNN, inibidore da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos; IP, inibidore da protease.

Para análise da CV antes e pós teste genotípico, foi realizado o teste de normalidade da amostra (Kolmogorv-Smirnov), demonstrando a distribuição anormal ($P < 0,001$). A análise da amostra (Wilcoxon Signed Ranks Test) evidenciou diferença ($P < 0,001$) entre os grupos de CV pré e pós tratamento direcionado pelo teste de genotipagem, assim como da CV (figura 31).

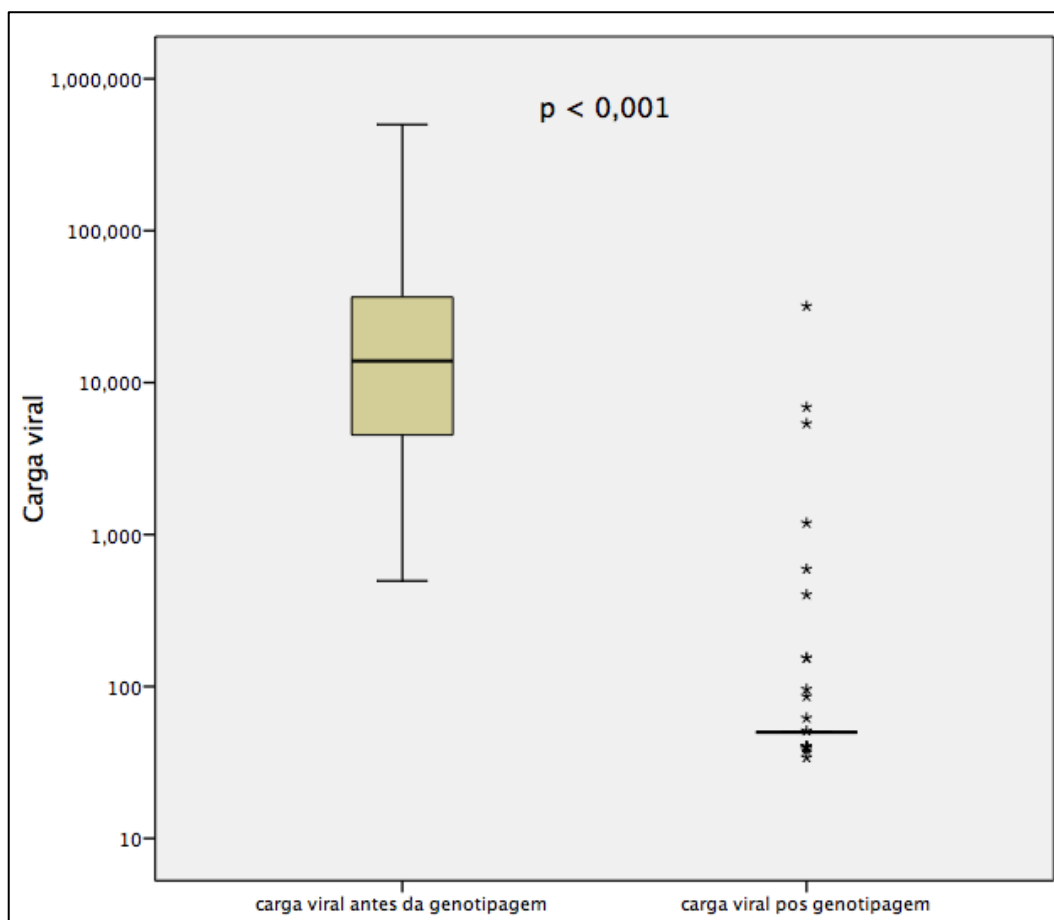


Figura 31. Box-plots da carga viral pré e pós tratamento antirretroviral direcionado pelo teste de genotipagem,

A contagem de linfócitos T CD4+ antes e após a mudança do esquema de ARV baseado no teste de genotipagem pode ser analisada na figura 32.

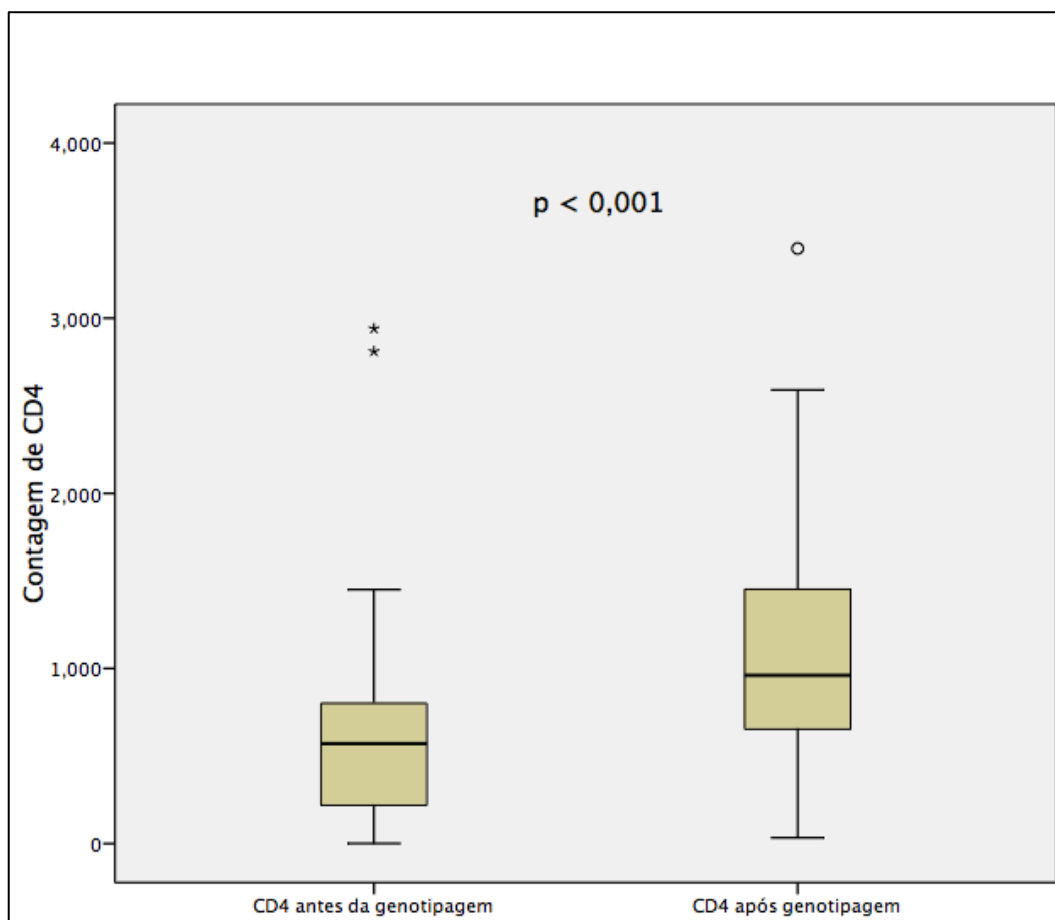


Figura 32. Blox-plot da contagem de células CD4 pré e pós tratamento antirretroviral direcionado pelo teste de genotipagem.

O teste genotípico foi realizado em pacientes com falha ao primeiro, segundo, terceiro ou mais esquemas. Apenas 6 pacientes realizaram teste de genotipagem primária. Foram avaliadas as falhas terapêuticas por classe de ARV (ITRN, ITRNN, IP) e associação de classes de ARVs (ITRN + ITRNN; ITRN + IP; ITRN + ITRNN + IP).

5.2 Resultados dos Testes de Genotipagem

As mutações mais comumente encontradas nesta coorte de pacientes, de acordo com a classe dos ARV, estão demonstradas nas figura 33, 34 e 35. Foram encontradas mais frequentemente mutações na classe de ITRN (98,5%), seguida pela ITRNN (75,4%) e IP (44,6%) (figuras 33, 34 e 35). As mutações aos ITRN mais frequentes foram encontradas no códon T215 (83,1%) com predominância da T215Y (56,9%), seguida pela M184V (69,3%). Na classe de ITRNN, as mutações K103N (36,9%) e 190A (23,1%) foram predominantes (figura

36). E, na protease, as mutações 54VL (35,4%) e 82ASTL (32,3%) foram encontradas quase na mesma proporção, com predomínio da mutação M54V.

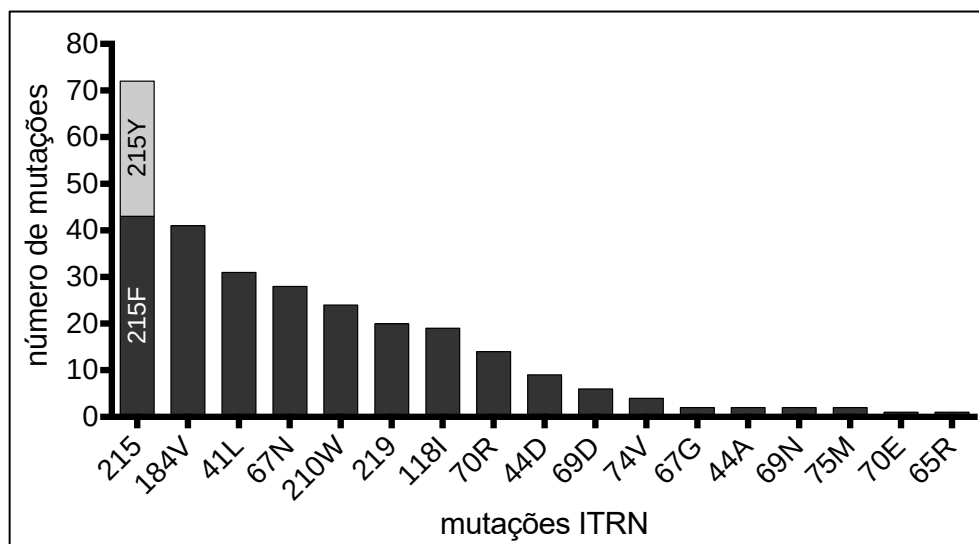


Figura 33. Padrão de mutações de resistência aos inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa.

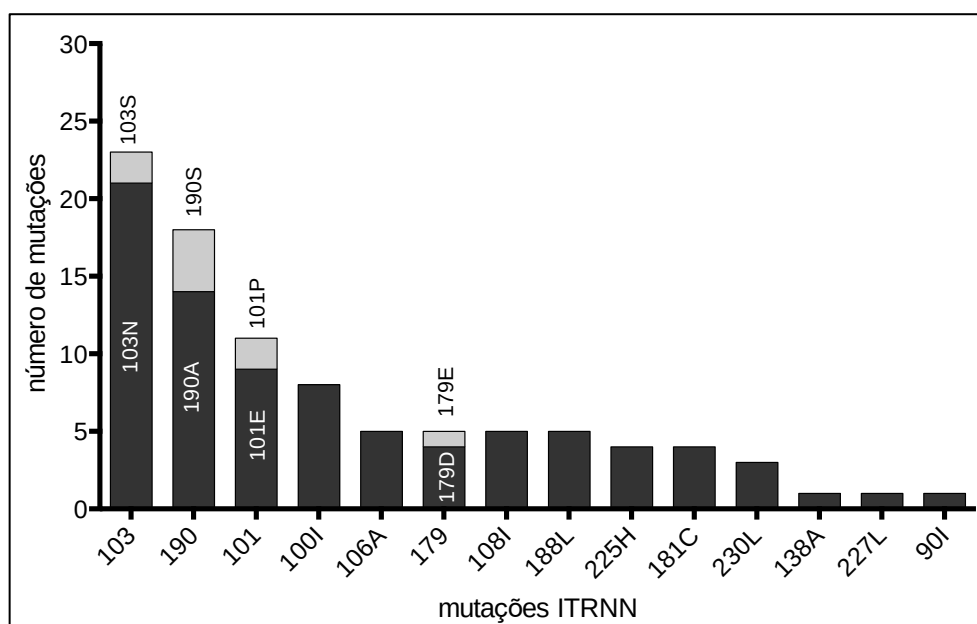


Figura 34. Padrão de mutações de resistência aos inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa.

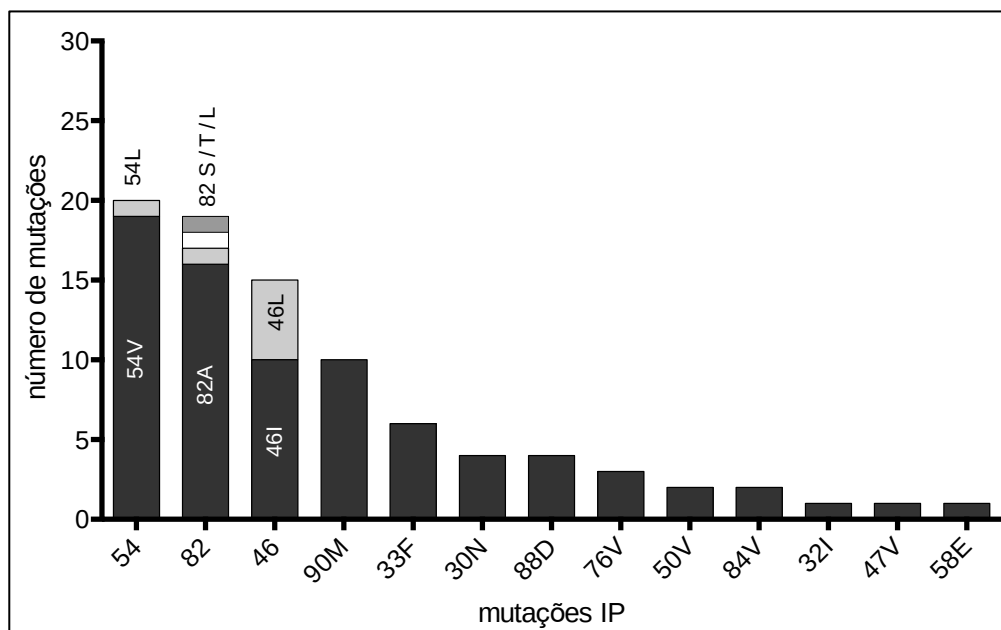


Figura 35. Padrão de mutações de resistência aos inibidores da protease.

Para a análise de suscetibilidade aos antirretrovirais, foi utilizado o algoritmo da Stanford versão 2015. A análise do perfil de suscetibilidade aos antirretrovirais das amostras dos pacientes estão disponíveis na figura 36.

Figura 36. Suscetibilidade das drogas ARVs em 65 crianças e adolescentes infectadas pelo HIV-1 com resistência às classes de ARVs detectadas na sequência *pol* e perfil de resistência.

	ITRNs								ITRNNs					IPs									
Paci ente	A Z T	d d I	d 4 T	3 T C	A B C		T D F	Mutações de resistência ITRNs	N V P	E F V	E T R	R P V	Mutações de resistência ITRNNs	S Q V/r	I D V/r	N F V	L P V/r	A T V/r	F P V/r	T P V/r	D R V/r	Mutações de resistência IPs	Data da coleta
P1								D67N					K103N									Ausente	11/2014 10/2013 *
P2								K70E, M184V					K103N, P225H									Ausente	12/2013
P3								M184V					K103N, P225H									Ausente	05/2013 02/2012 *
P4								M184V					K103N									D30N, N88D	08/2008
P5								M41L, D67N, M184V, L210W, T215Y					Ausente									I54V, V82A, L90M	06/2006
P6								M41L, E44D, D67N, 69ND, K70R, V118I, M184V, L210W, T215Y, K219QN					L100I, K103N									D30N, I54V	03/2006 04/2004 **

P7							M41L, V118I, M184V, L210W, T215Y					K101E, G190S							M46I, I54V, L76V, V82A, Q58E	05/2008 12/2004 **
P8							M184V					K103N, P225H							Ausente	04/2008
P9							D67N, K70R, M184V, T215F, K219E					L100I, K103N							M46I/V, I54V, L76V, V82A	08/2011 08/2006 **
P10							M184V					K103S, G190A							Ausente	06/2004
P11							M184V					Ausente							Ausente	05/2015 11/2014 05/2013 **
P12							M184V					90I							Ausente	10/2012 08/2014 **
P13							M41L, E44D, L74V, V118I, M184V, L210W, T215Y					L100I, K103N							D30N, M46I, L50V, I54V, V82A/T, N88D	08/2008 05/2003 ** Tropism o DM
P14							M41L, D67N, K70R, V118I, M184V, L210W, T215Y/C/S, K219E					K103N, Y181C, Y188H, G190A							L33F, I54V, V82S	08/2008 09/2004 ** Feno V
P15							M41L, D67N, V118I, M184V, L210W, T215Y					V106I, Y188L							Ausente	07/2013 02/2005 **

[illegible]

[illegible]

P35							K70R, M184V, K219Q					V108I, G190A								Ausente	04/2009
P36							Ausente					Ausente								Ausente	06/2012
P37							D67N, T69N, K70R, V118I, T215F, K219Q					L100I, K101E, K103N								Ausente	12/2004
P38							M41L, M184V, T215Y					Y188L								Ausente	03/2007
P39							D67G, T69N, K70R, V75M, M184V					K101E, G190A								Ausente	04/2005
P40							M41L, D67N, L74V, V118I, M184V, L210W, T215CY, K219E					L100I, K101PQ, K103N								M46I, L90M	01/2006 02/2004 **
P41							M41L, E44D, M184V, T215Y					Ausente								Ausente	09/2006
P42							M184V					Ausente								M46L	07/2013 10/2012 *
P43							M184V					V179D, Y181C								Ausente	10/2005
P44							M41L, E44A, D67N, T69D, V118I, L210W, T215Y					K103N, Y188L								M46L, I54V, V82A L90M	10/2006 05/2005 **

P45								M41L, M184V, L210W, T215Y					K103N, V108I									Ausente	11/2006
P46								M184V, T215Y					K103N, V106I, M230L									Ausente	08/2014
P47								D67N, T69D, K70R, V118I, K219Q					Ausente									L54V, V82A, L90M	09/2003
P48								M184V					K103R, V106I, V179D									Ausente	09/2008
P49								M41L, V118I, L210W, T215Y					Ausente									Ausente	03/2005
P50								D67N, K70R, M184V, T215F, K219Q					K101Q, G190A									Ausente	07/2004
P51								D67N, K70R, T215CY, K219Q					K103NS, G190A									Ausente	08/2014 01/2004 **
P52								M184V, L210W, T215F					V179D, M230L									Ausente	09/2013 02/2006 **
P53								D67N, K70R, L210W, T215F, K219Q					Ausente									I54V, N88D, L90M	12/2003
P54								,M184V					K101E, G190A									Ausente	04/2015 12/2009 *

P55							M184V, T215Y					K101E, G190A							Ausente **	02/2005
P56							M184V, K219Q					K103N, P225H, M230L							Ausente	06/2011
P57							M41L,D67N, T69D, L74I, M184V, L210W, T215CY, K219QE					K103N, G190A							M46L, I54V, V82A, L90M, 58E***	02/2009 09/2005 **
P58							M41L, D67N, K70R, M184V, T215FS, K219E					Ausente							L33F, M46L, I54V, V82A, Q58E***	11/2012
P59							D67N, K70R, T215F, K219E					V179L							M46I, I54V, V82A	07/2010 07/2006 **
P60							M184V					K103N, V108I							Ausente	06/2014 11/2013 *
P61							M41L, E44D, D67N, K70R, V75M, V118I, T215Y, Q219E					K101EQ, V108I, Y181C, G190A, F227L						D30N, L33F, M46I, I50V, V82A, N88D	07/2006	
P62							M184V					V106A, E138A, G190A							Ausente	07/2010 06/2009 *
P63							M41L,E44D, D67N, T69D, V118I, M184V, L210W, T215Y					Ausente							I54V, V82A, L90M	11/2003

P64							M41L, D67N, V118I, L210W, T215Y, K219R					K101E, G190S										M46I, I54V, L76V, V82T	08/2007
P65							M41L, D67N, M184V, T215Y					K101E, V106I, G190S										V32I, M46I, I47V, I54V, V82A	12/2007

Código de cores: verde, suscetível; verde musgo, baixo nível de resistência; amarelo, resistência intermediária; vermelho, alto nível de resistência. Previsão de suscetibilidade da droga foi utilizado Stanford's HIVdb Algorithm (<http://sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra>). ITRNs, inibidores da transcriptase reversa análogos aos nucleosídeos; ITRNNs, inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos; IPs, inibidores da protease. **d4T**, estavudina; AZT, zidovudina; TDF, tenofovir; 3TC, lamivudina; FTC, emtricitabine; ABC, abacavir; ddI, didanosina; ETR, etravirina; RPV, rilpivirine; NVP, nevirapina; EFV, efavirenz; DRV, darunavir; TPV, tipranavir; FPV, fosamprenavir; SQV, saquinavir; IDV, indinavir; LPV, lopinavir; ATV, atazanavir; NFV, nelfinavir /r, reforço de ritonavir. *teste de resistência primária sem mutações de resistência; **teste genotípico anterior com mutações de resistência após falha terapêutica.



Alto nível de resistência



Resistência intermediária



Baixo nível de resistência



Suscetível

Os ITRN e os ITRNN tiveram mais amostras resistentes (figura 37). Os antirretrovirais análogos da timidina, zidovudina- AZT e estavudina- d4T, e a lamivudina- 3TC constituíram o perfil de resistência mais frequente na classe de ITRN (figura 33). A nevirapina- NVP, demonstrou-se com maior perfil de resistência na classe de ITRNN (figura 34). Na protease, o nelfinavir-NFV, apresentou-se com o pior perfil de resistência. O darunavir- DRV, apresenta-se com melhor perfil de suscetibilidade na classe dos inibidores da protease, seguido pelo tipranavir (figura 35).

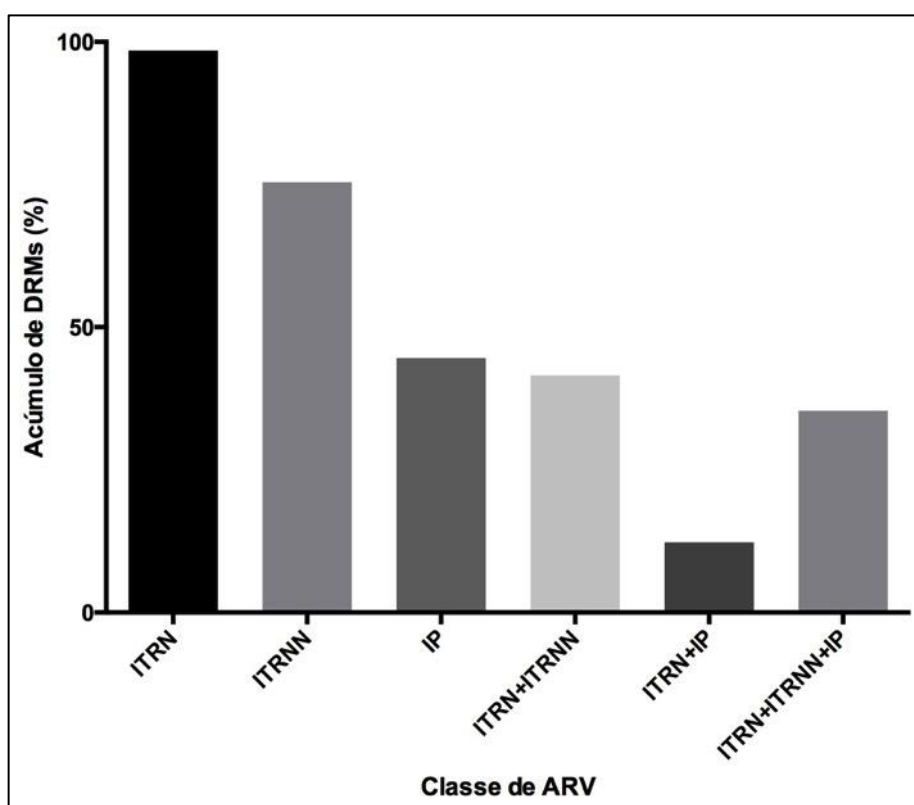


Figura 37. Acúmulo de mutações de resistência conforme classe de ARV e associação de de classes de ARVs. ITRNs, inibidores da transcriptase reversa análogos aos nucleosídeos; ITRNNs, inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos; IPs, inibidores da protease. DRM, drug resistance mutations.

A resistência por classe de antirretroviral e a resistência combinada de classes estão demonstradas na figura 37. O acúmulo de mutações nas associações de classes dos ARV tais como ITRN + ITRNN; ITRN + IP; e ITRN + ITRNN + IP resultaram em resistência completa em 41,6%; 12,3% e 35,4% respectivamente.

Das amostras analisadas apenas 44/65 tiveram o subtipo do HIV-1 identificado. O subtipo B foi mais prevalente (37/44), representando 84,1%. Foram também encontrados subtipos F1 (4/44; 9,1%), BF1 (2/44; 4,5%) e A1 (1/44; 2,7%).

Apenas 6 pacientes (9,23%) tinham realizado teste de genotipagem primária e o teste não evidenciou mutação de resistência.

O teste de tropismo foi executado em 4 pacientes (6,15%) e somente uma adolescente portava vírus com tropismo R5.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo ficou demonstrada a viabilidade de se alcançar a resposta virológica e imunológica com um esquema combinado de antirretroviral guiado pelo teste de resistência genotípica numa coorte de crianças e adolescentes infectados perinatalmente pelo HIV, mesmo após apresentarem mutações de resistência às drogas das 3 principais classes de ARV. Após a terapia de resgate, observou-se que aproximadamente 90% dos pacientes analisados em nosso estudo atingiram supressão viral, isto é, carga viral do HIV abaixo dos limites de detecção (≤ 50 ou 40 cópias) após 6 meses da mudança do esquema antirretroviral combinado (cARV) ($p < 0,001$). Portanto, a maioria desta população alcançou o principal objetivo da terapia ARV, que é a supressão viral e manutenção da carga viral abaixo dos limites de detecção, caracterizando o sucesso virológico do tratamento (PCDT, 2014; PENTA, 2016; DHHS, 2016). O benefício do teste de resistência aos ARV na avaliação de cepas virais suscetíveis foi associado à melhora na sobrevida (PALELLA *et al.*, 2009). Em relação a resposta imunológica também houve benefício, com incremento da contagem de células T CD4⁺ ($p < 0,001$), mesmo se levando em consideração que a recuperação imune é gradual, podendo levar além de 12 meses após a supressão viral (YIN *et al.*, 2014; FARLIE *et al.*, 2015).

A prevalência de mutações de resistência aos antirretrovirais em nosso estudo foi maior na classe de ITRN (98,46%), seguida pelos ITRNN (75,38%) e IP (44,61%), sendo observada em nossa análise pelo menos uma mutação principal em cada uma das classes de ARV. O acúmulo de mutações resultou em alto nível de resistência aos ITRN em 55,38% dos casos estudados. Na classe de ITRNN ocorreu acúmulo de mutações conferindo alto nível de resistência à etravirina (ETR) em 9,23% e intermediária em 26,15%. As mutações na protease não resultaram em resistência completa ao darunavir, mas ocorreu resistência intermediária em 2/65 pacientes. Também foi identificada resistência a mais de uma classe, ITRN + ITRNN ou ITRN + IP/r, e nas três classes ITRN + ITRNN + IP, atingindo 41,53%, 12,30% e 35,38% dos casos respectivamente.

O perfil de suscetibilidade aos ARV foi analisado de acordo com os dados da Stanford HIVdb. As amostras avaliadas resultaram suscetíveis para o darunavir (96,92%), tipranavir (80%) e etravirina (64,61%). O raltegravir e a enfuvirtida (T20) foram considerados plenamente ativos. O maraviroque raramente foi utilizado.

A prevalência de mutações de resistência aos ARV entre os pacientes pediátricos é mais elevada do que em adultos (DIAZ, 2015; GREGSON et al, 2015). O risco mais elevado do desenvolvimento de resistência em crianças inclui múltiplos fatores, como a exposição ao ARV na prevenção da transmissão vertical (PALUMBO et al, 2010; VIOLARI et al, 2012; PAREDES, 2013), opções limitadas de drogas e formulações aprovadas para idade, esquemas subterapêuticos de ARV prévios (terapia ARV não supressiva e prolongada como monoterapia de AZT ou terapia dupla ou IP sem reforço de ritonavir, NFV, RTV em dose plena), utilização de drogas antirretrovirais ao longo da vida (PLATO II 2011), a necessidade da administração medicamentosa pelos pais ou cuidadores, adesão inadequada, o desafio de tratamento em adolescentes, fatores psicológicos e sociais, carga viral mais alta nos primeiros anos de vida (SHEARER et al, 1997), farmacocinética das drogas em crianças (KEARNS, 2003) e imaturidade do sistema imunológico nas crianças abaixo de 5 anos (GUPTA, 2009; ROSSOUW, 2015).

A transmissão vertical do HIV está em declínio mundialmente, em países com recursos elevados (MANDELBROT, 2015; LUZURIAGA, 2016) e em países com recursos escassos como os países da África (UNAIDS 2015; MEYERS 2012) após a adoção mais ampla das medidas recomendadas para esse fim. (PACTG 076, HPTN 040). A partir da cARV houve melhora na sobrevida (NEWELL, 2004; PATEL, 2008; VIOLARI, 2008; MATIDA, 2009; RAMOS, 2011; CARDOSO, 2012; PENAZZATO, 2014), sendo que os pacientes pediátricos atingiram a adolescência e alcançaram a vida adulta, multiexperimentados de drogas ARVs, com falha terapêutica a 2 ou 3 classes de ARVs, dificultando ou até impedindo o resgate terapêutico (MULDER *et al*, 2012). Adicionalmente, tem aumentado a taxa de resistência primária ou transmitida em crianças expostas à profilaxia ARV materna ou no período neonatal (PALUMBO, 2010; VIOLARI, 2012; PAREDES, 2013). Portanto, é necessário monitorar essa população específica para identificar precocemente os fatores de risco para a falha terapêutica, destacando a multirresistência, a adesão ao tratamento, os fatores psicológicos da criança e adolescente, além do escasso recurso financeiro dos pacientes infectados pelo HIV (VAN DYKE, 2011; RHEE, 2015).

Em uma revisão de literatura conduzida por FERRAND et al, objetivou-se determinar a proporção de adolescentes infectados pelo HIV que atingiram a supressão viral após o início de TARV. Foram incluídos 20 estudos na análise de um total de 5316 citações. Apenas 8 estudos relataram a proporção de adolescentes que foram virologicamente suprimidos em específico período de uso de ARV, variando de 27% a 89% em 12 meses (FERRAND et al, 2016).

Os relatos de resistência a múltiplas classes de ARV foram feitos por alguns autores (CASTRO, 2011; SÁNCHEZ, 2015; SALOU, 2016; VAN DYKE, 2016). Um dos trabalhos mostrou que a detecção de ampla resistência às classes, especialmente a todas as três principais classes de ARV, está relacionada a resultado clínico mais pobre e representa um marcador de risco para progressão de doença e morte (ZACCARELLI et al, 2005).

Sessenta e quatro pacientes (98,46%) da nossa amostra apresentaram pelo menos uma mutação principal de resistência para a classe de ITRN. A alta taxa de resistência encontrado nesta coorte é consistente com outros estudos (PRASITSUEBSAI, 2016; SALOU, 2016; VAN DYKE, 2016) nos quais os pacientes foram expostos ao *backbone* da associação de ITRN (AZT + ddI; d4T+ 3TC ou AZT + 3TC), esquemas estes que foram recomendados pelos guidelines brasileiros a partir de 1992 (MS, www.aids.gov.br/publicações). Este achado pode ser corroborado pelo uso prévio de monoterapia com AZT ou terapia dupla, antes da recomendação da cARV ou também chamada de HAART. (SIGALOFF, 2013). A recomendação atual do protocolo brasileiro para início de TARV são regimens contendo 2 ITRN de base (AZT+3TC ou AZT + ddI ou ABC + 3TC para crianças) e TDF+ 3TC para adolescentes em combinação com ITRNN (NVP < 3 anos ou EFV >3 anos) ou IP/r (LPV/r ou ATV/r ou FPV/r) (PCDT 2013/2015).

A presença de mutação de resistência aos ITRN é comumente relatada em outros estudos, variando de 7 a 100% (ANGELIS, 2011; MUTWA, 2014; HARRISON, 2015; ROSSOUW, 2015; SUAYSOD, 2015).

O acúmulo de 3 ou mais TAM - mutações aos análogos da timidina, ocorreu em mais da metade dos pacientes (36/65) e esse acúmulo foi selecionado pela via mutacional TAM1 em aproximadamente 1/3 dos pacientes (19/65). O mecanismo de resistência aos ITRN envolve a excisão do análogo de nucleosídeo na cadeia terminal, o que ocorre com os análogos da timidina (CLAVEL, 2004; TANG & SHAFER, 2012). As TAM-M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F e K219Q/E são selecionadas pelos análogos da timidina AZT ou d4T e acarretam suscetibilidade reduzida para todos os ITRN (WHITCOMB, 2003). A intensidade da resistência cruzada depende das mutações específicas e do número de mutações envolvidas (KURITZKES, 2004; CUNHA, 2012). As mutações M41L, L210W e T215Y/F caracterizam a via mutacional TAM1, que confere níveis mais elevados de resistência cruzada, principalmente em relação ao TDF. A presença de pelo menos 3 TAM, incluindo a M41L e/ou L210W compromete a suscetibilidade dos ITRN (TANG & SHAFER, 2012; WENSING, 2015).

A multirresistência foi observado no presente estudo, na classe de ITRN, em 55,38% dos casos (36/65). A multirresistência aos análogos de nucleosídeos é denominada pelo

acúmulo de 3 ou mais TAM (identificado nessa análise); pela presença da deleção no códon 67; pela inserção no codon 69 e pelo complexo Q151M (Q151M associada às mutações A62V, V75T, F77L e F116Y). (CUNHA, 2012; WENSING, 2015).

A mutação K65R teve ocorrência incomum (1/65), provavelmente em decorrência do escasso uso do TDF em crianças nesse estudo. O TDF somente foi aprovado para utilização para resgate terapêutico em crianças a partir de 2 anos de idade em 2015 (DHHS 2016). No entanto, no Brasil não há formulação disponível para crianças. Em adolescentes entre 12 e 18 anos, virgens de terapia ARV, o TDF demonstrou ser uma droga eficaz e segura (NEGRA et al, 2015). Assim como o TDF, a mutação K65R pode ser selecionada pelo uso de ddI, ABC ou d4T (particularmente pelo subtipo não B) e está associada com suscetibilidade viral reduzida para todas essas drogas (TANG, 2013; SKHOSANA, 2015). Estes estudos prévios poderiam justificar a baixa frequência da mutação K65R nesta coorte de pacientes que foram experimentados extensivamente pelo uso de ddI e d4T, porém a maioria dos nossos pacientes portam cepas virais do subtipo B, como relatado por SCAROVSKAIA, 2007. A K65R apresenta via mutacional diferente da TAM, raramente compartilha DRM (PARIKH, 2007; BRENNER, 2009) e sua presença aumenta a suscetibilidade ao AZT (WYL, 2008). O TDF tem resposta reduzida na presença da K65R e também na presença de 3 ou mais TAM incluindo M41L e/ou L210W (MILLER, 2004; WENSING, 2015).

DE MULDER et al, demonstraram em estudo multicêntrico realizado em Madri, Espanha, alta taxa de resistência aos ARV em adolescentes perinatalmente infectados pelo HIV e em falha terapêutica. Os pacientes, com mediana de 18,9 anos, foram avaliados antes de serem transferidos para a unidade de atendimento de adultos. Dos 52 pacientes com teste de resistência, a prevalência de mutações de resistência aos ITRN-atingiu a cifra de 76,9%; no entanto não há relato neste estudo sobre a prevalência do acúmulo de TAM (de MULDER, 2012).

A elevada taxa de mutações aos analógos de nucleos(t)ídeos (AZT, 3TC, d4T, ddI, ABC, TDF) observada nesta coorte de pacientes pode estar associada, entre outros fatores, ao uso inicial, prévio aos conhecimentos atuais, de esquemas não supressivos como a monoterapia com AZT (9,5%) ou d4T ou terapia dupla com AZT+ddI (38,1%) recomendados por guidelines no final do século passado.

As mutações mais frequentes na classe de ITRN encontradas nas amostras de nossos pacientes foram T215Y/F e suas formas revertantes 215CSD (83,07%), M184V (69,29%) e M41L (52,30%). Em contraste, de MULDER em 2012, relatou maior prevalência de 41L (48,1%), D67N (40,4%), T215Y (40,4%), L210W (34,6%) e M184V (25%).

Embora a mutação M184V/I tenha sido relatada em 2/3 dos pacientes, o uso de lamivudina (3TC) também foi utilizado na terapia de resgate em combinação com 2 ou 3 drogas ativas. A mutação M184V/I, selecionada pelo uso do 3TC ou do FTC (emtricitabine), é uma das mutações discriminatórias mais comuns e causa alto nível de resistência ao 3TC/FTC e baixo nível de resistência cruzada ao ddI e ABC (CLAVEL, 2004; TANG & SHAFFER, 2012). A mutação M184V/I, no entanto, está associada com redução do *fitness* viral e a manutenção do uso do 3TC aumenta a suscetibilidade do AZT, d4T e TDF (WHITCOMB *et al* 2003). A presença da M184V parece atrasar ou impedir o surgimento de TAM (KURITZKES, 2004). Este efeito pode ser superado pelo acúmulo de TAM ou de outras mutações. (WENSING, 2015). Este achado é consistente com estudos prévios nos quais a lamivudina foi utilizada, mesmo na presença da mutação M184V (CAMPBELL, 2005).

A alta prevalência de mutações na classe de ITRN observada em nosso estudo, decorrente do acúmulo de TAM, limitou a opção do uso desta classe no resgate terapêutico. Os mais recentes guidelines em adultos não recomendam o uso de alguns ITRN (AZT, ddI) e restringem a indicação do ABC (risco de hipersensibilidade, necessidade de teste prévio do HLA B*5701, fatores de risco de infarto do miocárdio). O TDF deve ser monitorado rigidamente sendo poupado seu uso em paciente acima de 50 anos pelo potencial risco de toxicidade renal e óssea (DHHS 2016).

Entre 65 pacientes incluídos em nossa análise, mais de 3/4 apresentaram pelo menos uma mutação de resistência aos ITRNN. As mutações mais frequentemente observadas nesta classe foram K103N/S (40%), 190A/S (30,77%) e 101E/P/Q (23,07%). Os ITRNN bloqueiam a síntese do DNA viral pela ligação no sítio hidrofóbico próximo ao sítio ativo da transcriptase reversa. Isso faz com que a enzima torne-se rígida, impedindo a polimerização efetiva do DNA (CLAVEL, 2004). Estes achados são consistentes com o uso prévio de nevirapina (NVP) ou efavirenz (EFV) em nossos pacientes. O EFV e a NVP são drogas de baixa barreira genética, sendo que a presença de uma única mutação confere alto nível de resistência. (WENSING, 2015). As mutações K103N, 190A e 181C são mais comumente associadas com o uso prévio de NVP e causam alto nível de resistência cruzada para outros ITRNN (MADRUGA (A) 2007). A mutação Y181C, além de causar resistência à NVP, reduz a suscetibilidade à etravirina (ETR), rilpivirina (RPV) e EFV, enquanto que a K103N e 190A causam alto nível de resistência ao EFV (WENSING, 2015). No entanto, a K101P, a terceira mutação mais frequente por nós observada, confere alto nível de resistência à NVP, EFV e RPV, e resistência intermediária à ETR. Por outro lado, curiosamente, no mesmo códon 101, a mutação 101E confere menor

impacto na suscetibilidade aos analógos não nucleosídeos (intermediária: NVP e RPV; baixo nível de resistência: EFV e ETR (VINGERHOETS, 2010; STANFORD 2015).

As mutações de resistência aos ITRNN apresentam *scores* diversos. Por exemplo, a mutação 181I/V possui *score* 3 e as mutações 181C, 101P, 100I e 230L *score* 2,5. A presença isolada de qualquer uma destas mutações reduz a suscetibilidade à ETR (STANFORD, 2015). A associação de mutações de resistência aos ITRNN pode impactar em resistência intermediária ou alto nível de resistência à ETR. A ETR tem a maior barreira genética dentro da classe e, portanto, possui grande importância na terapia de resgate em pacientes pediátricos com resistência ao EFV e NVP (BRIZ, 2011; TUDOR-WILLIAMS, 2014). Em nossa análise, 26,5% dos pacientes apresentaram resistência intermediária para ETR e 9,23% mostraram mutações conferindo alto nível de resistência à ETR.

Em relatos na literatura, a prevalência de mutações de resistência aos ITRNN em pacientes pediátricos com falha terapêutica, mostra variação de 12,5% a 95% (ANGELIS, 2011; MITWA, 2014).

Nós também identificamos que as mutações de resistência no gene da protease (PR) foram menos frequentes que na transcriptase reversa. A presença de qualquer mutação principal aos inibidores da protease (IP) ocorreu em 44,61% (29/65). As mutações mais comumente encontradas foram I54V (32,3%), I54V/L (35,38%), V82A (27,69%), V82A/S/T (30,77%), M46I (18,46%), M46I/L/V (29,23%), L90M (15,38%), 33F (9,23%), D30N (9,23%), 88D (7,69%), L76V (4,61%), I50V (3,07%), I84V (3,07%), V32I (3,07%), I47V (1,53%). As mutações 58E (4,61%) e 82L (1,53%) são mutações acessórias (58E) e principal (82L) associadas à resistência ao tipranavir (TPV). As mutações associadas à resistência aos inibidores da protease ocorreram principalmente nos códons 54, 82 e 46, apresentando taxas de 35,38%; 32,3% e 27,69% respectivamente. Os achados observados no perfil de resistência à protease foram consistentes com os relatos de outros estudos em crianças e adolescentes em falha terapêutica, com prevalência entre 10% (RAMKINSON et al 2015) a 88,3% (DEHORITY 2013).

A PR possui padrão complexo de resistência cruzada dentro da classe dos inibidores da protease. Tipicamente ocorrem mutações nas posições 50, 54 e 82 (RHEE, 2010; WENSING, 2010) o que pode dificultar a escolha de IP no resgate terapêutico (ARASTÉH, 2009). As mutações no gene da PR são definidas como principais ou maiores e acessórias ou menores. A presença de qualquer mutação principal tem impacto na atividade de toda a classe. (WENSING, 2015). As mutações acessórias geralmente surgem após as mutações principais e isoladamente não tem efeito substancial no fenótipo viral (TANG & SHAFER, 2012). Essas mutações foram

adicionadas no escore de perfil de resistência de cada IP na análise dos pacientes . Os IP/r tem maior barreira genética do que os ITRN, ITRNN, inibidores da integrase (INS), antagonista de CCR5 e T-20 (enfuvirtida) (ARASTÉH, 2009). A resistência completa aos IP/r depende do acúmulo de mutações na protease. O número necessário para a caracterização da resistência é variável de acordo com cada IP (HIVDB 2015). As mutações específicas do IP são : I47V/A, I50V, F53L, I54V/L/A/M/T/S, L63P/A, A71V/T, L76V, V82A/F/T/S, I84V, L90M. (WENSING, 2015). Na ausência de mutação principal na protease, pode ser indicado qualquer inibidor da protease potencializado pelo ritonavir (IP/r). No entanto, a presença de qualquer mutação principal causaria algum impacto na suscetibilidade de toda a classe (RHEE, 2010). Mesmo ocorrendo a resistência completa aos IP/r, recomenda-se seu uso no esquema de resgate, associado a pelo menos duas drogas plenamente ativas (PCDT 2013/2015).

Nós observamos em 18 pacientes (27,69%) a presença de mutações de resistência ao darunavir (DRV/r), porém não resultando em alto nível de resistência. A resistência intermediária ao DRV/r (V32I + I47V; L33F + I84V) ocorreu em 2 pacientes (P65; P17). A presença de apenas uma mutação (L33F, L76V, V32I ou I50V) ocorreu em 7 pacientes e 3 pacientes tiveram 2 mutações (V32I + I47V; L33F + I84V; L33F + I50V). O baixo nível de resistência (BNR) ocorreu em 6 pacientes (I50V + L33F; L76V; I50V; L33F + I84V; V32I). A presença isolada da mutação L33F não alterou a suscetibilidade do DRV/r (WENSING, 2015). A análise do perfil de suscetibilidade ao DRV/r em nossa coorte assemelha-se aos dados da literatura (DONEGAN, 2012). O DRV/r possui a maior barreira genética entre todos os antirretrovirais de quaisquer classes (ARASTÉH, 2009; STERRANTINO, 2012; DEEKS, 2014). Foram previamente descritas 11 DRM associadas ao DRV/r: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L, I54M, G73S, L76V, I84V, L89V (De MEYER, 2005; MITSUYA, 2007). Posteriormente, as DRM do DRV foram atualizadas e a presença de duas ou mais nos códons V11I, V32I, L33F, I50V, I54L ou M, T74P, L76V, I84V ou L89V foi associada com resposta virológica reduzida ao DRV/r. (DESCAMPS, 2009; WENSING, 2015; DE LUCA, 2016). A suscetibilidade ao DRV/r (96,92%) demonstrada neste estudo favoreceu o resgate terapêutico nas crianças e adolescentes multiexperimentados com ARV e com resistência a mais de uma classe (MADRUGA, 2007 (B); BLANCHE, 2009; VIOLARI, 2015) e foi semelhante à demonstrada em outros estudos (SÁNCHEZ, 2015). Os guidelines atuais de tratamento recomendam o uso de pelo menos dois, preferencialmente três, agentes antirretrovirais ativos, mantidos pelo paciente ao longo de sua vida mesmo após a supressão viral ser atingida, isto é , $CV \leq 50$ cópias/mL (PCDT 2013; DHHS 2016; EACS; 2015).

Em 21/65 (32,30%) dos pacientes analisados foi identificada drug resistance mutation (DRM) na protease, com impacto de resistência ao lopinavir (LPV/r). Este achado é particularmente relevante pelo desafio de resgate com DRV/r (BLANCHE, 2009) em crianças menores de 3 anos (DRV/r aprovado acima de 3 anos) e naquelas que não conseguem ingerir comprimidos (DHHS 2016). Em pacientes multiexperimentados com IP, o acúmulo de 6 ou mais mutações (L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, V32I, L33F, M46I/L) está associado com uma resposta virológica reduzida para o LPV/r (RHEE, 2010). No entanto, existem novas evidências que mutações específicas, notavelmente a I47A e possivelmente I47V e V32I, estejam associadas a alto nível de resistência (WENSING, 2015). A adição da L76V, com 3 mutações associadas à resistência, aumentou a resistência ao LPV/r (WENSING, 2015).

Em um estudo conduzido na África do Sul, MEYERS et al analisaram o teste de resistência de 75/152 crianças após falha virológica em uso de esquema ARV de 1ª linha contendo LPV/r, apresentando 10,7% de DRM ao LPV/r e mutações associadas à resistência intermediária ao DRV/r em 2 pacientes. Foi mantido o LPV/r em 63/75 dos pacientes com falha ao LPV/r, ocorrendo supressão virológica em 51% (MEYERS, 2015).

Nosso estudo verificou alto nível de resistência ao atazanavir (ATV/r), 19/65 (29,23%) dos pacientes. As DRM mais frequentemente selecionadas pelo uso do ATV são 50L, 88S e 84V (RHEE, 2010). Apenas a 84V foi observada nas amostras de nossos pacientes (2/65). No entanto, o acúmulo de outras mutações impactaram em resistência cruzada ao ATV (Rhee 2010). Particularmente interessante, é que o ATV e o fosamprenavir (FPV) compartilham a mesma assinatura mutacional no códon 50 da PR, sendo a 50L do ATV e 50V do FPV. Durante o uso desses IP, somente um tipo de mutação pode emergir, não existindo resistência cruzada entre eles e, importante, a mutação I50L do ATV aumenta a suscetibilidade ao FPV e a todos os outros IPs e coincidentemente a I50V leva a hipersuscetibilidade ao ATV (COLONNO, 2004; COTTON, 2014; FORTUNY, 2014).

As DRM conferindo alto nível de resistência e resistência intermediária ao tipranavir (TPV/r) foram encontradas em 6/65 (9,23%) e 7/65 pacientes, respectivamente. O TPV/r possui um *score* de mutações. As mutações principais (47V, 54A/M/V, 58E, 74P, 82L/T, 83D) tem peso ≥ 3 e as acessórias (10V, 36I, 43T, 46L, 84V) possuem peso de 1 a 2 (CAHN 2006; HIDKS 2006). A vantagem do uso do TPV/r está relacionada ao perfil diferente de resistência em relação ao DRV/r (RHEE, 2010; STERRANTINO, 2012). Acrescenta-se sua vantagem em crianças menores pela disponibilidade de solução oral, sendo inclusive aprovado para uso em maiores de 2 anos (SALAZAR et al 2008; SALAZAR et al, 2014).

As DRM 30N (9,23%), 88D (7,69%) e 90M (15,38%) encontradas neste estudo, foram selecionadas pelo uso prévio de nelfinavir (NFV) em regimes de ARV prévios ao teste genotípico. As mutações 30N e 88D não conferem resistência cruzada aos outros IP/r (SANTOS, 2011). Por outro lado, a mutação 90M pode causar resistência cruzada ao FPV/r (BNR), indinavir - IDV/r (I), saquinavir - SQV/r (I), LPV/r (BNR), ATV/r (BNR) pelo algoritmo da STANFORD (HIVDB 2015).

Na classe dos inibidores de integrase (dolutegravir, elvitegravir e raltegravir), apenas o RAL foi utilizado para terapia de resgate em nossos pacientes. O RAL está aprovado para uso em crianças a partir de 4 semanas de idade. (BRIZ, 2012; DHHS 2016). O elvitegravir (EVG) não tem registro no Brasil. O dolutegravir (DTG) foi aprovado pela ANVISA desde 2014 e estará disponível na rede pública a partir de 2017. O DTG está aprovado para uso em pacientes acima de 12 anos (VIANI, 2015; DHHS 2016). Nos pacientes que utilizaram previamente RAL ou EVG deve ser executado o teste genotípico da integrase antes do uso de DTG pela possibilidade da ocorrência de mutações de resistência cruzada (CAHN, 2013; ERON, 2013; AKIL, 2015). Diversos ensaios clínicos do DTG em crianças entre 4 semanas e 12 anos estão em andamento (clinicaltrials.gov ClinicalTrials.gov NCT01302847) e em crianças na faixa entre 6 e 12 anos foram apresentados resultados preliminares pelo pesquisador Andrew Wiznia na Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections (TAYLOR BS et al. 2016).

O ritonavir em dose plena foi utilizado em esquemas na era pré-HAART em alguns pacientes (4,8%). Em relatos de uso de ritonavir em dose plena em crianças na África do Sul, houve 73% de mutações na protease (FEUCHT, 2014).

A enfuvirtida (ENF ou T-20) foi usada no resgate de pacientes em associação com outros ARV (DRV/r ou LPV/r), quando houve acúmulo de DRM na protease e na TR, para aumentar a barreira genética do esquema terapêutico (CLOTET, 2007; WIZNIA, 2007). Após o desenvolvimento de novas classes (RAL, MVC), o T-20 foi substituído por esquema com melhor comodidade posológica, uma vez que ele é administrado por injeção no subcutâneo (PCDT 2013), ou por falha terapêutica devido à sua baixa barreira genética (SHIMANE, 2013).

O teste de tropismo foi realizado em apenas quatro pacientes nesta coorte. Sendo que dois testes resultaram em tropismo X4, um apresentou vírus com duplo tropismo (X4/R5) e um teve suscetibilidade ao maraviroque (MVC). O teste do tropismo deve ser executado antes do uso do MVC. Os antagonistas de CCR5 são disponíveis para uso em pacientes acima de 18 anos (DHHS 2016, MOTIVATE) e estão sob avaliação para uso em crianças acima de 2 anos (ClinicalTrials.gov NCT00791700). O CCR5 (R5) é um correceptor que o HIV usa para infectar os linfócitos T CD4+. A maioria dos pacientes porta-vírus que usa-o correceptor R5 durante a

infecção aguda e nos estágios iniciais da infecção pelo HIV. A proporção de vírus que usa-R5 para a entrada na célula tende a diminuir ao longo do tempo, com o surgimento de vírus utilizando o correceptor alternativo, o CXCR4(X4) (GULICK, 2008). A presença de vírus X4 ou dual-mixed (DM), X4 e tropismo R5, impede a resposta terapêutica com antagonista R5 (Gulick 2008). A taxa de prevalência de X4 ou DM relatada em alguns estudos em crianças e adolescentes está entre 31,5% a 45% (FRANGE, 2012; ALMEIDA, 2014; DI BIAGIO, 2014). AGWU et al conduziram um estudo em crianças e adolescentes em falha terapêutica utilizando o teste de fenotropismo em 59/73 amostras que resultaram em 54% com tropismo X4. (AGWU, 2016).

Apesar da elevada resistência aos ARV observada em nosso estudo, a suscetibilidade a algumas drogas, como aos IPs não peptídicos (TPV/r e DRV/r) e à nova geração de ITRNN (ETR) combinada com T-20 ou RAL possibilitou obter a supressão viral em aproximadamente 90% crianças e adolescentes. Nossos dados são semelhantes àqueles encontrados em coorte espanhola, onde 48 adolescentes com teste de resistência genotípica e com ampla experiência de terapia ARV apresentaram multirresistência nos genes da TR e PR. No entanto, na coorte espanhola a supressão viral (<50 cópias/mL) foi alcançada em 58,3% em uso de esquemas contendo DRV/r + raltegravir (RAL) + ETR (SANCHEZ, 2015).

GARCÍA et al, em um estudo conduzido no México, avaliaram 16 adolescentes com multirresistência aos ARVs, nos quais se obteve supressão virológica em 69% (CV < 50 cópias/ml) e 81% com CV < 200 cópias/ml utilizando esquema de DRV/r + RAL + ETR, guiado pelo teste de genotipagem (GARCIA et al 2016).

O teste de resistência genotípica foi realizado em 68 crianças e adolescentes em um estudo brasileiro, identificando qual 58% deles com uma ou mais mutações de ITRN, 51% com mutações de ITRNN e 35% com uma ou mais mutações principais dos IP/r. Foi documentada resistência em 17% dos casos em uma classe, 21% em duas classes e 24% de resistência nas três classes de ARV (ALMEIDA, 2014).

As implicações clínicas da resistência genotípica para as novas drogas de ARV (TPV/r, DRV/r, ETR, RAL, DTG, MVC) foram previamente relatadas em pacientes com falha virológica e demonstraram superioridade no resgate terapêutico em adultos (DUET-1, 2007; DUET-2, 2007; POWER 1, 2007; POWER 2 2007; POWER 3, 2007; TITAN, 2007; BENCHMRK Study Teams, 2008; MOTIVATE, 2008; TRIO 2009; LLIBRE, 2010). RESIST, TORO ; SAILING Study 2013; VIKING 2013; VIKING 3, 2014; VIKING 4, 2015).

Os ensaios clínicos de eficácia de drogas ARV realizados em crianças e adolescentes infectados pelo HIV com multirresistência são bastante escassos em comparação aos ensaios

de adultos, e na maioria deles são utilizados os novos ARVs comparados com um regime de base otimizada (optimizezed background regime – OBR) composto por drogas antigas.

Construir um esquema de resgate em pacientes com falha nas múltiplas classes de ARV utilizando as novas drogas, como o darunavir, raltegravir ou dolutegravir, pode ser possível em crianças.

O estudo PIANO (Paediatric study of Intelence As an NNRTI Option) é um ensaio clínico de fase II, aberto, braço único, multicêntrico que avaliou a segurança e atividade antiviral da etravirina combinada com um OBR em crianças e adolescentes infectados pelo HIV que previamente usaram NVP ou EFV (crianças entre 6 e 12 anos; adolescentes entre 12 e 18 anos). Na semana 48, 76 pacientes completaram o tratamento e 56% deles (68% crianças; 48% adolescentes) alcançaram resposta virológica ($CV < 50$ cópias/mL). Dos 30 pacientes com falha virológica, 18 (60%) desenvolveram mutações de resistência aos ITRNN, mais frequentemente a Y181C (TUDOR-WILLIAMS et al 2014).

BRIZ et al. conduziram um estudo retrospectivo multicêntrico de 19 adolescentes apresentando MDR, avaliando o raltegravir como parte da terapia de resgate. A efetividade a longo prazo do esquema de resgate contendo RAL foi estudada através de análise longitudinal do status clínico, imunológico (89% recuperaram a contagem de células CD4) e virológico ($61\% < 50$ cópias/mL) dos pacientes (BRIZ et al 2012).

O raltegravir é o primeiro inibidor de integrase aprovado para uso pediátrico (> 4 semanas de idade) e foi avaliado no ensaio IMPAACT P1066, mostrando supressão virológica (< 400 cópias/mL) em aproximadamente 80% dos participantes após 48 semanas de seguimento (NACHMAN et al, 2014).

O dolutegravir, um inibidor de transferência da fita de integrase com um perfil de resistência muito favorável, está atualmente aprovado para crianças acima de 12 anos. O resultado de coorte do ensaio IMPAACT 1093 demonstrou supressão virológica (< 400 cópias/mL em 17 dos 23 (74%) adolescentes (12 a 18 anos) experimentados de ARV após 48 semanas de tratamento (VIANI et al, 2015).

O estudo DELPHI (Darunavir Evaluation in Pediatric, HIV-Infected) é um ensaio de fase II que avaliou a farmacocinética, segurança e eficácia em crianças e adolescentes infectadas pelo HIV experimentadas de tratamento (6 a 17 anos de idade). Os pacientes receberam DRV + OBR (ITRN ou ITRNN e/ou T-20). Os pacientes foram randomizados para avaliação de farmacocinética. No final de 48 semanas 75/80 (94%) dos pacientes completaram o tratamento. A eficácia foi analisada com 24 e 48 semanas. Na semana 48, 65% dos pacientes tiveram redução de pelo menos 1 log de RNA HIV-1, 59 e 48% alcançaram menos que 400 cópias de

RNA HIV-1 e menos de 50 cópias/ml, respectivamente. As mutações mais frequentes foram I54L, V32I, I50V, L89M (BLANCHE, 2009).

O ARIEL foi um estudo de fase II, aberto, para avaliar a segurança e atividade antiviral do DRV/r com um OBR em crianças infectadas pelo HIV-1 experimentados de TARV entre 3 e 6 anos. Até a semana 48, 17 de 21 pacientes (81%) confirmaram a supressão viral abaixo de 50 cópias/mL. Apenas 4/21 pacientes (19%) apresentaram amostras com mutações primárias na PR (M46I, Q58E, L76V, V82A, L90M) e 2 pacientes (10%) portavam vírus com mutações para DRV (L76V + L33F; L76V) . (VIOLARI, 2015). Esses estudos, DELPHI e ARIEL, demonstram que o darunavir pode ser uma opção após a falha com lopinavir em crianças acima de 3 anos.

PERA (PENTA 8) foi um ensaio randomizado de troca de ARV guiada pelo teste de resistência genotípica versus troca guiada pela experiência clínica em crianças e adolescentes (3 meses a 18 anos) com falha virológica ao tratamento, apresentando RNA HIV-1 ≥ 2000 cópias/mL. Foram acompanhadas 170 pacientes de 24 clínicas em 6 países. O benefício virológico e imunológico da utilidade a longo prazo do teste de resistência não foi observado neste estudo (GREEN et al, 2006).

O tipranavir (TPV/r) teve sua eficácia, segurança e tolerabilidade avaliada no ensaio PACTG1051. Foi um ensaio pediátrico randomizado em dois grupos de baixa ou alta dose terapêutica, aberto, de 115 crianças e adolescentes (2 a 18 anos) experimentados de tratamento. Na semana 48, 39,7% de baixa dose e 45,6% com alta dose de TPV/r atingiram CV menores de 400 cópias/mL e 34,5 e 35,1% respectivamente alcançaram CV menores que 50 cópias/mL. O *score* de suscetibilidade genotípica (GSS) foi 0 (indicando resistência para todas as drogas no OBR) em aproximadamente metade dos pacientes (44,3%) e mesmo assim 39,2% dos pacientes alcançaram menos que 400 cópias/mL após 48 semanas de tratamento (SALAZAR et al, 2008).

O T20-310 foi um ensaio aberto, multicêntrico, para avaliar a eficácia e segurança da enfuvirtida na dose de 2mg/Kg/dia via subcutâneo (+ OBR). Após 48 semanas de tratamento de 52 pacientes (3 a 16 anos) infectados pelo HIV experimentados de TARV, 32,7% obtiveram queda da CV ≥ 1 log₁₀ cópias/mL e 21,2% alcançaram RNA HIV-1 <400 cópias/mL (WIZNIA et al, 2007).

7 CONCLUSÕES

- Após a terapia de resgate, observou-se que aproximadamente 90% dos pacientes analisados atingiram supressão viral, com níveis de RNA viral do HIV abaixo do limites de detecção (<50 ou 40 cópias) após 24 semanas da mudança do esquema antirretroviral combinado (cARV) ($P<0,001$).
- A resposta imunológica resultou em benefício, com elevação na contagem de células T CD4+ ($P<0,001$).
- As mutações de resistência aos antirretrovirais apresentaram maior prevalência na classe de ITRN (98,46%), seguida pelos ITRNN (75,38%) e IP (44,61%), sendo observada pelo menos uma mutação principal em cada uma das classes de ARV.
- As mutações mais frequentes na classe de ITRN foram nos códons T215 (83,07%), com prevalência da T215YF (69,23%), M184V (69,29%), M41L (52,3%).
- As mutações mais comumente observadas na classe dos ITRNN foram K103N/S (40%), G190A/S (30,77%), K101E/P/Q (23,07%).
- As mutações associadas à resistência na protease ocorreram principalmente nos códons 54, 82 e 46, apresentando taxas de 35,38%; 32,3%; 27,69%; respectivamente.
- O acúmulo de mutações resultou em alto nível de resistência aos ITRN em 55,38% dos casos. Na classe de ITRNN ocorreu acúmulo de mutações conferindo alto nível de resistência à etravirina em 9,23% e intermediária em 26,15%.
- As mutações na protease não resultaram em resistência completa ao darunavir, mas ocorreu resistência intermediária em 2/65 pacientes.
- O acúmulo de 3 ou mais TAM ocorreu em mais da metade dos pacientes (36/65) e a via mutacional TAM 1 acumulou ≥ 3 TAMs em aproximadamente 1/3 dos pacientes (19/65).
- A resistência a mais de uma classe ocorreu em 41,53%; 12,30%; 35,38% com a associação de ITRN + ITRNN; ITRN + IP/r; e nas três classes ITRN + ITRNN + IP respectivamente.

8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O presente estudo possui algumas limitações. É retrospectivo, mas com extenso follow-up dos pacientes, dispondo de dados clínicos, imunológicos e histórico dos esquemas ARV utilizados. Embora tenha sido realizado em único centro, o HDT é um serviço de referência para a região central do Brasil. Os esquemas de ARV foram bastante diversificados, no entanto guiados pelas recomendações dos guidelines que sofreram mudanças e avanços em razão dos novos AR adicionados no arsenal terapêutico. Outra limitação é a ausência de relatos sobre a adesão ao tratamento ARV, embora este dado tenha sido avaliado em consultas médicas de rotina com apoio de atendimento multidisciplinar, como psicologia, assistente social, setor de adesão específico para crianças e gestantes infectadas pelo HIV, revelação do diagnóstico na maioria das crianças entre 7 e 10 anos, grupo de adolescentes. Os fatores de risco da falha terapêutica não foram analisados estatisticamente, embora constassem no banco de dados a CV e CD4 inicial, o nadir de CD4 e CV, contagem de CD4 e CV cada 4 a 6m, além de também estarem registrados todos os esquemas prescritos e suas respectivas durações de uso, registros que poderiam ser avaliados quanto ao acúmulo de mutações de resistência na genotipagem.

O teste de resistência genotípica primária, isto antes do início do esquema ARV, foi realizado em alguns pacientes, sem reconhecimento de mutação de resistência.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo forneceu informações importantes dos resultados do teste de resistência genotípica após o uso de terapia ARV a longo prazo em crianças e adolescentes infectados perinatalmente pelo HIV. Adicionalmente, realça a possibilidade de compor adequadamente o regime ARV, com alta barreira genética, utilizando as novas drogas e novas classes de drogas ARV, com o objetivo de evitar a falha terapêutica após o resgate e prevenir acúmulo de outras DRM. Apesar dos desafios do tratamento ARV em crianças, e especificamente em adolescentes portando vírus com resistência às múltiplas classes de ARV, demonstramos alta taxa de supressão virológica. Destaque relevante neste estudo, uma amostra expressiva de pacientes em uma única coorte, dados numéricos de difícil obtenção, uma vez que houve redução da transmissão perinatal. Os pacientes foram atendidos e acompanhados num serviço de referência em doenças infectocontagiosas para o estado de Goiás e região central do Brasil, assistidos pela mesma equipe de médicos do HDT ao longo desses anos, com apoio multidisciplinar, seguindo as recomendações dos guidelines e PCDT aliadas às orientações do comitê de terapia antirretroviral do estado de Goiás, que iniciou suas atividades em 1999. Localmente, é o primeiro estudo de resistência genotípica em crianças e adolescentes infectados pelo HIV realizado em Goiânia, Goiás e não encontramos outros estudos semelhantes na região Centro-Oeste, até a data presente. Foram analisados os resultados de testes de metodologia molecular de ponta, como a carga viral do HIV pelo método de PCR e o teste de genotipagem do HIV, todos eles exigindo laboratórios de alta complexidade. As análises das mutações também foram e devem ser feitas juntamente com a análise do histórico de ARV, idade, comorbidade, necessitando especialistas e médicos de referência em genotipagem (MRG) direcionados para essa população.

O teste de resistência genotípica padrão, pelo método padrão *in-house* ou de Sanger, possibilita detectar mutações de resistência nos genes da transcriptase, protease e integrase do HIV. No entanto, as limitações do teste incluem o fato que somente a presença de variantes do vírus mutante na frequência acima de 10 ou 20% podem ser detectadas, e a falta da pressão da droga ARV no momento da coleta do teste pode acarretar mutações arquivadas e não serem detectadas. Novas metodologias do teste de resistência como *ultra deep sequencing* e outras (PBMC), genoma único, possibilitam detectar as mutações na frequência ~ 1%. Alguns estudos

também mostraram que as mutações podem ser detectadas em baixa viremia mesmo utilizando o método *in-house*.

O teste de resistência tem mostrado ser um preditor eficaz de falha virológica em inúmeros estudos. No entanto, a maioria dos testes comerciais de resistência somente pode ser executada com amostras contendo carga viral mínima acima de 500-1000 cópias/mL. Em contraste, os testes de resistência *in-house* podem ser executados em amostras com baixa viremia, inferior a 1000 cópias/mL, e a taxa de sucesso de tais testes tem aumentado nos últimos anos. Além disso, vários estudos têm mostrado que baixo nível de viremia está associado com subsequente falha virológica, ativação imune, recuperação inadequada da contagem de células CD4 e desenvolvimento de resistência às drogas. A resistência pode ser detectada em baixo nível de viremia, porém existe limitada evidência que o risco de falha virológica após baixo nível de viremia pode ser mais elevado pela presença de resistência em pacientes pediátricos. Avaliar o impacto do aparecimento de resistência do HIV às drogas em baixo nível de viremia é um campo a ser explorado na população pediátrica.

10 REFERÊNCIAS

- ABRAM M.E., FERRIS A.L. Nature, Position, and Frequency of Mutations Made in a Single Cycle of HIV-1 Replication. *Journal of Virology*, v. 8, n. 19, October 2010.
- AGWU A.L., YAO T.J., ESHLEMAN S.H., et al. Phenotypic Coreceptor Tropism in Perinatally HIV-infected Youth Failing Antiretroviral Therapy. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 35, n. 7, p. 777- 781, July, 2016.
- AKANBI M.O., SCARCI K., TAIWO B. and MURPHY R.L. Combination Nucleoside/Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors. *Expert Opin Pharmacother.*, v. 13, n. 1, p. 65- 79. January 2012.
- AKIL B., BLICK G., HAGINS D.P., et al. Dolutegravir versus placebo in subjects harbouring HIV-1 with integrase inhibitor resistance associated substitutions: 48-week results from VIKING-4, a randomized study. *Antiviral Therapy*, v. 20, n. 3, p. 343- 348, 2015.
- ALCÂNTARA K.C., LINS J.B.A., ALBUQUERQUE M., et al. HIV-1 mother-to-child transmission and drug resistance among Brazilian pregnant women with high access to diagnosis and prophylactic measures. *Journal of Clinical Virology*, v. 54, n. ,p. 15-20, 2012.
- ALIZON S., von WYL V., STADLER. T., et al. Phylogenetic Approach Reveals That Virus Genotype Largely Determines HIV Set-Point Viral Load. *PLoS Pathogens*, v. 6, n. 9, p. 1- 9, September 2010. www.plospathogens.org .
- ALLAVENA C., KATLAMA C., COTTE L., et al. Long-term efficacy and safety of etravirine-containing regimens in a real-life cohort of treatment-experienced HIV-1-infected patients. *Infectious Diseases*, v. 48, n. 5, p. 392–398, Published online 12 January 2016.
- ALMEIDA F.J., ZAPAROLI M.S., MOREIRA D.H., et al. Association of X4 tropism with disease progression in antiretroviral-treated children and adolescents living with HIV/AIDS in São Paulo, Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 18, n. 3, p. 300- 307, 2014.
- ANGELIS D.S.A., TATENO A.F., DIAZ R.S., et al. HIV-1 drug resistance genotypic profiles in children with undetectable plasma viremia during antiretroviral therapy. *Braz J Infect Dis.*, v. 15, n. 1, p. 60-65, 2011.
- ARASTÉH K., YENI P., POZNIAK A., et al. Efficacy and safety of darunavir/ritonavir in treatment-experienced HIV type-1 patients in the POWER 1, 2 and 3 trials at week 96. *Antiviral Therapy*, v. 14, p. 859–864, 2009.
- ARTS E.J., HAZUDA D. HIV-1 Antiretroviral Drug Therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med.*, 2012. Cold Spring Harb Perspect Med 2012;2:a007161. <<http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/cgi/collection>>.
- AUPIAIS C., FAYE A., LE CHENADEC J., et al. Interruption of cART in Clinical Practice Is Associated With an Increase in the Long-Term Risk of Subsequent Immunosuppression in HIV-1-Infected Children. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 33, n 12, p. 1237- 1245, December, 2014.
- BAMFORD A., TURKOVA A., LYALL H., et al. Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) guidelines for treatment of paediatric HIV-1 infection 2015: optimizing health in preparation for adult life. *HIV Medicine*, v. , n. p. 1-42, February 3, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/hiv.12217>>. DOI: 10.1111/hiv.12217.

BARBER T.J., HARRISON L., ASBOE D., et al. Frequency and patterns of protease gene resistance mutations in HIV-infected patients treated with lopinavir/ritonavir as their first protease inhibitor. *J Antimicrob Chemother.*, v. 67, n. , p. 995- 1000, 2012.

BARNHART H.X., CALDWELL M.B., THOMAS P., et al. Natural History of Immunodeficiency Virus Disease in Perinatally Infected Children: An Analyses From the Pediatric Spectrum of Disease Project. *Pediatrics*, v. 97, n. 5, p. 710- 716, May 1996.

BARRÉ-SINOUSSE F., CHERMAN J.C., REY F., et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, v. 220, n. 4599, p. 868-871, May 20, 1983. [doi: 10.1126/science.6189183].

BARRÉ-SINOUSSE F. HIV as the cause of AIDS. *Lancet*, v. 348, n. , p. 31–35, July 6; 1996.

BAXTER J.D., DUNN D., WHITE E., et al. Global HIV-1 transmitted drug resistance in the INSIGHT Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment (START) trial. *HIV Medicine*, v. 16, (Suppl. 1), p. 77–87, 2015. DOI: 10.1111/hiv.12236.

BENNETT D.E., CAMACHO R.J., OTELEA D., et al. Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update. *PLoS One*, v. 4, n. 3, March 2009. e4724.

BETHELL R., SCHERER J. WITVROUW M., et al. Short communication: Phenotypic protease inhibitor resistance and cross-resistance in the clinic from 2006 to 2008 and mutational prevalences in HIV from patients with discordant tipranavir and darunavir susceptibility phenotypes. *AIDS Res Hum Retroviruses*, v. 9, n. 9, p. 1019-24, September 2012. doi: 10.1089/AID.2011.0242. Epub 2012 Mar 23.

BLANCHE S., BOLOGNA R., CAHN P., et al. Pharmacokinetics, safety and efficacy of darunavir/ritonavir in treatment-experienced children and adolescents. *AIDS*. v. 23, n. 15, p. 2005-2013, 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico Aids e DST. Ano IV, n. 1, Brasília, Junho 2015. <www.aids.gov.br>

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo de infecção pelo HIV em crianças e adolescentes, Brasília, 2014. Disponível em:<<http://www.aids.gov.br/pcdt>>

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo de infecção pelo HIV em adultos e adolescentes. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pcdt>>.

BRENCHLEY J.M., PRICE D.A., SCHACKER T.A., et al. Microbial translocation is cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nature Medicine*, v. 12, n. 12, p. 1365- 1371, December , 2006.

BRENNER B.G., and COUTSINOS D. The K65R mutation in HIV-1 reverse transcriptase: genetic barriers, resistance profile and clinical implications. *HIV Ther.*, v. 3, n. 6, p. 583- 594, November 1, 2009.

BRIZ V., PALLADINO C., NAVARRO M.L., et al. Etravirine-based highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected paediatric patients. *HIV Medicine*, v. 12, p. 442–446, 2011.

BRIZ V., LEÓN-LEAL J., PALLADINO C., et al. Potent and sustained antiviral response of raltegravir-based highly active antiretroviral therapy in HIV type 1-infected children and adolescents. *Pediatr Infect Dis J*, v. 31, n. 3, p. 273- 277, March 2012.

CAHN P., VILLACIAN J., LAZZARIN A., et al. Ritonavir-Boosted Tipranavir Demonstrates Superior Efficacy to Ritonavir-Boosted Protease Inhibitors in Treatment-Experienced HIV-Infected Patients: 24-Week Results of the RESIST-2 Trial. *Clinical Infectious Diseases*, v. 43, n. , p. 1347- 56, November 15, 2006.

CAHN P., POZNIAK A.L., MINGRONE H., et al. Dolutegravir versus raltegravir in antiretroviral-experienced, integrase-inhibitor-naïve adults with HIV: week 48 results from the randomised, double-blind, non-inferiority SAILING study. *The Lancet*, v. 382, n. , p. 700- 08, August 24, 2013.

CAMPBELL T.B., SHULMAN N.S., JOHNSON S.C., et al. Antiviral Activity of Lamivudine in Salvage Therapy for Multidrug-Resistant HIV-1 Infection. *Clinical Infectious Diseases*, v. 41, n. 2 , p. 236–42, July 15, 2005.

CARDOSO C.A.A., PINTO J.A., CANDIANI T.M.S., et al. The impact of highly active antiretroviral therapy on the survival of vertically HIV-infected children and adolescents in Belo Horizonte , Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 107, n. 4, p. 532-538, June 2012.

CASTAGNA A., MAGGIOLO F., PENCO G., et al. Dolutegravir in Antiretroviral-Experienced Patients With Raltegravir- and/or Elvitegravir- Resistant HIV-1: 24-Week Results of the Phase III VIKING-3 Study. *JID*, v. 210, n. , August 1, 2014.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC): Revised Surveillance Case Definition for HIV Infection—United States, 2014. *MMWR*, v. 63, n. 3, p. 1- 10, April 2014. <<http://www.cdc.gov/mmwr/mmwrhtml/rr6303a1.htm>.>

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION(CDC): Revised Surveillance Case Definition for HIV Infection—United States, 2014. *MMWR*, v. 63, n. 3, p. 1- 10, April 2014; <<http://www.cdc.gov/mmwr/mmwrhtml/rr6303a1.htm>.>

CDC.CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. HIV Risk Behaviors <www.cdc.gov> CDC December 2015.

CLAVEL F. & HANCE A.J. HIV Drug Resistance. *N Engl J Med.*, v. 350, n. 10, p. 1023- 35, March 4, 2004.

CLAVEL F. HIV Resistance to Raltegravir. *Eu J Med Res.*, v.14, (Suppl. III), p.47-54, 2009.

CLOTET B., BELLOS N., MOLINA J.M., et al. Efficacy and safety of darunavir-ritonavir at week 48 in treatment-experienced patients with HIV-1 infection in POWER 1 and 2: a pooled subgroup analysis of data from two randomised trials. *Lancet*, v. 369, n. 9568, p. 1169–78, April 7, 2007.

COHEN M.S., CHEN Y.Q., McCAULEY M., et al. HPTN 052. Prevention of HIV-1 Infection with Early Antiretroviral Therapy. *N Engl J Med.*, v. 365, n. 6, p. 493- 505, August 11, 2011.

COHEN M.S., McCAULEY M., GAMBLE T.R. HIV treatment as prevention and HPTN 052. *Curr Opin HIV AIDS*, v. 7, n. 2, p. 99- 105, March, 2012. doi:10.1097/COH.0b013e32834f5cf2.

COHEN M.S., CHEN Y.Q., McCAULEY M., et al. Antiretroviral Therapy for the Prevention of HIV-1 Transmission. *N Engl J Med.*, v. , n. , p. 1- 10, July 18, 2016. DOI: 10.1056/NEJMoa1600693.

COLONNO R., ROSE R., McLAREN C. Identification of I50L as the Signature Atazanavir (ATV)–Resistance Mutation in Treatment-Naive HIV-1–Infected Patients Receiving ATV-Containing Regimens. *JID*, v. 189, n. , p. 1802– 1810, May 15, 2004.

CONNOR E.M., SPERLING R.S., GELBER R., et al. For the Pediatric AIDS Clinical Trials Group 076 (PACTG 076) Study Group. Reduction of Maternal-Infant Transmission of Human Immunodeficiency Virus Type 1 with Zidovudine. *The New England Journal of Medicine*, v. 331, n.18, p. 1173– 1180, November 3, 1994.

COOPER D.A., STEIGGBIGEL R.T., GATELL J.M., et al. Subgroup and Resistance Analyses of Raltegravir for Resistant HIV-1 Infection. *N Engl J Med.*, v. 359, n. 4, p. 355-65, July 24, 2008.

COTTON M., CASSIM H., PAVIA-RUZ N., et al. Pharmacokinetics, Safety and Antiviral Activity of Fosamprenavir/Ritonavir-containing Regimens in HIV-infected Children Aged 4 Weeks to 2 Years—48-week Study Data. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 33, n. 1, p. 57- 62, January 2014.

CUNHA R.D., ABREU C.M., GONZALEZ L.M.F., et al. Differential In Vitro Kinetics of Drug Resistance Mutation Acquisition in HIV-1 RT of Subtypes B and C. *PLOS ONE*, v. 7, n. 10, p. 1- 9, October 2012.

DEHORITY W., ABADI J., WIZNIA A., et al. Use of Integrase Inhibitors in HIV-Infected Children and Adolescents. *Drugs*, v. 75, n. , p. 1483–1497, 2015.

DE LUCA A., FLANDRE P., DUNN D., et al. Improved darunavir genotypic mutation score predicting treatment response for patients infected with HIV-1 subtype B and non-subtype B receiving a salvage regimen. *J Antimicrob Chemother.*, Advance Access published January 28, 2016. DOI:10.1093/jac/dkv465.

DE MEYER S., AZIJN H., SURLERAUX D., et al. TMC114, a Novel Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Inhibitor Active against Protease Inhibitor-Resistant Viruses, Including a Broad Range of Clinical Isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 49, n. 6, p. 2314–2321, June 2005.

DE MULDER M., YEBRA G., NAVAS A., et al. Trends in Drug Resistance Prevalence in HIV-1–infected Children in Madrid: 1993 to 2010 Analysis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. v. 31, n. 11, p. e213-e221, November, 2012.

DEEKS S.G., LEWIN S.R., HAVLIR D.V. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. *Lancet*, v. 382, n. 9903, p. 1525- 33, November 2, 2013.

DEEKS S.G., OVERBAUGH J., PHILIPS A., et al. HIV infection. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 1, n. 15035, p. 1- 22, 2015. doi: 10.1038/nrdp.2015.35. Published online1 October 2015. www.nature.com/nrdp.

DEEKS E.D. Darunavir: A Review of Its Use in the Management of HIV-1 Infection. *Drugs*, v. 74, n. p. 99–125, 2014.

DEEKS S.G., LEWIN S.R., ROSS A.L. International AIDS Society global scientific strategy: towards an HIV cure 2016. *Nature Medicine*, v. 22, n. 8, p. 839- 850, August 2016. doi:10.1038/nm.4108.

DERACHE A., WALLIS C.L., VARDHANABHUTI S., et al. Phenotype, Genotype, and Drug Resistance in Subtype C HIV-1 Infection. *JID*, v. 213, n. , p. 250- 256, January 15, 2016.

DESCAMPS D., LAMBERT N.S., MARCELIN A.G., et al. Mutations associated with virological response to darunavir/ritonavir in HIV-1-infected protease inhibitor-experienced patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 63, n. , p. 585–592, 2009. doi:10.1093/jac/dkn544.

DIAZ R.S. Guia para o Manuseio de Resistência Antirretroviral. Permanyer Brasil Publicações, 2011.

DIAZ R.S., INOCÊNCIO L.A., SUCUPIRA M.C., PEREIRA A.A., HUNTER J., FERREIRA J.E., ARAÚJO L.V., SOUSA D.F., SABINO E.C. The Virological and Immunological Characteristics of the HIV-1-Infected Population in Brazil: From Initial Diagnostic to Impact of Antiretroviral Use. PLoS ONE, v. 10, n. 10, p. 1-14, Oct. 28, 2015. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0139677>>.

DI BIAGIO A., PARISINI A., BRUZZONE B., et al. Genotypic Determination of HIV Tropism in a Cohort of Patients Perinatally Infected With HIV-1 and Exposed to Antiretroviral Therapy. HIV Clinical Trials, v. 15, n. 1, p. 45-50, Jan-Feb., 2014.

DONEGAN L.D., WALKER S., DUNN D., et al. The prevalence of darunavir-associated mutation in HIV-1-infected children in the UK. Antiviral Therapy, v. 17, n. 4, p. 599-603, 2012.

DUNN D., WOODBURN P., DUONG T., et al. Current CD4 Cell Count and the Short-Term Risk of AIDS and Death before the Availability of Effective Antiretroviral Therapy in HIV-Infected Children and Adults. JID, v. 197, n. 3, p. 398- 404, February 1, 2008.

EACS: EUROPEAN AIDS CLINICAL SOCIETY. Guidelines, version 8.0, October 2015. Available at : <http://www.eacsociety.org/files/2015_eacsguidelines_8_0-english_rev-20160124.pdf>. Accessed 29 October 2015.

ENGELMAN A., CHERAPANOV P. The structure biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. Nature Reviews Microbiology, v. 10, n. , p. 279-90, April; 2012.

ERON J.J., YOUNG B., COOPER D.A., et al. Switch to a raltegravir-based regimen versus continuation of a lopinavir-ritonavir-based regimen in stable HIV-infected patients with suppressed viraemia (SWITCHMRK 1 and 2): two multicentre, double-blind, randomised controlled trials. Lancet, v. 375, n. , p. 396- 407, January 30, 2010.

ERON J.J., CLOTET B., DURANT J., et al. Safety and Efficacy of Dolutegravir in Treatment-Experienced Subjects With Raltegravir-Resistant HIV Type 1 Infection: 24-Week Results of the VIKING Study. JID, v. 207, n. 8, p. 740- 748, March 1, 2013.

ESTÉ A.J. and TELENTI A. HIV entry Inhibitors. Lancet, v. 370, n. 9581 ,p. 81- 88, 2007.

FAIRLIE L., KARALIUS B., PATEL K., et al. CD4+ and viral load outcomes of antiretroviral therapy switch strategies after virologic failure of combination antiretroviral therapy in perinatally HIV-infected youth in the United States. AIDS, v. 29, n. 16, p. 2109–2119, 2015. DOI:10.1097/QAD.0000000000000809.

FERRAND R.A., BRIGGS D., FERGUSON J., et al. Viral suppression in adolescents on antiretroviral treatment: review of the literature and critical appraisal of methodological challenges. Tropical Medicine and International Health, v. 21, n. 3, p. 325–333, March 2016.

FEUCHT U.D., ROSSOUW T., Van DYK G., et al. Consequences of Prior Use of Full-dose Ritonavir as Single Protease Inhibitor as Part of Combination Antiretroviral Regimens on the Future Therapy Choices in HIV-1–Infected Children. The Pediatric Infectious Disease Journal, v. 33, n. 2, p. e53- e59, February 2014.

FISCHL M.A., RICHMANN D.D., GRIECO M.H., et al. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. N Engl J Med., v. 317, n. , p. 185–191, 1987. [PubMed: 3299089]

FLYNN P., KOMAR S., BLANCHE S., et al. Efficacy and Safety of Darunavir/Ritonavir at 48 Weeks in Treatment-naïve, HIV-1-infected Adolescents. Results From a Phase 2 Open-label Trial (DIONE). *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33:940–945.

FRANGE P., BRIAND N., VEBER F., et al. CCR5 antagonists: a therapeutic option in HIV-1 perinatally infected children experiencing virologic failure? *AIDS*, v. 26, n.13, p. 1673- 1677, August 24, 2012.

FORTUNY C., DUICULESCU D., CHENG K., et al. Pharmacokinetics and 48-week Safety and Antiviral Activity of Fosamprenavir-containing Regimens in HIV-infected 2- to 18-year-old Children. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 33, n. 1, p. 50- 56, January 2014.

FRASER C., LYTHGOE K., LEVENTHAL G.E, et al. Virulence and Pathogenesis of HIV-1 Infection: An Evolutionary Perspective. *Science*, v. 343, n. , p. , March 21, 2014. DOI: 10.1126/science.1243727.

GALLANT J.E., RODRIGUEZ A.E., WEINBERG W.G., et al. Early Virologic Nonresponse to Tenofovir, Abacavir, and Lamivudine in HIV-Infected Antiretroviral-Naive Subjects. *JID*, v. 192, n. 11, p. 1921- 1930, December 1, 2005.

GANDHI M., GANDHI R.T. Single-Pill Combination Regimens for Treatment of HIV-1 Infection. *N Engl J Med*, v. 371, n. 3, p. 248- 259, July 17, 2014.

GBD 2015 HIV Collaborators. Estimates of global, regional, and national incidence, prevalence, and mortality of HIV, 1980–2015: the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet HIV*, v. 3, n. 8, p. e361–87, August 2016.

GENEVE: WORLD HEALTH ORGANIZATION: Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV. September 2015. Available at www.who.int <www.who.int/hiv>

GERETTI A.M., CONIBEAR T., HILL A., et al. Sensitive testing of plasma HIV-1 RNA and Sanger sequencing of cellular HIV-1 DNA for the detection of drug resistance prior to starting first-line antiretroviral therapy with etravirine or efavirenz. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, p. 1- 8, Advance Access published November 27, 2013.

GIANDHARI J., BASSON A.E., SUTHERLAND K., et al. Contribution of Gag and Protease to HIV-1 Phenotypic Drug Resistance in Pediatric Patients Failing Protease Inhibitor-Based Therapy.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 60, n. 4, p. 2248- 2256, April 2016.

GOETGHEBUER T., HAELTERMAN E., Le CHENADEC J., et al. Effect of early antiretroviral therapy on the risk of AIDS/death in HIV-infected infants. *AIDS*, v. 23, n. 5, p. 597- 604, 2009.

GREEN H., GIBB D.M., COMPAGNUCCI A., et al. A randomized controlled trial of genotypic HIV drug resistance testing in HIV-1-infected children: the PERA (PENTA 8) Trial. *Antiviral Therapy*, v.11, n. 7, p. 857–867, 2006.

GREGSON J., TANG M., The TenoRes Study Group. Global epidemiology of drug resistance after failure of WHO recommended first-line regimes for adults HIV-1 infection: a multicentre retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*, v.16, p. 565- 75, May, 2016. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00536-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00536-8)>.

GRENNAN J.T., LOUTFY M.R., SU D.S., et al. Magnitude of Virologic Blips Is Associated With a Higher Risk for Virologic Rebound in HIV-Infected Individuals: A Recurrent Events Analysis. *JID*, v. 205, n. , p. 1230- 8, April 15, 2012.

GRINSZTEJN B., NGUYEN B.Y., KATLAMA C., et al. Safety and efficacy of the HIV-1 integrase inhibitor raltegravir (MK-0518) in treatment-experienced patients with multidrug-resistant virus: a phase II randomised controlled trial. *The Lancet*, v. 369, n. 9569, p. 1261–69, April 14, 2007.

GUIMARÃES P.M.S., FERREIRA J.L.P., COELHO L.P.O.C., et al. Transmitted Drug Resistance Among Recently Diagnosed Adults and Children in São Paulo, Brazil. *AIDS Research and Human Retroviruses*, v. 31, n. 12, p. 1219- 1224, 2015. DOI: 10.1089/aid.2014.0354.

GULICK R.M., LALEZARI J., GOODRICH J., et al. for the MOTIVATE Study Teams. Maraviroc for Previously Treated Patients with R5 HIV-1 Infection. *N Engl J Med.*, v. 359, n. 14, p. 1429- 41, October 2, 2008.

GULICK R.M. Choosing Initial Antiretroviral Therapy: Current Recommendations for Initial Therapy and Newer or Investigational Agents. IAS-USA. *Top Antivir Med.*, v. 23, n. 4, p. 128- 131, October/November 2015.

GÜNTHARD H.F., SAAG M.S., BENSON C.A., et al. Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults. 2016 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel. *JAMA*, v. 316, n. 2, p. 191- 210, July 12, 2016.

GUPTA R.K., GIBB D., and PILLAY D. Management of Paediatric HIV-1 Resistance. *Current Opinion Infectious Diseases*, v.22, n.3, p.256-263, 2009.

HARRISON L., MELVIN A, FISCUS S., et al. HIV-1 Drug Resistance and Second-Line Treatment in Children Randomized to Switch at Low Versus Higher RNA Thresholds. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, v. 70, n. 1, September 1, 2015.

HAUSER A., MUGENYI K., KABASINGUZI R., et al. Emergence and Persistence of Minor Drug-Resistant HIV- 1 Variants in Ugandan Women after Nevirapine Single- Dose Prophylaxis. *PLoS One*, v. 6, n. 5, May 2011.

HAYNES B.F. Gut microbes out of control in HIV infection. *Nature Medicine*, v. 12, n. 12, p. 1351- 1352, December , 2006.

HERSCHHORN A. & HIZI A. Retroviral reverse transcriptases. *Cell. Mol. Life Sci*, v. 67, n. 16, p. 2717- 2747, August 2010. doi:10.1007/s00018-010-0346-2.

HICKS C.B., CAHN P., COOPER D.A., et al. Durable efficacy of tipranavir-ritonavir in combination with an optimised background regimen of antiretroviral drugs for treatment-experienced HIV-1-infected patients at 48 weeks in the Randomized Evaluation of Strategic Intervention in multi-drug reSistant patients with Tipranavir (RESIST) studies: an analysis of combined data from two randomised open-label trials. *Lancet*, v. 368, n., p. 466- 75, August 5, 2006.

HIV PAEDIATRIC PROGNOSTIC MARKERS COLLABORATIVE STUDY. Predictive value of absolute CD4 cell count for disease progression in untreated HIV-1-infected children. *AIDS*, v. 20, p. 1289- 1294, 2006.

HUERTA-GARCIA G., VAZQUEZ-ROSALES J.G., MATA-MARIN J.A., et al. Genotype-guided antiretroviral regimens in children with multidrug-resistant HIV-1 infection. *Pediatric Research*, v. 80, n. 1, p. 54- 59, July, 2016.

HUGHES D. and ANDERSSON D.I. Evolutionary consequences of drug resistance: shared principles across diverse targets and organisms. *Nature Reviews Genetics*, v.16, n. , p. 549- 471, August 2015.

IYIDOGAN P. & ANDERSON K. Current Perspectives on HIV-1 Antiretroviral Drug Resistance. *Viruses*, v. 6, p. 4095- 4139, 2014. doi:10.3390/v6104095.

JORDAN. Assessments of HIV Drug Resistance Mutations in Resource-Limited Settings. *Clinical Infectious Diseases*, v. 52, n. 8, p. 1058- 1060, April 15, 2011.

JUDD A., LODWICK R., NOGUERA-JULIAN A., et al. Higher rates of triple-class virological failure in perinatally HIV-infected teenagers compared with heterosexually infected young adults in Europe. *HIV Medicine*, 2016. DOI: 10.1111/hiv.12411.

KATLAMA C., DEEKS S.G., AUTRAN B., et al. Barriers to cure for HIV: new ways to target and eradicate HIV-1 reservoirs. *Lancet*, v. 381, n. , p. 2109- 17, June 15, 2013.

KAKUDA T.N., BROCHOT A., TOMAK F.L., et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of boosted once-daily darunavir. *J Antimicrob Chemother.*, v. 69, p. 2591–2605, 2014.

KEARNS G.L., ABDEL-RAHMANET S.M., ALANDER S.W., et al. Developmental Pharmacology - Drug Disposition, Action, and Therapy in Infants and Children. *N Engl J Med*, v. 349, n. 12, p.1157-67, September 18, 2003. Disponível em: <doi.org/10.1056/NEJMra035092>.

KELLY S.G., NYAKU A.N., TAIWO B.O., et al. Two-Drug Treatment Approaches in HIV: Finally Getting Somewhere? *Drugs*, v. 76, n. , p. 523–531, 2016. DOI 10.1007/s40265-016-0553-8.

KITAHATA M.M., GANGE S.J., ABRAHAM A.G., et al. Effect of Early versus Deferred Antiretroviral Therapy for HIV on Survival. *N Engl J Med.*, v. 360, n. 18, p. 1825- 1826, April 30, 2009.

KUMAR A., ABBAS W., HERBEIN G. HIV-1 Latency in Monocytes/Macrophages. *Viruses*, v. 6, p. 1837- 1860, April 22, 2014. doi:10.3390/v6041837. www.mdpi.com/journal/viruses.

KURITZKES D.R., BASSETT R.L., HAZELWOOD D., et al. Rate of Thymidine Analogue Resistance Mutation Accumulation With Zidovudine- or Stavudine-Based Regimens. *J Acquir Immune Defic Syndr*, v. 36, n. 1, p. 600- 603, May 1 2004.

LALEZARI J.P., HENRY K., O'HEARN M., et al. Enfuvirtide, an HIV-1 Fusion Inhibitor, for Drug-Resistant HIV Infection in North and South America. *N Engl J Med.*, v. 348, n. 22, p. 2175- 85, May 29, 2003.

LAPRISE C., POKOMANDY A., BARIL J.G., et al. Virologic failure following persistent low-level viremia in a cohort of HIV-positive patients: Results from 12 years of observation. *Clinical Infectious Diseases*, v. 57, n. 10, p. 1489- 96, November 15, 2013.

LAUGHTON B., CORNELL M., GROVE D., et al. Early antiretroviral therapy improves neuro-developmental outcomes in infants. *AIDS*, v. 26, n. 13, p. 1685- 1690, 2012.

LI J.Z & KURITZES D.R. Clinical Implications of HIV-1 Minority Variants. *Clinical Infectious Diseases*, v. 56, n. 11, p. 1667–74, June 1, 2013.

LI G., PIAMPONGSANT S., FARIA N.R., et al. An integrated map of HIV genome-wide variation from a population perspective. *Retrovirology*, v. 12, n. 18, p. 1- 17, 2015. DOI: 10.1186/s12977-015-0148-6.

LIMA V.D., REUTER A., HARRIGAN P.R., et al. Initiation of antiretroviral therapy at high CD4+ cell counts is associated with positive treatment outcomes. *AIDS*, v. 29, n. 14, p. 1871–1882, 2015.

LLIBRE J.M., PULIDO F., GARCIA F., et al. Genetic Barrier to Resistance for Dolutegravir. *AIDS Rev.*, v. 17, n. p. 59-68, 2015.

LUMBIGANON P., KARIMINIA A., AURPIBUL L., et al. Survival of HIV-Infected Children: A Cohort Study From the Asia-Pacific Region. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, v. 56, n. 4, p. 365- 371, April 1, 2011.

LUZURIAGA K., WU H., MCMANUS M., et al. Dynamics of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication in Vertically Infected Infants. *Journal of Virology*, v. 73, n. 1, p. 362- 367, January 1999.

LUZURIAGA K. and SULLIVAN J.L. Viral and immunopathogenesis of vertical HIV-1 infection. *Pediatric Clinics of North America*, v. 47, n. 1, p. 65- 78, February 2000.

LUZURIAGA K., GAY H., ZIEMNIAK C., et al. Viremic Relapse after HIV-1 Remission in a Perinatally Infected Child. *N Engl J Med.*, v. 372, n. 8, p. 786- 788, February 19, 2015.

LUZURIAGA K., MOFENSON L. M. Challenges in the Elimination of Pediatric HIV-1 Infection. *N Engl J Med.*, v. 374, n. 8, p. 761- 770, February 25, 2016.

MAARTENS G., CELUM C., LEWIN S.R. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *The Lancet*, v. 384, n. , p. 258-71, July 19; 2014.

MADRUGA J.V., CAHN P., GRINSZTEJN B., et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-1: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*. v. 370, n. 9581, p. 29- 38, July 7, 2007. (A).

MADRUGA J.V., BERGER D., MCMURCHIE M., et al. Efficacy and safety of darunavir-ritonavir compared with that of lopinavir-ritonavir at 48 weeks in treatment-experienced, HIV-infected patients in TITAN: a randomised controlled phase III trial. *The Lancet*, v. 370, n. 9581, p. 49- 58, July 7, 2007. (B).

MALET I., THIERRY E., WIRDEN M., et al. Combination of two pathways involved in raltegravir resistance confers dolutegravir resistance. *J Antimicrob Chemother.*, v. 70, n. , p. 2870–2880, 2015.

MANDELBROT L., TUBIANA R., LE CHENADEC J., et al. No Perinatal HIV-1 Transmission From Women With Effective Antiretroviral Therapy Starting Before Conception. *Clinical Infectious Diseases* , v. n. p. 1- 11, August 18, 2015.

MARTÍNEZ-BONET M., PUERTAS M.C., FORTUNY C., et al. Establishment and Replenishment of the Viral Reservoir in Perinatally HIV-1-infected Children Initiating Very Early Antiretroviral Therapy. *CID*, v. 61, n. 7, p. 1169- 1178, October 1, 2015.

MATIDA L.M., RAMOS A.N., HEUKELBACH J., et al. Continuing Improvement in Survival for Children with Acquired Immunodeficiency Syndrome in Brazil. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 28, n. 10, p. 1-2, October 2009.

MELBY T., SISTA P., DEMASI R., et al. Characterization of Envelope Glycoprotein gp41 Genotype and Phenotypic Susceptibility to Enfuvirtide at Baseline and on Treatment in the Phase III Clinical Trials TORO-1 and TORO-2. *AIDS Research and Human Retroviruses*, v. 22, n. 5, p. 375- 385, 2006.

MELIKIAN G.L., RHEE S.Y., VARGHESE V., et al. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) cross-resistance: implications for preclinical evaluation of novel NNRTIs and clinical genotypic resistance testing. *J Antimicrob Chemother*, v. , n. , p.1- 9, August 9, 2013.

MEYERS T., DRAMOWSKI A., SCHNEIDER H., et al. Changes in Pediatric HIV-Related Hospital Admissions and Mortality in Soweto, South Africa, 1996-2011: Light at the End of the Tunnel? *J Acquir Immune Defic Syndr*, v. 60, n. 5, p. 503- 510, August 15, 2012.

MEYERS T., SAWRY S., WONG J.Y., et al. Virologic Failure Among Children Taking Lopinavir/Ritonavir-containing First-line Antiretroviral Therapy in South Africa. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. v. 34, n. 2, p. 175- 179, February 2015.

MICHAUD V., BAR-MAGEN., TURGEON J., et al. The Dual Role of Pharmacogenetics in HIV Treatment: Mutations and Polymorphisms Regulating Antiretroviral Drug Resistance and Disposition. *Pharmacological Reviews*, v. 64, n. 3, p. 803- 833, 2012. Available at: <http://pharmrev.aspetjournals.org>. <http://dx.doi.org/10.1124/pr.111.005553>.

MILLER M.D., MARGOT N., LU B., et al. Genotypic and Phenotypic Predictors of the Magnitude of Response to Tenofovir Disoproxil Fumarate Treatment in Antiretroviral-Experienced Patients. *J Infect Dis*, v. 189 , n. 5, p. 837- 846, March 1, 2004.

MITSUYA Y., WINTERS M.A., FESSEL W.J, et al. N88D Facilitates the Co-occurrence of D30N and L90M and the Development of Multidrug Resistance in HIV Type 1 Protease following Nelfinavir Treatment Failure. *AIDS Research and Human Retroviruses*, v. 22, Number 12, 2006, pp. 1300–1305.

MITISUYA Y., LIU T.F., RHEE S.Y., et al. Prevalence of Darunavir Resistance–Associated Mutations: Patterns of Occurrence and Association with Past Treatment. *JID*, v. 196, n. , p. 1177- 1199, October 15, 2007.

MUGAVERO M.J., MAY M., RIBAUDO H.J., et al. Comparative Effectiveness of Initial Antiretroviral Therapy Regimens: ACTG 5095 and 5142 Clinical Trials Relative to ART-CC Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, v. 58, n. 3, p. 253- 260, November 1, 2011.

MUNERATO P., SUCUPIRA M.C., OLIVEROS M., 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- 274, 2010.

MUTWA P.R., BOER K.R., RUSINE J., et al. Long-Term Effectiveness of Combination Antiretroviral Therapy and Prevalence of HIV Drug Resistance in HIV-1-Infected Children and Adolescents in Rwanda. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. v. 33, n. 1, p. 63-69, January, 2014.

NACHMAN S., ZHENG N., ACOSTA E.P., et al. Pharmacokinetics, Safety, and 48-Week Efficacy of Oral Raltegravir in HIV-1–Infected Children Aged 2 Through 18 Years. *CID*, v. 58, n. p. 413- 22, February 1, 2014.

NIELSEN-SAINES K., WATTS H., VELOSO V.G., et al. for the NICHD HPTN 040/PACTG 1043 Protocol Team. Three Postpartum Antiretroviral Regimens to Prevent Intrapartum HIV Infection. *The New England Journal of Medicine*, v. 366, n. 25, p. 2368- 2379, June 21, 2012.

NEGRA M.D., De CARVALHO A.P., De AQUINO M.Z., et al. Long-term Efficacy and Safety of Tenofovir Disoproxil Fumarate in HIV-1-infected Adolescents Failing Antiretroviral Therapy. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 34, n. 4, p. 398- 405, April 2015.

NEWELL M.L., COOVADIA H., CORTINA-BORJA M., et al. Mortality of infected and uninfected infants born to HIV-infected mothers in Africa: a pooled analysis. *Lancet*, v. 364, n. 9441, p. 1236–43, October 2, 2004.

PALELLA F., ARMON C., BUCHACZ K., et al. The Association of HIV Susceptibility Testing With Survival Among HIV-Infected Patients Receiving Antiretroviral Therapy: A Cohort Study. *Annals of Internal Medicine*, v. 151, n. 2, p. 73- 84 , July 21, 2009.

PALELLA F.J., ARMON C., BUCHACZ K., et al. Factors associated with mortality among persistently viraemic triple-antiretroviral-class-experienced patients receiving antiretroviral therapy in the HIV

Outpatient Study (HOPS). *J Antimicrob Chemother.*, v. 69, n. , p. 2826–2834, 2014. doi:10.1093/jac/dku190 Advance Access publication 16 June 2014.

PALUMBO P., LINDSEY J.C., HUGHES M.D., et al. Antiretroviral Treatment for Children with Peripartum Nevirapine Exposure. *N Engl J Med.*, v. 363, n.16, p. 1510- 20, October 14, 2010.

PANEL ON ANTIRETROVIRAL GUIDELINES FOR ADULTS AND ADOLESCENTS. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services (DHHS). Available at <<http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>>. Accessed [1/28/2016].

PANEL ON ANTIRETROVIRAL THERAPY AND MEDICAL MANAGEMENT OF HIV-INFECTED CHILDREN. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection. Available at <<http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/pediatricguidelines.pdf>>. Accessed (3/2/2016)

PAREDES R., LALAMA C.M., RIBAUDO H.J., et al. Pre-existing Minority Drug-Resistant HIV-1 Variants, Adherence, and Risk of Antiretroviral Treatment Failure. *JID*, v. 201, n. 5, p. 662- 671, March 1, 2010.

PAREDES R., MARCONI V.M., LOCKMAN S., et al. Impact of Antiretroviral Drugs in Pregnant Women and Their Children in Africa: HIV Resistance and Treatment Outcomes. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 207, (S2), S93- 100, 2013.

PARIKH U.M., ZELINA S., SLUIS-CREMER N., and MELLORS J.W. Molecular mechanisms of bidirectional antagonism between K65R and thymidine analog mutations in HIV-1 reverse transcriptase. *AIDS*, v. 21, n. 11, p. 1405–1414, 2007.

PATEL K., HERNÁN M.A., WILLIAMS P.L., et al; Pediatric AIDS Clinical Trials Group 219/219C Study Team. Long-term effectiveness of highly active antiretroviral therapy on the survival of children and adolescents with HIV infection: a 10-year follow-up study. *Clin Infect Dis.*,v. 46, n. 4, p. 507- 515, February 15, 2008.

PAU A.K., GEORGE J.M. Antiretroviral Therapy: Current Drugs. *Infect Dis Clin N Am.*, v. 28, n. 3, p. 371-402, 2014. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2014.06.001>>

PENAZZATO M., PRENDERGAST A.J., MUHEB L.M., et al. Optimization of antiretroviral therapy in HIV-infected children under 3 years of age: a systematic review. *AIDS*, v. 28, (Suppl 2), p. S137–S146, 2014.

PERSAUD D., GAY H., ZIEMNIAK C., et al. Absent of Detectable HIV-1 Viremia after Treatment Cessation in an Infant. *N Engl J Med.*, v. 369, n. 19, p. 1828- 1835, November 7, 2013.

PERSAUD D., PATEL K., KARALIUS B., et al. Influence of Age at Virologic Control on Peripheral Blood Human Immunodeficiency Virus Reservoir Size and Serostatus in Perinatally Infected Adolescents. *JAMA Pediatrics*, v. 168, n. 12, p. 1138- 1146, December 2014.

PFIZER CT.gov Call Center: ViiV Healthcare. An Open Label Pharmacokinetic, Safety And Efficacy Study Of Maraviroc In Combination With Background Therapy For The Treatment Of HIV-1 Infected, CCR5 -Tropic Children. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00791700. <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00791700?intr=%22Maraviroc%22&rank=32>>.

PLATO II-The Pursuing Later Treatment Options II. Risk of triple-class virological failure in children with HIV: a retrospective cohort study. *The Lancet*, v. 377, n. , p. 1580- 87, May 7,2011.

PRASITSUEBSAI W., TEERAANANCHAI S., SINGTORI T., et al. Treatment Outcomes and Resistance Patterns of Children and Adolescents on Second-Line Antiretroviral Therapy in Asia. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, v. 72, n. 4, p. 380- 386, August 1, 2016.

POZNIAK A., OPRAVIL M., BEATTY G., et al. Effect of Baseline Viral Susceptibility on Response to Darunavir/Ritonavir versus Control Protease Inhibitors in Treatment-Experienced HIV Type 1-Infected Patients: POWER 1 and 2. *AIDS Research and Human Retroviruses*, v. 24, n. 10, p. 1275-1280, 2008.

PUTHANAKIT T., SAPHONN V., ANANWORANICH J., et al. Early versus deferred antiretroviral therapy for children older than 1 year infected with HIV (PREDICT):a multicentre, randomised, open-label trial. *Lancet Infect Dis.*, v. 12, n. 12, p. 933- 41, December 2012.

RAMOS A.N., MATIDA L.H., HEARST N., et al. AIDS Morbidity and Mortality in Brazilian Children Before and After Highly Active Antiretroviral Treatment Implementation. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 30, n. 9, p. 1- 5, September 2011. www.pidj.com

RHEE S.Y., TAYLOR J., FESSEL J., et al. HIV-1 Protease Mutations and Protease Inhibitor Cross-Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 54, n. 10 , p. 4253–4261, October 2010.

RHEE S.Y., JORDAN M.R., RAISES E., et al. HIV-1 Drug Resistance Mutations: Potential Applications for Point-of-Care Genotypic Resistance Testing. *PLoS ONE*, v. 10, n. 12, p. 1- 17, December 30, 2015. : e0145772. doi:10.1371/journal.pone.0145772.

RHEE S.Y., SANKRARAN K., VARGHESE V., et al. HIV-1 Protease, Reverse Transcriptase, and Integrase Variation. *Journal of Virology*, v. 90, n. 13, p. , July 2016.

RIDDLER S.A., HAUBRICH R., DI RIENZO G., et al. Class-Sparing Regimens for Initial Treatment of HIV-1 Infection. *N Engl J Med.*, v. 358, n. , p. 2095- 2106, May 15, 2008.

ROBB M.L., ELLER L.A., KIBUUKA H., et al. Prospective Study of Acute HIV-1 Infection in Adults in East Africa and Thailand. *N Engl J Med.*, v. 374, n. 22, p. 2120- 2130, June 2, 2016.

ROGO T., DELONG A.K., CHAN P., et al. Antiretroviral Treatment Failure, Drug Resistance, and Subtype Diversity in the Only Pediatric HIV Clinic in Rhode Island. *CID*, v. 60, n. 9, p. 1426-1435, May 1, 2015.

ROSSOUW T.M., FEUCHT U.D., MELIKIAN G., van DYK G., THOMAS W., du PLESSIS N. M., AVENANT T. Factors Associated with the Development of Drug Resistance Mutations in HIV-1 Infected Children Failing Protease Inhibitor-Based Antiretroviral Therapy in South Africa. *PLoS ONE*, v. 10, n. 7, p. 1-16, July 21, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0133452>>. Acesso em 03/05/2016.

SALAZAR J.C., CAHN P., YOGEV R., et al. Efficacy, safety and tolerability of tipranavir coadministered with ritonavir in HIV-1-infected children and adolescents. *AIDS*, v. 22, n. 14, p. 1789-1798, September 12, 2008.

SALAZAR J.C., CAHN P., NEGRA M.D., et al. Efficacy and Safety of Tipranavir Coadministered with Ritonavir in HIV-1-Infected Children and Adolescents: 5 Years of Experience. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 33, n. 4, p. 396- 400, April 2014.

SALOU M., DAGNRA A.Y., BUTEL C., et al. High rates of virological failure and drug resistance in perinatally HIV-1-infected children and adolescents receiving lifelong antiretroviral therapy in routine clinics in Togo. *Journal of the International AIDS Society*, v. 19, n. 20683, p. 1- 7, April 2016.(A)

SALOU M et al. High Rates of Drug Resistance Among Newly Diagnosed HIV-infected Children in the National Prevention of Mother-to-child Transmission Program in Togo. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. v. 35, n. 8, p. 879- 885, August 2016.(B).

SÁNCHEZ P.R., deMULDER M., FERNANDEZ-COOKE E., et al. Clinical and virologic follow-up in perinatally HIV-1-infected children and adolescents in Madrid with triple-class antiretroviral drug-resistant viruses. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 21, n. 6, p. e605- e609, June, 2015.

SANTOS A.F.A., SOARES M.A. The impact of the nelfinavir resistance-conferring mutation D30N on the susceptibility of HIV-1 subtype B to other protease inhibitors. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, v. 106, n. 2, p. 177-181, March 2011.

SAX P.E., TIERNEY C., COLLIER A.C., et al. Abacavir–Lamivudine versus Tenofovir– Emtricitabine for Initial HIV-1 Therapy. *N Engl J Med.*, v. 361, n. 23, p. 2230– 40, December 3, 2009.

SEVERE P., JUSTE M.A.J., AMBROISE A., et al. Early versus Standard Antiretroviral Therapy for HIV-Infected Adults in Haiti. *N Engl J Med.*, v. 363, n. 3, p. 257- 265, July 15, 2010.

SHAFER R.W., RHEE S.Y., PILLAY D., HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS*, v. 21, n. 2, p. 215- 223, 2007.

SHARP P.M., HAHN B.H. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harb Perspective Med.*, 2011;1:a006841. <<http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/>>.

SHEARER W.T., QUINN T.C., LARUSSA P., et al. Viral Load and Disease Progression in Infants Infected with Human Immunodeficiency Virus Type 1. *N Engl J Med.*, v. 336, n. 19, p. 1337- 1342, May 8, 1997.

SHIAU S., ARPADI S., STREHLAU R., et al. Initiation of antiretroviral therapy before 6 months of age is associated with faster growth recovery in South African children perinatally infected with human immunodeficiency virus. *J Pediatr.*, v. 162, n. 6, p. 1138- 1145, 2013.

SHIMANE K., KAWAJI K., MIYAMOTO F., et al. HIV-1 Resistance Mechanism to an Electrostatically Constrained Peptide Fusion Inhibitor That Is Active against T-20-Resistant Strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 57, n. 8, p. 4035- 38, August 2013.

SKHOSANA L., STEEGEN K., BRONZE M., et al. High Prevalence of the K65R Mutation in HIV-1 Subtype C Infected Patients Failing Tenofovir-Based First-Line Regimens in South Africa. *PLoS ONE*, v. 10, n. 2, p. 1- 12, February 6, 2015.

SIGALOFF K.C.E., KAYIWA J., MUSIIME V., et al. High Rates of Thymidine Analogue Mutations and Dual-Class Resistance Among HIV-Infected Ugandan Children Failing First-Line Antiretroviral Therapy. *AIDS Research and Human Retroviruses*, v. 29, n. 6, p. 925- 930, 2013.

SIMON V. and HO D.D. HIV-1 Dynamics in vivo: Implications for Therapy. *Nature Reviews Microbiology*, v. 1, p. 181-90, December 2003.

SIMON V., Ho D.D., KARIM Q.A. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Lancet*, v. 368, n. , p. 489- 504, August 5, 2006.

SIMON V., BLOCH N., LANDAU N.R. Intrinsic host restrictions to HIV-1 and mechanisms of viral escape. *Nature Immunology*, v. 16, n. 6, p. 546- 553, June 2015.

SOMSOUK M., ESTES J.D., DELEAGE C., et al. Gut epithelial barrier and systemic inflammation during chronic HIV infection. *AIDS*, v. 29, n. 1, p. 43–51, 2015.

SORIANO V., ARASTÉH K., MIGRONE H., et al. Nevirapine versus atazanavir/ritonavir, each combined with tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine, in antiretroviral-naïve HIV-1 patients: the ARTEN Trial. *Antiviral Therapy*, v. 16, n. 3, p. 339- 348, 2011.

STANFORD UNIVERSITY HIV DRUG RESISTANCE DATABASE: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm. Available from URL: <<http://sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra>> .

STANFORD UNIVERSITY. Estrutura do HIV. stanford.edu web.stanford.edu : HIV structure.

STEBBING J., GAZZARD B., DOUEK D.C. Where Does HIV Live? *N Engl J Med.*, v. 350, n. 18, p. 1872- 80, April 29, 2004.

STERRANTINO G., ZACCARELLI M., COLAO G., et al. Genotypic resistance profiles associated with virological failure to darunavir-containing regimens: a cross-sectional analysis. *Infection*, v. 40, n. 3, p. 311–318, 2012. DOI 10.1007/s15010-011-0237.

SUAYSOD R., NGO-GIANG-HUONG N., SALVADORI N., et al. Treatment Failure in HIV-Infected Children on Second-line Protease Inhibitor–Based Antiretroviral Therapy. *Clinical Infectious Diseases*. v. 61, n. 1, p. 95–101, 2015.

SVAROVSKAIA E.S., MARGOT N.A., BAE A.S., et al. Low-Level K65R Mutation in HIV-1 Reverse Transcriptase of Treatment-Experienced Patients Exposed to Abacavir or Didanosine. *J Acquir Immune Defic Syndr*, v. 46, n. 2, p. 174-180, October 1, 2007.

SUCCI R.C.M., et al. Mother-to-child transmission of HIV in Brazil during the years 2000 and 2001: results of a multi-centric study. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 23, supl. 3, p.S379-S389, 2007. access on 08 June 2016. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2007001500006>>.

TANG M.W., SHAFER R.W. HIV-1 Antiretroviral Resistance Scientific: Principles and Clinical Applications. *Drugs*, v. 72, n. 9, p.e1-e25, 2012.

TANG M.W., RHEE S.Y., BERTAGNOLIO S., et al. Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Resistance Mutations Associated with First-Line Stavudine-Containing Antiretroviral Therapy: Programmatic Implications for Countries Phasing Out Stavudine. *JID*, v. 207, s. 2, p. s70- s77, June 15, 2013.

TAYLOR B.S., OLENDER S.A., TIEU H.V., et al. CROI 2016: Advances in Antiretroviral Therapy. CROI 2016 Highlights: New Antiretroviral Drugs and Approaches for Treatment of Pediatric HIV Infection. *Antiretroviral Therapy*, v. 24, n. 1, p. 77- 78, May/June 2016.

THE INSIGHT START STUDY GROUP. Initiation of antiretroviral therapy in early asymptomatic HIV infection. *N Engl J Med.*, v. 373, n. 9, p. 795- 807, 2015. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26192873>.

THE PENPACT-1 (PENTA 9/PACTG390) Study Team. First-line antiretroviral therapy with a protease Inhibitor versus non-nucleoside reverse transcriptase Inhibitor and switch at higher versus low viral load in HIV-infected children: an open-label, randomised phase 2/3 trial. *Lancet Infect Dis.*, v. 11, n. 4, p. 273- 283, 2011.

THE PURSUING LATER TREATMENT OPTIONS II (PLATO II) project team for the Collaboration of Observational HIV Epidemiological Research Europe (COHERE). Risk of triple-class virological failure in children with HIV: a retrospective cohort study. *Lancet*, v. 377, n. , p. 1580- 87, May 7, 2011.

THE TENORES STUDY GROUP. Global epidemiology of drug resistance after failure of WHO recommended first-line regimens for adult HIV-1 infection: a multicentre retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis.*, v. 16, n. 5, p. 565 - 75, May, 2016.

TOWNER W.J., CASSETTI I., DOMINGO P., et al. Etravirine: clinical review of a treatment option for HIV type-1-infected patients with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance. *Antiviral Therapy*, v. 15, n. , p. 803 - 816, 2010.

TUDOR-WILLIAMS G., CAHN P., CHOKEPHAIBULKIT K., et al. Etravirine in treatment-experienced, HIV-1-infected children and adolescents: 48-week safety, efficacy and resistance analysis of the phase II PIANO study. *HIV Medicine*, v. 15, p. 513–524, 2014.

UPRETY P., CHADWICK E.G., RAINWATER K.L., et al. Cell-Associated HIV-1 DNA and RNA Decay Dynamics During Early Combination Antiretroviral Therapy in HIV-1-Infected Infants. *CID*, v. 61, n. 12, p. 1862- 1870, December 15, 2015.

UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS): AIDS by The Numbers 2015. unaids.org

UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Gap report 2014. Available at :<http://www.unaids.org/en/resources/documents/2014/20140716_UNAIDS_gap_report>.

UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Global AIDS Updated 2016.

VANDENHENDE M.A., PERRIER A., BONNET F., et al. Risk of virological failure in HIV-1-infected patients experiencing low-level viraemia under active antiretroviral therapy (ANRS C03 cohort study). *Antiviral Therapy*, v. 20, n. 6, p. 655–660, 2015. (doi: 10.3851/IMP2949.

VAN DYKE R.B., PATEL K., SIBERRY G.K., et al. Antiretroviral treatment of US children with perinatally acquired HIV infection: temporal changes in therapy between 1991 and 2009 and predictors of immunologic and virologic outcomes. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, v. 57, n. 2, p. 165–73, June 1, 2011.

VAN DYKE R.B., PATEL K., KAGAN R.M., et al. Antiretroviral Drug Resistance Among Children and Youth in the United States With Perinatal HIV. *CID*, v. 63, n. 1, p. 133- 137, July 1, 2016. DOI: 10.1093/cid/ciw213.

VIANI R.M., ALVERO C., FENTON T., et al. Safety, pharmacokinetics and efficacy of dolutegravir in treatment-experienced HIV-1 infected adolescents: 48-week results from IMPAACT P1093. *Pediatr Infect Dis J*, v. 34, n. 11, p. 1207- 1213, November 2015.

VINGERHOETS J., TAMBUYZER L. AZIJN H., et al. Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies. *AIDS*, v. 24, n. , p. 503- 514, 2010.

VIOLARI, A., COTTON M.F., GIBB D.M., et al. For the CHER Study Team. Early Antiretroviral Therapy and Mortality among HIV-infected Infants. *The New England Journal of Medicine*, v.359, n.21, p.2233- 44, November 2008.

VIOLARI A., LINDSEY J.C., HUGHES M.D., et al. Nevirapine versus Ritonavir-Boosted Lopinavir for HIV-Infected Children. *N Engl J Med*. v. 366, n. 25, p. 2380- 2389, June 21, 2012. Disponível em: <doi.org/10.1056/NEJMoa1113249>.

VIOLARI A., LINDSEY J.C., HUGHES M.D., et al. Nevirapine versus Ritonavir-Boosted Lopinavir for HIV-Infected Children. *N Engl J Med*. v. 366, n. 25, p. 2380- 2389, June 21, 2012. Disponível em: <doi.org/10.1056/NEJMoa1113249>.

VIOLARI A., BOLOGNA R., KUMARASAMY N., et al. Safety and efficacy of darunavir/ritonavir in treatment-experienced pediatric patients: week 48 results of the ARIEL trial. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. v, 34, n. 5, p. e132-137, May 2015.

vonWYL V., YERLY S., BÖNI J., et al. Factors Associated with the Emergence of K65R in Patients with HIV-1 Infection Treated with Combination Antiretroviral Therapy Containing Tenofovir. *CID*, v. 46, n. 8, p. 1299- 1309, April 15, 2008.

WAINBERG M.A., ZAHARATOS G.J., and BRENNER B.G. Mechanisms of Disease: Development of Antiretroviral Drug Resistance. *N Engl J Med.*, v. 365, n. 7, p. 637-46, August 18, 2011.

WENSING A.M., CALVEZ V., GÜNTARD H.F., et al. 2015 Updated of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Topics in Antiviral Medicine*, v. 23, n. 4, p. 132-141, October/November 2015. Disponível em <<https://www.iasusa.org>>.

WIZNIA A., CHURCH J., EMMANUEL P., et al. Safety and efficacy of enfuvirtide for 48 weeks as part of an optimized antiretroviral regimen in pediatric human immunodeficiency virus 1-infected patients. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v. 26, n. 9, p. 799-805, September 2007.

WIZNIA A.A., ALVERO C., FENTON T., et al. IMPAACT 1093: Dolutegravir in 6-12 Year Old HIV Infected Children: 48-Week Results. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), 2016 Poster # 816.

WIZNIA A.A., RUEL T. Safety of and Immune Response to Dolutegravir in HIV-1 Infected Infants, Children, and Adolescents. Identifier: NCT01302847 <<https://clinicaltrials.gov/show/NCT01302847>>.

WHITNEY J.B., LIM S.Y., and WAINBERG M.A. Evolutionary Mechanisms of Retroviral Persistence. *AIDS Rev.*, v. 13, p. 234- 9, 2011.

WHITCOMB J.M., PARKIN N.T., CHAPPEY C., et al. Broad Nucleoside Reverse-Transcriptase Inhibitor Cross-Resistance in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Clinical Isolates. *JID*, v. 188, n. 7, p. 992- 1000, October 1, 2003.

WILEN C.B., TILTON J.C., DOMS R.W., et al. HIV: Cell Binding and Entry. *Cold Spring Harb Perspect Med.*, 2012. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:a006866. <<http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/cgi/collection>>.

YAZDANPANA Y., FAGARD C., DECAMPS D., et al. High Rate of Virologic Suppression with Raltegravir plus Etravirine and Darunavir/ Ritonavir among Treatment-Experienced Patients Infected with Multidrug-Resistant HIV: Results of the ANRS 139 TRIO Trial. *CID*, v. 49, n. 9, p. 1441- 1449, November 1, 2009.

YIN D.E., WARSHAW M.G., MILLER W. C., et al. Using CD4 Percentage and Age to Optimize Pediatric Antiretroviral Therapy Initiation. *Pediatrics*, v. 134, n. 4, p. 1104-1116, October 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1542/peds.2014-0527>>. <pediatrics.aappublications.org>. DOI: 10.1542/peds.2014-0527.

ZACCARELLI M., TOZZI V., LORENZINI P., et al. Multiple drug class-wide resistance associated with poorer survival after treatment failure in a cohort of HIV-infected patients. *AIDS*, v. 19, n. 10, p. 1081–1089, July 1, 2005.

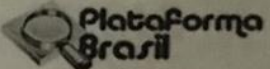
ZIERMANN R., LIMOLI L., DAS K., et al. A Mutation in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease, N88S, That Causes In Vitro Hypersensitivity to Amprenavir. *Journal of Virology*, v. 74, n. 9, p. 4414–4419, 2000.

ANEXOS

Anexo A- Parecer do CEP HC/UFG

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS - UFG	
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP		
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA		
Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA GENÓTIPICA DO VIRUS HIV-1 AOS ANTIRRETROVIRAIS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES EM FALHA TERAPÊUTICA EM GOIÁS NO PERÍODO DE 2000 A 2014.		
Pesquisador: Maly de Albuquerque		
Área Temática:		
Versão: 2		
CAAE: 47902915.9.0000.5083		
Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG		
Patrocinador Principal: Hospital Dr. Anuar Auad / HDT		
DADOS DO PARECER		
Número do Parecer: 1.210.496		

Anexo B – Parecer do CEP HDT/SES- GO

	HOSPITAL DE DOENÇAS TROPICAIS - HDT	
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP		
Elaborado pela Instituição Coparticipante		
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA		
Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA GENÓTIPICA DO VIRUS HIV-1 AOS ANTIRRETROVIRAIS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES EM FALHA TERAPÊUTICA EM GOIÁS NO PERÍODO DE 2000 A 2014.		
Pesquisador: Maly de Albuquerque		
Área Temática:		
Versão: 1		
CAAE: 47902915.9.3001.0034		
Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG		
Patrocinador Principal: Hospital Dr. Anuar Auad / HDT		
DADOS DO PARECER		
Número do Parecer: 1.293.194		

Anexo C – Classificação CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC-1994.

Classificação da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes menores de 13 anos.

Alteração imunológica - Ausente (1)

N1 Ausência de sinais e/ou sintomas clínicos

A1 Sinais e/ou sintomas clínicos leves

B1 Sinais e/ou sintomas clínicos moderados

C1 Sinais e/ou sintomas clínicos graves

Alteração imunológica - Moderada (2)

N2 Ausência de sinais e/ou sintomas clínicos

A2 Sinais e/ou sintomas clínicos leves

B2 Sinais e/ou sintomas clínicos moderados

C2 Sinais e/ou sintomas clínicos graves

Alteração imunológica - Grave (3)

N3 Ausência de sinais e/ou sintomas clínicos

A3 Sinais e/ou sintomas clínicos leves

B3 Sinais e/ou sintomas clínicos moderados

C3 Sinais e/ou sintomas clínicos graves

Categorias

Categoria N – Assintomática:

Ausência de sinais e/ou sintomas ou com apenas uma das condições da categoria A.

Categoria A – Sinais e/ou sintomas leves:

Presença de dois ou mais das condições abaixo, porém sem nenhuma das condições das categorias B e C:

- linfadenopatia (maior que 0,5 cm em mais de 2 cadeias diferentes);
- hepatomegalia;
- esplenomegalia;
- parotidite; e
- infecções persistentes ou recorrentes de vias aéreas superiores (otite média ou sinusite).

Categoria B – Sinais e/ou sintomas moderados:

- anemia (Hb < 8g/dl), neutropenia (<1.000/mm³) ou trombocitopenia (<100.000/mm³), por mais de 30 dias;
- meningite bacteriana, pneumonia ou sepse;
- TB pulmonar (critérios CDC modificados pelo MS)
- candidíase oral persistindo por mais de 2 meses;

- miocardiopatia;
 - infecção por Citomegalovírus (CMV), antes de 1 mês de vida;
 - diarreia recorrente ou crônica;
 - hepatite;
 - estomatite pelo vírus do Herpes Simples (HSV) recorrente (mais do que 2 episódios/ano); •
pneumonite ou esofagite por HSV, com início antes de 1 mês de vida;
 - herpes zoster, com 2 episódios ou mais de um dermatomo;
 - pneumonia intersticial linfocítica (LIP);
 - nefropatia;
 - nocardiose;
 - febre persistente (> 1 mês);
 - toxoplasmose antes de 1 mês de vida; e
- 1 varicela disseminada ou complicada.

Categoria C – Sinais e/ou sintomas

Crianças com quaisquer das condições listadas abaixo:

- Infecções bacterianas graves, múltiplas ou recorrentes (confirmadas por cultura, 2 episódios em intervalo de 1 ano): sepse, pneumonia, meningite, infecções osteoarticulares, abscessos de órgãos internos;
- candidíase esofágica ou pulmonar;
- coccidioidomicose disseminada;
- criptococose extra-pulmonar;
- criptosporidíase ou isosporíase com diarreia (> 1 mês);
- CMV em locais além do fígado, baço ou linfonodos, a partir de 1 mês de vida;
- encefalopatia pelo HIV (achados que persistem por mais de 2 meses), em razão de:
 - °déficit do desenvolvimento neuropsicomotor;
 - °evidência de déficit do crescimento cerebral ou microcefalia adquirida identificada por medidas de perímetro cefálico ou atrofia cortical mantida em tomografias computadorizadas ou ressonâncias magnéticas sucessivas de crânio; E
 - ° déficit motor simétrico com 2 ou mais dos seguintes achados: paresias, reflexos patológicos, ataxia e outros;
- infecção por HSV, úlceras mucocutâneas com duração maior do que 1 mês ou pneumonite ou esofagite (crianças > 1 mês de vida);
- histoplasmose disseminada;
- *Mycobacterium tuberculosis* disseminada ou extrapulmonar;
- *Mycobacterium*, outras espécies ou não identificadas, disseminadas;
- *Mycobacterium avium* ou *M. kansasii* disseminados;
- pneumonia por *Pneumocystis jiroveci*;
- salmonelose disseminada recorrente;
- toxoplasmose cerebral com início após o 1o mês de vida;

- síndrome da caquexia, manifestada por:
 - perda de peso > 10% do peso anterior; OU
 - queda de dois ou mais percentis nas tabelas de peso para a idade; OU
 - peso abaixo do percentil 5, em duas medidas sucessivas; E
 - diarréia crônica (duração maior que 30 dias); OU
 - febre por 30 dias ou mais, documentada;
- leucoencefalopatia multifocal progressiva;
- sarcoma de Kaposi; e
- linfoma primário do cérebro ou outros linfomas

Categorias imunológicas

Baseiam-se na contagem de LT-CD4+ de acordo com a idade, conforme quadro abaixo:

Quadro 1- Categoria imunológica da classificação da infecção pelo HIV-1 em criança e adolescentes menores de 13 anos. CDC Centers for Disease Control and Prevention-1994.

Alteração Imunológica	Contagem de linfócitos T- CD4+ (células/mm ³) em relação à idade e o valor percentual		
Ausente (1)	< 12 meses	1 a 5 anos	6 a 12 anos
	> 1500 (> 25%)	> 1000 (≥ 25%)	> 500 (≥25%)
Moderada (2)	750- 1449 (15- 24%)	500- 999 (15- 24%)	200- 499 (15- 24%)
Grave (3)	< 750 (< 15%)	< 500 (< 15%)	< 200 (< 15%)

Adaptada do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Crianças e Adolescentes, 2014. Disponível: www.aids.gov.br/publicações

Anexo D – Estágio de Infecção pelo HIV baseado na Percentagem ou Contagem de linfócitos T-CD4+ específica pela idade, Classificação do CDC, 2014

	Idade na data do teste de linfócitos T-CD4+					
Estágio CDC	< 1 ano		1 a < 6 anos		≥ 6 anos	
	Cells/ μ L	%	Cells/ μ L	%	Cells/ μ L	%
Estágio 1	≥ 1500	≥ 34%	≥ 1000	≥ 30%	≥ 500	≥ 26%
Estágio 2	750-1499	26-33%	500-999	22-29%	200-499	14-25%
Estágio 3	< 750	< 26%	< 500	< 22%	< 200	< 14%

O estágio é baseado principalmente na contagem do linfócitos T-CD4+; o valor %CD4 é considerado somente na ausência da contagem do CD4. Estágio 3: o critério também pode ser por doença oportunista, independente do teste de linfócito T-CD4+.

Adaptada: CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC): Revised Surveillance Case Definition for HIV Infection—United States, 2014. MMWR April 2014; v.63, n.3:p.1-10. <<http://www.cdc.gov/mmwr/mmwrhtml/rr6303a1.htm>>.

Anexo E – Classificação de Tanner (SMR)

Desenvolvimento mamário – sexo feminino
M1 - Mama infantil, com elevação somente da papila.
M2 - Broto mamário. Forma-se uma saliência pela elevação da aréola e da papila. O diâmetro da aréola aumenta e há modificação na sua textura. Há pequeno desenvolvimento glandular subareolar.
M3 - Maior aumento da mama e da aréola, sem separação dos seus contornos. O tecido mamário extrapola os limites da aréola.
M4 - Maior crescimento da mama e da aréola, sendo que esta forma uma segunda saliência acima do contorno da mama (duplo contorno).
M5 - Mama de aspecto adulto, em que o contorno areolar novamente é incorporado ao contorno da mama.
Desenvolvimento genital – sexo masculino
G1 - Testículos, escroto e pênis de tamanho e proporções infantis.
G2 - Aumento inicial do volume testicular (3-4 ml). Pele do escroto muda de textura e torna-se avermelhada. Aumento do pênis pequeno ou ausente.
G3 - Crescimento do pênis em comprimento. Maior aumento dos testículos e do escroto.
G4 - Aumento do pênis, principalmente em diâmetro e desenvolvimento da glândula. Maior crescimento de testículos e escroto, cuja pele torna-se mais enrugada e pigmentada.
G5 - Desenvolvimento completo da genitália, que assume características adultas.
Pilosidade pubiana – sexos feminino e masculino
P1 - Ausência de pelos pubianos. Pode haver uma leve penugem, semelhante à observada na parede abdominal.
P2 - Aparecimento de pelos longos e finos, levemente pigmentados, lisos ou pouco encaracolados, ao longo dos grandes lábios e na base do pênis.
P3 - Maior quantidade de pelos, agora mais grossos, escuros e encaracolados, espalhando-se esparsamente na região pubiana.
P4 - Pelos do tipo adulto, cobrindo mais densamente a região pubiana, mas sem atingir a face interna das coxas.
P5 - Pilosidade pubiana igual à do adulto, em quantidade e distribuição, invadindo a face interna da coxa.
Obs. Algumas pessoas apresentam extensão dos pelos pela linha alba, acima da região pubiana, constituindo-se o estágio P6 .

ANEXO F - WHO clinical staging of HIV disease in adults, adolescents and children

Annex 1. WHO clinical staging of HIV disease in adults, adolescents and children 	
Source: Adapted from WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children. Geneva, World Health Organization, 2007 (www.who.int/hiv/pub/guidelines/HIVstaging150307.pdf).	
Adults and adolescents*	Children
Clinical stage 1	
Asymptomatic	Asymptomatic
Persistent generalized lymphadenopathy	Persistent generalized lymphadenopathy
Clinical stage 2	
Moderate unexplained weight loss (<10% of presumed or measured body weight)	Unexplained persistent hepatosplenomegaly
Recurrent respiratory tract infections (sinusitis, tonsillitis, otitis media, pharyngitis)	Recurrent or chronic upper respiratory tract infections (otitis media, otorrhoea, sinusitis, tonsillitis)
Herpes zoster	Herpes zoster
Angular cheilitis	Lineal gingival erythema
Recurrent oral ulceration	Recurrent oral ulceration
Papular pruritic eruption	Papular pruritic eruption
Fungal nail infections	Fungal nail infections
Seborrhoeic dermatitis	Extensive wart virus infection
	Extensive molluscum contagiosum
	Unexplained persistent parotid enlargement
Clinical stage 3	
Unexplained severe weight loss (>10% of presumed or measured body weight)	Unexplained moderate malnutrition ^b not adequately responding to standard therapy
Unexplained chronic diarrhoea for longer than 1 month	Unexplained persistent diarrhoea (14 days or more)
Unexplained persistent fever (intermittent or constant for longer than 1 month)	Unexplained persistent fever (above 37.5°C, intermittent or constant, for longer than one 1 month)
Persistent oral candidiasis	Persistent oral candidiasis (after first 6 weeks of life)
Oral hairy leukoplakia	Oral hairy leukoplakia
Pulmonary tuberculosis	Lymph node tuberculosis
Severe bacterial infections (such as pneumonia, empyema, pyomyositis, bone or joint infection, meningitis, bacteraemia)	Pulmonary tuberculosis
Acute necrotizing ulcerative stomatitis, gingivitis or periodontitis	Severe recurrent bacterial pneumonia
Unexplained anaemia (<8 g/dl), neutropaenia (<0.5 x 10 ⁹ /l) and/or chronic thrombocytopaenia (<50 x 10 ⁹ /l)	Acute necrotizing ulcerative gingivitis or periodontitis
	Unexplained anaemia (<8 g/dl), neutropaenia (<0.5 x 10 ⁹ /l) or chronic thrombocytopaenia (<50 x 10 ⁹ /l)
Adults and adolescents*	Children
Clinical stage 3	
	Symptomatic lymphoid interstitial pneumonitis
	Chronic HIV-associated lung disease, including bronchiectasis
Clinical stage 4^c	
HIV wasting syndrome	Unexplained severe wasting, stunting or severe malnutrition ^d not responding to standard therapy
<i>Pneumocystis (jirovecii)</i> pneumonia	<i>Pneumocystis (jirovecii)</i> pneumonia
Recurrent severe bacterial pneumonia	Recurrent severe bacterial infections (such as empyema, pyomyositis, bone or joint infection, meningitis, but excluding pneumonia)
Chronic herpes simplex infection (orolabial, genital or anorectal of more than 1 month's duration or visceral at any site)	Chronic herpes simplex infection (orolabial or cutaneous of more than 1 month's duration or visceral at any site)
Oesophageal candidiasis (or candidiasis of trachea, bronchi or lungs)	Oesophageal candidiasis (or candidiasis of trachea, bronchi or lungs)
Extrapulmonary tuberculosis	Extrapulmonary tuberculosis
Kaposi sarcoma	Kaposi sarcoma
Cytomegalovirus infection (retinitis or infection of other organs)	Cytomegalovirus infection (retinitis or infection of other organs with onset at age more than 1 month)
Central nervous system toxoplasmosis	Central nervous system toxoplasmosis (after the neonatal period)
HIV encephalopathy	HIV encephalopathy
Extrapulmonary cryptococcosis, including meningitis	Extrapulmonary cryptococcosis, including meningitis
Disseminated nontuberculous mycobacterial infection	Disseminated nontuberculous mycobacterial infection
Progressive multifocal leukoencephalopathy	Progressive multifocal leukoencephalopathy
Chronic cryptosporidiosis	Chronic cryptosporidiosis (with diarrhoea)
Chronic isosporiasis	Chronic isosporiasis
Disseminated mycosis (extrapulmonary histoplasmosis, coccidioidomycosis)	Disseminated endemic mycosis (extrapulmonary histoplasmosis, coccidioidomycosis, penicilliosis)
Lymphoma (cerebral or B-cell non-Hodgkin)	Lymphoma (cerebral or B-cell non-Hodgkin)
Symptomatic HIV-associated nephropathy or cardiomyopathy	HIV-associated nephropathy or cardiomyopathy
Recurrent septicaemia (including nontyphoidal <i>Salmonella</i>)	
Invasive cervical carcinoma	
Atypical disseminated leishmaniasis	

* In the development of this table, adolescents were defined as 15 years or older. For those aged less than 15 years, the clinical staging for children should be used.

^b For children younger than 5 years, moderate malnutrition is defined as weight-for-height <-2 z-score or mid-upper arm circumference <15 mm to <125 mm.

^c Some additional specific conditions can be included in regional classifications, such as penicilliosis in Asia, HIV-associated rectovaginal fistula in southern Africa and reactivation of trypanosomiasis in Latin America.

^d For children younger than 5 years of age, severe wasting is defined as weight-for-height <-3 z-score; stunting is defined as length-for-age/height-for-age <-2 z-score; and severe acute malnutrition is defined as either weight for height <-3 z-score or mid-upper arm circumference <115 mm or the presence of oedema.

Classificação Imunológica do HIV (CD4) - WHO 2007-1-1

Valor de CD4 relacionado à idade				
Imunodeficiência associada ao HIV	< 11 meses (% CD4)	12-35 meses (% CD4)	36- 59 meses (% CD4)	> 5anos (absoluto ou % CD4)
Nenhuma ou não significante	> 35	> 30	> 25	> 500
Leve	30- 35	25-30	20-25	350-500
Avançado	25-29	20-24	15-19	200-349
Grave	< 25	< 20	< 15	< 200 ou < 15%

Adapted from WHO case definitions of HIV for surveillance and revised staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children. Geneva, World Health Organization, 2007 < www.who.int/hiv/pub/guidelines/HIVstaging150307.pdf>.

Anexo G – STANFORD HIV Drug Resistance Database, 2015

Major HIV-1 Drug Resistance Mutations

Updated March 9, 2015

Updated summary from the HIV Drug Resistance Database. This document can be downloaded from the <http://hivdb.stanford.edu> home page. Detailed and referenced versions of each drug class summary can be found at <http://hivdb.stanford.edu/pages/drugSummaries.html>

Major Nucleoside RT Inhibitor (NRTI)-Resistance Mutations													
	Non-TAMs					TAMs						MDR	
	184	65	70	74	115	41	67	70	210	215	219	69	151
Cons	M	K	K	L	Y	M	D	K	L	T	K	T	Q
3TC	<u>VI</u>	R	E									Ins	M
FTC	<u>VI</u>	R	E									Ins	M
ABC	VI	<u>R</u>	E	<u>VI</u>	<u>E</u>	L			W	YF		<u>Ins</u>	<u>M</u>
TDF	***	<u>R</u>	E		F	L			W	YF		<u>Ins</u>	M
ZDV	***	***	*	*		L	N	R	W	<u>YE</u>	QE	<u>Ins</u>	<u>M</u>

Bold/underline: High-level reduced susceptibility or virological response. Bold: reduced susceptibility or virological response. Plain text: reduced susceptibility in combination with other NRTI-resistance mutations. Asterisk: increased susceptibility. **Additional NRTIs:** Stavudine (d4T) and didanosine (ddI) are no longer recommended. **TAMs:** Thymidine analog mutations. Selected by AZT and d4T and facilitate primer unblocking. Non-TAMs prevent NRTI incorporation. **MDR:** Multidrug resistance mutations. T69 insertions occur with TAMs. Q151M occurs with non-TAMs and accessory mutations A62V, V75I, F77L, and F116Y. **M184VI:** Although they cause high-level *in vitro* resistance to 3TC/FTC, they are not contraindications to 3TC/FTC because they increase TDF and AZT susceptibility and decrease viral replication fitness. **Additional mutations:** K65N is similar but weaker than K65R. K70GQ is similar to K70E. T69D and V75MT reduce susceptibility to d4T and ddI. T215SCDEIV (T215 revertants) evolve from T215YF in the absence of NRTIs. E40F, E44DA, D67GE, V118I, and K219NR are accessory TAMs. T69 deletions occur in combination with K65R and/or Q151M. With K65R (but not Q151M) they increase AZT susceptibility. **References:** <http://hivdb.stanford.edu/DR/NRTIResiNote.html>.

Major Non-Nucleoside RT Inhibitor (NNRTI)-Resistance Mutations											
	100	101	103	106	138	179	181	188	190	227	230
Cons	L	K	K	V	E	V	Y	Y	G	F	M
NVP	<u>I</u>	<u>PEH</u>	<u>NS</u>	<u>AM</u>		DEF	<u>CIV</u>	<u>LCH</u>	<u>ASEQ</u>	LC	<u>L</u>
EFV	<u>I</u>	<u>PEH</u>	<u>NS</u>	<u>AM</u>		DEF	C	<u>LCH</u>	<u>ASEQ</u>	LC	<u>L</u>
ETR	<u>I</u>	<u>PEH</u>					<u>CIV</u>		EQ	C	L
RPV	<u>I</u>	<u>PEH</u>			<u>KAGQ</u>	DEF	<u>CIV</u>	<u>L</u>	<u>EQ</u>	<u>C</u>	<u>L</u>

Bold/underline: High-level reduced susceptibility or virological response. Bold: reduced susceptibility or virological response. Plain text: reduced susceptibility in combination with other NNRTI-resistance mutations. Asterisk: increased susceptibility. **Abbreviations:** nevirapine (NVP), efavirenz (EFV), etravirine (ETR), rilpivirine (RPV). **Synergistic combinations:** V179D+K103R reduce NVP and EFV susceptibility >10-fold. Y181C+V179F cause high-level ETR and RPV resistance. **ETR genotypic susceptibility score (GSS):** Y181IV (3.0); L100I, K101P, Y181C, M230L (2.5); V90I, E138A, V179F, G190S (1.5); A98G, K101EH, V106I, V179DT, G190A (1.0); <2.5 susceptible; 2.5 to 3.0 intermediate; >3.0 high-level. V90I, A98G, V106I, E138A, V179DT, G190A/S have little effect on ETR susceptibility unless they occur with a bolded mutations. **Additional accessory mutations:** V90I (ETR), A98G (NVP, EFV, ETR, RPV), V108I, V179T (ETR), V179L (RPV), P225H (EFV), K238T (NVP, EFV), L318F (NVP). **References:** <http://hivdb.stanford.edu/DR/NNRTIResiNote.html>.

Major Protease Inhibitor (PI) Resistance Mutations												
	24	32	46	47	48	50	54	76	82	84	88	90
Cons	L	V	M	I	G	I	I	L	V	I	N	L
ATV/r		I	IL	V	VM	<u>L</u>	VTAM		ATSF	<u>V</u>	<u>S</u>	M
DRV/r		I		VA		V	LM	V	F	V		
LPV/r	I	I	IL	VA	VM	V	VTALM	V	ATSF	V		M

Bold/underline: High-level reduced susceptibility or virological response. Bold: reduced susceptibility or virological response. Plain text: reduced susceptibility in combination with other PI-resistance mutations. **Abbreviations:** atazanavir (ATV), darunavir (DRV), lopinavir (LPV). Administered with ritonavir for pharmacokinetic boosting (/r). **Additional PIs:** Fosamprenavir (FPV), indinavir (IDV), saquinavir (SQV), and tipranavir (TPV) are rarely used. Nelfinavir (NFV) is no longer recommended. FPV/r and IDV/r are never more active than DRV/r and rarely if ever more active than LPV/r vs resistant viruses. TPV/r is occasionally useful for salvage therapy as it can be active vs LPV/r and DRV/r-resistant viruses with mutations that increase TPV susceptibility. Expert consultation +/- phenotypic testing should be obtained prior to using FPV, FPV/r, IDV/r, SQV/r, and TPV/r. **Additional mutations:** D30N and N88D are major NFV-resistance mutations. L10F, V11I, K20TV, L23I, K43T, F53L, Q58E, A71IL, G73STCA, T74P, N83D, and L89V are common nonpolymorphic accessory mutations. L10RY, V11L, L24F, M46V, G48ASTLQ, F53Y, I54S, V82CM, I84AC, N88TG are rare nonpolymorphic variants. **Hypersusceptibility:** I50L (each PI except ATV); L10F, L24I, I50V, I54L (TPV); L76V (ATV, SQV, TPV); I47A (SQV); N88S (FPV). **References:** <http://hivdb.stanford.edu/DR/PIResiNote.html>.

Major Integrase Inhibitor (INI)-Resistance Mutations								
	66	92	138	140	143	147	148	155
Cons	T	E	E	G	Y	S	Q	N
RAL	A	Q	KA	SAC	<u>CRH</u>		<u>HRK</u>	<u>H</u>
EVG	<u>IAK</u>	<u>Q</u>	KA	SAC		<u>G</u>	<u>HRK</u>	<u>H</u>
DTG		Q	KA	SAC			HRK	

Bold/underline: High-level reduced susceptibility or virological response. Bold: reduced susceptibility or virological response. Plain text: reduced susceptibility in combination with other INI-resistance mutations. Asterisk: increased susceptibility. **Abbreviations:** raltegravir (RAL), elvitegravir (EVG), dolutegravir (DTG). **Additional mutations:** H51Y, L74M, T97A, S153YF, G163RK, S230R, and R263K are relatively nonpolymorphic INI-selected accessory resistance mutations. E92GV, E138T, Y143KSGA, Q148N, and N155ST are unusual variants at the positions listed above. P145S and Q146P are rare EVG-resistance mutations. G118R and F121Y are rare nonpolymorphic INI-resistance mutations. **References:** <http://hivdb.stanford.edu/DR/INIResiNote.html>.

HIV-1 RT and Protease Mutations for Drug-Resistance Surveillance*									
NRTIs			NNRTIs			PIs			
M41	L	Q151	M	L100	I	L23	I	G73	S,T,C,A
K65	R	M184	V,I	K101	E,P	L24	I	L76	V
D67	N,G,E	L210	W	K103	N,S	D30	N	V82	A,T,S,F,L,C,M
T69	D,Ins	T215	Y,F,S,C,D,E,I,V	V106	A,M	V32	I	N83	D
K70	R,E	K219	Q,E,N,R	V179	F	M46	I,L	I84	V,A,C
L74	V,I			Y181	C,I,V	I47	V,A	I85	V
V75	M,T,A,S			Y188	L,C,H	G48	V,M	N88	D,S
F77	L			G190	A,S,E	I50	V,L	L90	M
Y115	F			P225	H	F53	F,Y		
F116	Y			M230	L	I54	V,L,M,T,A,S		

*Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, et al. Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update, PLoS One 2009;4:e4724. Criteria for mutations on this list: (i) Cause/contribute to resistance. (ii) Nonpolymorphic ($\leq 0.5\%$ in ARV-naive persons) in 8 most common group M subtypes. <http://hivdb.stanford.edu/cgi-bin/MutPrevBySubtypeRx.cgi>.

**ANEXO H - Algoritmo Rede Nacional de Genotipagem -RENAGENO 2012
(versão 12)**

1. ABC

Rule 1 - Result **R**:

Have at least 1 [69ins,151M/L,67del]

Rule 2 - Result **R**:

(Have at least 1 [184V/I]) And

(Have at least 1 [65R, 74V/I,115F])

Rule 3 - Result **R**:

(Have at least 1 [184V/I] and

(Have at least 3 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W, 215Y/F, 219Q/E/N/R]

Rule 4 - Result **I**:

Have at least 1 [65R, 74V/I, 115F]

Rule 5 - Result **I**:

Have at least 4 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W, 215Y/F, 219Q/E/N/R]

Rule 6 - Result **I**:

Have at least 1 [184V/I]

2. AZT

Rule 1 - Result **R**:

Have at least 1 [69ins,151M/L,67del]

Rule 2 - Result **R**:

Have at least 3 [40F, 41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V,219Q/E/N/R]

Rule 3 - Result **I**:

Have at least 2 [40F,41L,67N/E/G,70R/G/N,210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V, 219Q/E/N/R]

Rule 4 - Result **I**:

Have at least 1 [40F,70R/G/N,210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V, 219Q/E/N/R]

3. ddI

Rule 1 - Result **R**:

Have at least 1 [69ins,151M/L,67del]

Rule 2 - Result **R**:

Have at least 1 [65R, 69D/N, 74V/I]

Rule 3 - Result **R**:

(Have at least 5 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W, 215Y/F, 219E/Q/N/R]) And Have at least 1 [184V/I]

Rule 4 - Result I:

Have at least 1 [75T,184V/I, 70E]

Rule 5 - Result I:

Have at least 3 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F, 219Q/E/N/R]

4. 3TC

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [69ins,151M/L, 67del]

Rule 2 - Result R:

Have at least 1 [184V/I]

Rule 3 - Result I:

Have at least 1 and at most 1 [65R/N] Or Have at least 2 and at most 2 [44A/D,118I]

Rule 4 - Result I:

Have at least 3 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W, 215Y/F, 219E/Q/N/R]

5. TDF

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [65R,69ins,151M/L,67del,70E]

Rule 2 - Result R:

(Have at least 3 [41L, 67N, 70R/G/N, 210W, 215Y/F, 219E/Q/N/R]) And (Have at least 1 [41L,210W])

6. AZT+3TC

Rule 1 - Result N:

Not have at least 1 [184V/I]

Rule 2 - Result R:

(Have at least 1 [184V/I]) And

(Have at least 4 [40F, 41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V,219Q/E/N/R])

Rule 3 - Result I:

(Have at least 1 [184V/I]) And

(Have at least 3 [40F, 41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V,219Q/E/N/R])

Rule 4 - Result R:

(Have at least 1 [184V/I]) And

(Have at least 1 [69ins, 67del,151M/L])

7. TDF+3TC

Rule 1 - Result N:

Not have at least 1 [184V/I]

Rule 2 - Result I:

(Have at least 3 [41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q]) And (Have at least 1 [41L, 210W]) And

Have at least 1 [184V/I]

Rule 3 - Result I:

Have at least 1 [151M/L] And

Have at least 1 [65R/N] And

Have at least 1 [184V/I]

Rule 4 - Result R:

(Have at least 1 [67del , 69ins]) And

(Have at least 1 [184V/I])

8. d4T

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [69ins,151M/L,67del,75M/S/A/T]

Rule 2 - Result R:

Have at least 3 [41L, 67N/E/G, 69D/G, 70R/G/N, 210W, 215Y/F,219Q/E/N/R]

Rule 3 - Result I:

Have at least 1 [65R/N]

Rule 4 - Result I:

Have at least 2 and at most 2 [41L, 67N/E/G, 69D/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F, 219E/Q/N/R]

9. EFV

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [100I, 101E/P/Q, 103N/A/S/T/Q/H, 106A/M, 181C/I/V,188C/H/L, 190A/S/E/Q/C/T/V, 225H, 230L]

10. NVP

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [98G, 100I, 101E/P/Q, 103N/A/S/T/Q/H, 106A/M, 108I, 179D/E/F, 181C/I/V, 188C/H/L, 190A/S/E/Q/C/T/V, 227L/C, 230L]

11. ETV

Rule 1 - Result R:

Have at least 2 [181I/V/C, 100I,101P,230L]

Rule 2 - Result R:

Have at least 1 [181I/V/C,100I, 101P,230L] And

Have at least 1 [90I,98G,101E/H,106I,138A/G/K/Q,179F/T/D,190A/S]

Rule 3 - Result R:

Have at least 3 [90I,98G,101E/H,106I,138A/G/K/Q,179F/T/D,190A/S]

Rule 4 - Result I:

Have at least 2 [90I,98G,101E/H,106I,138A/G/K/Q,179F/T/D,190A/S]

Rule 5 - Result I:

Have at least 1 [181I/V/C, 100I,101P,230L]

12. LPV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 8 [10F/I/R/V, 16A/E, 20M/R/T/I, 24I/V, 32I, 33F,34Q, 36I/V, 43T, 46I/L, 47A/V, 48V/M, 50V, 53L,54A/M/L/S/T/V,55E/R, 58E,63P, 71I/L/T/V, 73S/P/T/C/A,74S, 76V, 82A/F/I/S/T/M/L/C, 84V/A/C,89I/M/V, 90M, 91S]

Rule 2 - Result I:

Have at least 6 and at most 7 [10F/I/R/V, 16A/E, 20M/R/T/I, 24I/V, 32I, 33F,34Q, 36I/V, 43T, 46I/L, 47A/V, 48V/M, 50V, 53L,54A/M/L/S/T/V,55E/R, 58E,63P, 71I/L/T/V, 73S/P/T/C/A,74S, 76V, 82A/F/I/S/T/M/L/C, 84V/A/C,89I/M/V, 90M, 91S]

Rule 3 - Result I:

Have at least 4 and at most 5 [10F/I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 46I/L, 47A,50V, 53L,54M/L/T/V,63P, 71I/L/T/V, 76V,82A/F/S/T, 84V, 90M]

Rule 4 - Result R:

Have at least 6 [10F/I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 46I/L, 47A,50V, 53L,54M/L/T/V,63P, 71I/L/T/V, 76V,82A/F/S/T, 84V, 90M]

13. ATV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [50L]

Rule 2 - Result R:

Have at least 8 [10I/V/F/R, 16E, 20R/M/T/I, 24I, 32I, 33F/I/V, 36I/L/V,45R, 46I/L/V, 48M/V, 53L, 54L/M/V,60E,63P, 71V/T/I,73C/S/T/A,82A/F/I/S/T/M/L/C, 84A/C/V,85V, 88D/T/S, 89M/V/Q/T, 90M]

Rule 3 - Result I:

Have at least 6 and at most 7 [10I/V/F/R, 16E, 20R/M/T/I, 24I, 32I, 33F/I/V, 36I/L/V,45R, 46I/L/V, 48M/V, 53L, 54L/M/V,60E,63P, 71V/T/I,73C/S/T/A,82A/F/I/S/T/M/L/C, 84A/C/V,85V, 88D/T/S, 89M/V/Q/T, 90M]

Rule 4 - Result R:

Have at least 3 [10F/I/V,16E,33F/I/V,46I/L,60E,84V,85V,90M]

14. FPV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 8

[10F/I/V/R,11I,20M/R/T/I,24I,32I,33F,35D,41K,43R,46I/L,47V,48M,50V,54L/V/M/A/T/S,58E,62V, 63P, 71V/T,73S/T/C/A,76V,82A/F/I/T/S/M/C,84V/A/C,85V,89V/T,90M,93L]

Rule 2 - Result I:

Have at least 6 and at most 7

[10F/I/V/R,11I,20M/R/T/I,24I,32I,33F,35D,41K,43R,46I/L,47V,48M,50V,54L/V/M/A/T/S,58E,62V, 63P, 71V/T,73S/T/C/A,76V,82A/F/I/T/S/M/C,84V/A/C,85V,89V/T,90M,93L]

15. DRV/R**Rule 1 - Result R:**

Have at least 8 [10F,11L/I,15V, 32I, 33F,35G, 41I/T,46I/L, 47A/V, 48/M, 50V, 54L/M/V/A, 70E, 73S/T/A/C, 74P,76V, 82A/I/T/F/L/M,84V,85V, 89V]

Rule 2 - Result R:

Have at least 5 [11I, 32I, 33F, 47F/V, 50V, 54L/M, 73S, 74P, 76V, 82T, 84V, 89V]

Rule 3 - Result I:

Have at least 6 and at most 7 [10F,11L/I,15V, 32I, 33F,35G, 41I/T,46I/L, 47A/V, 48/M, 50V, 54L/M/V/A, 70E, 73S/T/A/C, 74P,76V, 82A/I/T/F/L/M,84V,85V, 89V]

Rule 4 - Result I:

Have at least 3 and at most 4 [11I, 32I, 33F, 47F/V, 50V, 54L/M, 73S, 74P, 76V, 82T, 84V, 89V]

16. TPV/R**Rule 1 - Result R:**

Have at least 8 [10V/F/I, 13V, 20M/R/V,24M, 32I, 33F, 35G, 36I/L/V, 37D, 43T, 45I, 46I/L, 47A/V, 48V, 54A/M/V/S/T, 58E, 69I/K/N/Q/R/Y,71V, 73C/S/T/A,74P, 77I, 82AL/T, 83D, 84A/V/C, 89V/I/M/R/T]

Rule 2 - Result I:

Have at least 6 and at most 7 [10V/F/I, 13V, 20M/R/V,24M, 32I, 33F, 35G, 36I/L/V, 37D, 43T, 45I, 46I/L, 47A/V, 48V, 54A/M/V/S/T, 58E, 69I/K/N/Q/R/Y,71V, 73C/S/T/A,74P, 77I, 82AL/T, 83D, 84A/V/C, 89V/I/M/R/T]

17. SQV/R**Rule 1 - Result R:**

Have at least 5 [10F/I/R/V, 20M/R/T/I, 24I,36V/L, 46I/L, 48V,53L,54L/T/V/M, 58E, 62V, 71V/T/I,73S/T/C/A, 74A, 82A/F/T/I/S, 84V/A/C, 88D/S, 90M]

Rule 2 - Result I:

Have at least 4 and at most 4 [10F/I/R/V, 20M/R/T/I, 24I,36V/L, 46I/L, 48V,53L, 54L/T/V/M,58E, 62V, 71V/T/I, 73S/T/C/A, 74A,82A/F/T/I/S, 84V/A/C ,88D/S,90M]

18. IDV/R**Rule 1 - Result R:**

Have at least 5 [10F/I/R/V, 20M/R/T/I, 24I, 32I ,36L/V, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 58E, 71/T/V/I, 73A/S/T/C, 76V, 77I,82A/F/I/S/T, 84V/A/C, 88S/D, 90M, 93L]

Rule 2 - Result I:

Have at least 4 and at most 4 [10F/I/R/V, 20M/R/T/I, 24I, 32I ,36L/V, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 58E, 71/T/V/I, 73A/S/T/C, 76V, 77I,82A/F/I/S/T, 84V/A/C, 88S/D, 90M, 93L]

REGRAS INTERPRETAÇÃO - RENAGENO

- As mutações 41L, 210W e 215Y caracterizam a via mutacional TAM 1, conferindo níveis mais elevados de resistência cruzada a toda classe de ITRN.
- As mutações 67N, 70R, 215F e 219Q/E caracterizam a via mutacional TAM 2 e em geral conferem níveis mais baixos de resistência na classe, especialmente em relação ao tenofovir (TDF).
- A presença de pelo menos três TAM, incluindo a 41L e/ou 210W compromete a sensibilidade de toda classe independentemente da via mutacional. Na presença da mutação 184V pode ocorrer reversão parcial da resistência ao TDF e a zidovudina (AZT).
- A mutação 184V determina resistência a lamivudina (3TC). Além disso, hipersensibiliza e reverte parcialmente a resistência ao AZT e ao TDF, exceto quando for estabelecida pela presença da mutação 69ins. Estudos clínicos demonstram que a atividade da didanosina (ddI) e do abacavir (ABC) mantém-se clinicamente relevante na ausência de outras mutações de resistência a estes antirretrovirais.
- A presença da mutação 65R determina resistência ao TDF e ao ddI, compromete a atividade do d4T e reverte a resistência associada às TAM, favorecendo a atividade do AZT.
- A mutação 184V quando associada a 65R confere resistência ao ABC, porém reverte a resistência ao TDF.
- A mutação 74V confere resistência ao ddI e associada à M184V confere resistência também ao ABC
- A mutação 69D estabelece resistência ao ddI.
- A mutação 75M/S/A/T estabelece resistência ao d4T e ddI.

MULTIRRESISTÊNCIA AOS ITRN

- A inserção no códon 69 (69ins), a deleção 67 (del67) e o complexo 151M, conferem resistência extensa a toda classe de ITRN. No caso do complexo 151M, a mutação 184V reverte parcialmente a resistência ao TDF: a resistência plena (R) torna-se intermediária (I).

ITRNN

- Falha virológica prévia a ITRNN pressupõe resistência a efavirenz e nevirapina, independentemente da presença de mutações.
- A presença de uma única mutação de resistência selecionada pelos ITRNN de 1ª geração (efavirenz e nevirapina) confere resistência completa a estes antirretrovirais

- A existência de mutações de resistência aos ITRNN de 1ª geração pressupõe não utilizá-los mais.
- A presença da mutação 103N não interfere na sensibilidade à etravirina.
- A presença isolada das mutações 181C/I/V, 101P e 100I reduzem a sensibilidade à etravirina
- A presença isolada das mutações 181C/I/V, 101P e 100I reduzem a sensibilidade à etravirina

INIBIDORES DA PROTEASE (IP)

As mutações aos IP são definidas como principais e acessórias. Via de regra, as principais são as mutações mais precocemente selecionadas e que têm maior repercussão na resistência a esta classe. As acessórias aparecem mais tardiamente e têm menor repercussão na resistência.

- As seguintes mutações são consideradas principais na protease: 30N, 32I, 33F, 46I/L, 47V, 48V, 50L/I/V, 54L/M, 58E, 74P, 76V, 82A/T/F/S, 84V, 88S, 90M.
- Na ausência de mutações principais, pode ser indicado qualquer inibidor da protease potencializado com ritonavir (IP/r) sem necessidade de indicar uma classe ainda não utilizada.
- De forma geral, a presença de qualquer mutação principal tem algum impacto na atividade de toda a classe.
- A resistência completa aos IP/r depende do acúmulo das mutações na protease. O número necessário para caracterização da resistência é variável de acordo com cada medicamento.
- A presença de mutações principais, mesmo quando não determinam resistência genotípica, pode aumentar o risco de falha virológica caso o esquema de resgate não inclua outros antirretrovirais plenamente ativos
- Mesmo havendo resistência completa a toda classe, deve ser utilizado um IP/r no esquema de resgate, além de duas outras drogas plenamente ativas (S).

Apêndice B - Classes de drogas antirretrovirais em crianças e adolescentes.

Nome da droga	Formulação	Dose oral, por idade e peso corpóreo (PC) Cálculo da superfície corpórea SC = [peso (kg) x 4] +7/peso(kg) + 90]
1. Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa (ITRNs)		
Zidovudina (ZDV, AZT, azidotimidina) [Retrovir]	Cápsulas de 100 mg Comprimidos 300mg Solução oral 10 mg/mL	•0-4 semanas: 4 mg/kg/dose 12h(IG>35sem) •2mg/kg/dose 12h(IG>30 e <35sem)1º14dias/ 3mg/kg/dose 12h(2 a 6 sem) •2mg/kg/dose 12h(IG<30sem) 1º4sem de vida •>4 semanas: 12mg/kg/dose 12/12h ou 180 a 240 mg/m²/dose12/12h •4 kg a < 9 kg: 12mg/kg/dose 12/12h •9 kg a < 30kg: 9mg/kg/dose 12/12h •> 30kg : 300mg 12/12h
Didanosina (ddl, dideoxinosina) [Videx]	Pó para suspensão oral 10 mg/ml; 4g/400mL refrigerar 2 a 8 °C após reconstituição. Po seco diluir em 200ml de água + 200ml de antiácido Videx EC: cápsulas de 250, 400 mg (125mg, 200mg)**	•2 semanas a <3 meses: 50 mg/m²/dose12/12h •3 meses a 8 meses: 100 mg/m²/dose 12/12h •> 8 meses : 120 mg/m²/dose 12/12h. (faixa 90- 150mg/m²/dose 12/12h) max.: 200mg/m²/dose 12/12h •≥ 3 anos a 21 anos: 240mg/m²/dose/dia • ≥6 anos, 25kg <60 Kg: comprimidos, 250mg, dose única diária, formulação ddI-EC •≥13 anos, ≥60 Kg: comprimidos, 400 mg, dose única diária, formulação ddI-EC
Estavudina (d4T)* [Zeritavir] * retirada do Brasil 2013	Cápsulas de 30mg Pó para suspensão oral 1mg/mL	•Neonato (≤13 dias): 0,5mg/kg/dose 12/12h. •Criança (<30kg): 1mg/kg/dose 12/12h.
Lamivudina (3TC) [Epivir]	Comprimidos de 150 mg Solução oral 10 mg/mL	•Neonato(< 30 dias): 2 mg/kg/ dose 12/12h •Crianças > 4 semanas: 4 mg/Kg/ dose12/12h (dose max. 150mg 12/12h •≥12 anos: 150 mg 12/12h ou 300 mg/ dose única diária
Abacavir (ABC)[Ziagenavir]	Comprimidos de 300 mg Solução oral 20 mg/mL	•≥3 meses: 8mg/kg /dose 12/12h (dose máx. 300mg/dose 12/12 h). - Pacientes estáveis (CV indetectável e CD4 estável p/6m):16mg/kg 1 vez ao dia (dose máx. 600mg 1 vez/dia) •≥12 anos (> 25kg): 300mg 12/12h. Pacientes estáveis: 600mg 1 vez/dia.
Dose fixa comprimidos NRTIs NRTI + NNRTI	•ZDV/3TC (300/150) [Biovir] •TDF/3TC(300/300) •TDF/3TC/EFV(300/300/600)	•≥13 anos: 1 comprimido 12/12h •≥13 anos: 1 comprimido 1x noite
Inibidor nucleotídeo de transcriptase reversa (ITRNt)		

Tenofovir (TDF- Tenofovir Disoproxil Fumarate) [Viread] TAF** (Tenofovir Alafenamide) >12a	.Comprimidos de 300 mg 150mg**,200mg**,250mg** Pó oral** Pó oral deve ser medida apenas com a colher de dosagem fornecida: 1 colher rasa = 1 g de pó = 40 mg TDF.	•Dose pediátrica (2 a 12 anos): 8mg/kg/dose, 1 vez ao dia. •Adolescentes a partir de 12 anos e peso ≥ 35 kg: 300mg dose única diária •>18 anos: 300mg dose única diária
--	---	--

2. Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa (ITRNN)

Nevirapina (NVP) [Viramune] FDA:não aprovada para neonato	Comprimidos de 200 mg 100mg**400mg** Soluçã oral 10mg/mL	• Neonato:IG>37sem< 30dias: 6mg/kg/dose • Neonato:IG34-37sem:4mg/kg/dose 2x • Criança (>30 dias a 8 anos): 200mg/m2 dose única diária por 14 dias e, a seguir, 200mg/m2 12/12 h (dose máx. 200mg 12/12h). • ≥ 8 anos: 120 a 150mg/m2 12/12 h (dose máx. 200mg 12/12h). • Adolescente: 200mg dose única diária por 14 dias e, a seguir, 200mg 12/12h na ausência de exantema ou alteração da função hepática.
Rilpivirine** (RPV) Endurant	Comprimido 25mg	Não aprovada para menores de 12 anos
Etravirina (ETR) [Intelence]	Tablete 25mg** 100 mg 200 mg*	Dose pediátrica (6 a 18 anos, com pelo menos 16kg): • 16kg a <20kg: 100 mg 12/12h, • 20 kg a <25kg: 125mg 12/12h, • 25kg a <30kg: 150mg 12/12h, • ≥ 30kg: 200mg 12/12h
Efavirenz (EFV) [Sustiva]	Cápsulas de 200 mg 50mg** Comprimidos de 600 mg Solução oral 300mg/ml	Crianças > 3 anos e > 10kg: 1 vez ao dia •10kg a <15kg: 200mg, •15kg a <20kg: 250mg •20kg a <25kg: 300mg •25 a <32,5kg: 350mg, •32,5 a <40kg: 400mg, •≥ 40kg: 600mg, dose única diária.

3. Inibidores da Protease (IPs)

Atazanavir (ATV) [Reyataz]	Cápsulas 150mg** 200mg e 300mg Sachê em pó: 50mg** Ritonavir solução oral 80mg/ml	Dose pediátrica >3m e >5Kg 1xdia •5kg a 15kg: ATV 200mg pó + RTV 80mg •15 a <25kg: ATV250mg pó + RTV 80mg Cápsula não recomendada <15kg •15 a <20kg: ATV 150mg + RTV 100mg, •20 a <40kg: ATV 200mg + RTV 100mg, •≥ 40 kg: ATV 300mg + RTV 100mg.
--------------------------------------	---	--

Darunavir (DRV) [Prezista]	Comprimidos 75mg**, 150mg, 300mg, 400mg, ** 600 mg, 800mg** Solução oral** 100mg/ml	• Crianças a partir de 3a e < 12a, peso ≥ 10 Kg • Abaixo de 6 anos (ainda sem registro no Brasil): • 10 a <11kg: 200mg + RTV 0,4mL 12/12h, • 11 a <12kg: 220mg + RTV 0,4mL 12/12h, • 12 a <13kg: 240mg + RTV 0,5mL 12/12h, • 13 a <14kg: 260mg + RTV 0,5mL 12/12h, • 14 a <15kg: 280mg + RTV 0,6mL 12/12h • 15 a <30kg: 375mg + RTV 0,6ml 12/12h • 30 a <40kg: 450mg + RTV 100mg 12/12h • ≥ 40kg: 600mg + RTV 100mg 12/12h.
Ritonavir (RTV) [Norvir]	Comprimido 100 mg Solução oral: 80mg/ml: manter entre 20°C e 25°C	Criança, adolescentes e adultos: para uso em associação com outros IP. Não utilizar como IP único. A dose varia de acordo com o IP associado. Associado ao TPV: a dose de RTV: 6 mg/kg/dose
Nelfinavir* (NFV) [Viracept]	Comprimidos 250 mg, 625 mg	Não usar crianças < 2 anos • 2 a 13 anos : 45-55 mg/kg 2x dia • Adolescentes e adultos 1250 mg 2x dia
Indinavir* (IDV) [Crixivan]	Comprimidos 100 mg, 200 mg e 400 mg	Não aprovado para criança - estudo 234 a 500 mg/m² SC Adultos e adolescentes: 800/ 100 ou 200 mg ritonavir 2x dia
Fosamprenavir (FPV) [Telzir]	Comprimido 700mg Suspensão oral 50mg/mL	Criança (a partir 6m) -Brasil a partir de 2a: • <11kg: FPV 45mg/kg /dose+ RTV 7 mg/kg/dose 12/12h; • 11kg a <15kg: FPV 30mg/kg/dose + RTV 3 mg/kg 12/12h • 15kg a <20kg: FPV 23mg/kg/dose + RTV 3 mg/kg 12/12h • ≥ 20kg: 18mg/kg/dose (dose máx. 700mg) + RTV 3mg/kg (dose máx. 100mg) 12/12h.
Lopinavir/r (LPV/r) [Kaletra]	Comprimidos 200/50mg 100/25mg – baby dose - (LPV/RTV) Solução oral 80/20mg (LPV/RTV)	• Neonato/lactente (≥ 14 dias e <12 meses): 300mg/75mg/m² 12/12h. • Criança (≥ 1 ano): 300mg/75mg/m² 12/12h ou 16mg/4mg LPV/RTV/kg/2xdia - Opção de prescrição da apresentação baby dose (100mg/25mg): • >15- 20kg: 2 comp. de manhã e 2 à noite; • >20- 25kg: 3 comp. de manhã e 2 à noite; • >25 – 30kg: 3 comp. de manhã e 3 à noite; >30 - 35kg: 4 comp. de manhã e 3 à noite; • >35- 45kg: 4 comp. 2x dia Doses para uso concomitante com NVP, EFV, FPV ou nelfinavir: crianças de 12 meses a 18 anos: 300mg/75mg/m² 12/12h. Adultos: 500mg/125mg 12/12h. Neste caso, não usar posologia 1 vez ao dia. • ≥ 18 anos: 800 mg/200 RTV 1x dia ou 400/100 mg 2x dia
Saquinavir (SQV) [Invirase]	Cápsula 200mg Comprimido 500 mg	Criança: sem dados suficientes. • ≥ 2 anos: 50 mg/kg/SQV e /3mg/kg RTV 2x dia • ≥ 16 anos: 1.000mg + RTV 100mg 12/12h
Tipranavir (TPV) [Aptivus]	Cápsula gelatinosa mole 250mg Solução oral 100mg/mL.	• Crianças (2-18 anos): 14mg/kg TPV + 6mg/kg RTV (ou 375mg/m² TPV + 150mg/m² RTV) 12/12h (não excedendo a concentração indicada para adultos = 500mg TPV + 200mg RTV 12/12h).
4. Inibidores de Entrada		

Inibidor da fusão Enfuvirtida (T20) [Fuzeon]	Frasco-ampola liofilizado 108mg/1,1mL (90mg/ mL): após reconstituída, utilizar até 24h após preparação	•Criança (6-16 anos): 2mg/kg (dose máx. 90mg) 12/12h via subcutânea (SC). •>16 anos: 90mg 12/12h, via SC.												
Inibidor de CCR5 Maraviroque*** (MVC) [Selzentry]	Comprimido de 150mg. *** teste tropismo: R5	Aprovado pelo FDA em crianças >2 anos (11/2016) . Adultos - Depende do ARV associado: <table><tr><td><u>Antirretroviral associado</u></td><td><u>Dose do MVC</u></td></tr><tr><td>IP (exceto TPV/r):</td><td>150mg 12/12h</td></tr><tr><td>TPV/r</td><td>300mg 12/12h</td></tr><tr><td>NVP, TDF, AZT/3TC, s/IP</td><td>300mg 12/12h</td></tr><tr><td>EFV e ETR, sem IP</td><td>600mg 12/12h</td></tr><tr><td>DRV/r + ETR e EFV + IP/r</td><td>150mg 12/12h</td></tr></table>	<u>Antirretroviral associado</u>	<u>Dose do MVC</u>	IP (exceto TPV/r):	150mg 12/12h	TPV/r	300mg 12/12h	NVP, TDF, AZT/3TC, s/IP	300mg 12/12h	EFV e ETR, sem IP	600mg 12/12h	DRV/r + ETR e EFV + IP/r	150mg 12/12h
<u>Antirretroviral associado</u>	<u>Dose do MVC</u>													
IP (exceto TPV/r):	150mg 12/12h													
TPV/r	300mg 12/12h													
NVP, TDF, AZT/3TC, s/IP	300mg 12/12h													
EFV e ETR, sem IP	600mg 12/12h													
DRV/r + ETR e EFV + IP/r	150mg 12/12h													

5. Inibidores de Integrase (INI)		
Raltegravir (RAL) [Isentress]	Comprimido 400mg Comprimido mastigável 100mg e 25mg* Suspensão oral* 100mg/5ml(não disponível no Brasil)	Dose pediátrica (2 a <12 anos): •11 a <14kg: 75mg de 12/12h; •14 a <20kg: 100mg de 12/12h; •20 a <28kg: 150mg de 12/12h, •28 a <40kg: 200mg de 12/12h, •≥40kg: 300mg de 12/12h. •≥12 anos: 400mg 12/12h. ≥ 4 semanas****e peso ≥ 3kg e < 20kg ~ 6 mg/kg/ dose 2x dia •3 to <4 : 1 mL (20 mg) 2x dia •4 to <6: 1,5mL(30mg) 2x dia •6 to <8: 2 mL (40 mg) 2x dia •8 to <11: 3 mL (60 mg) 2x dia •11 to <14: 4 mL (80 mg) 2x dia •14 to <20: 5 mL (100 mg) 2x dia **** uso em circunstâncias especiais
Elvitegravir** (EVG) [Vitekta]	Comprimido 85mg**e 150mg**	• Não usar crianças < 35kg • Adolescente e adultos > 35kg: GENVOYA (EVG150 + cobicistat 150 + FTC200 + TAF10) - 1 x dia • Adolescente SMR 4 ou 5: STRIBILD (EVG150 + COBI150 + FTC200 + TDF300) - 1 x dia
Dolutegravir (DTG) [Tivicay]	Comprimido 50mg	Não aprovada para < 12 anos • ≥ 12 anos e ≥ 40kg: 50mg 1 x dia • Se co-administrado com EFV, FFV/r, TPV/r ou rifampicina , DLG deve ser dado 50mg 2x dia Dose de adultos: • TARV naive ou INSTI naive : 50mg 1x dia • naive ou experimentado de INSTI quando co-administrado com indutor CYP3A, EFV, FFV/r, TPV/r ou rifampicina , DLG deve ser dado 50mg 2x dia • Experimentado de INSTI com resistência ou suspeita de resistência de INSTI:50mg 2x dia
Cobicistat** (COBI)	Comprimido 150 mg	COBI: é um indutor farmacológico= "boosting" ou reforço de IP Não aprovado < 18 anos.