

2 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas observou-se no mundo a feminização da AIDS e a proporção de mulheres infectadas representa quase a metade dos 34 milhões de pessoas infectadas. Neste contexto, apesar do tratamento antirretroviral profilático para gestantes e, como nem sempre este é realizado, houve um aumento na transmissão pré-natal e conseqüentemente a necessidade do tratamento na população pediátrica. Após trinta anos dos primeiros casos relatados de AIDS nestes pacientes, já encontramos crianças e adolescentes vivendo com o HIV/AIDS desde o seu nascimento, com toda a complexidade da doença inclusive a dependência de antirretrovirais por períodos prolongados. De acordo com o relatório mundial da UNAIDS, divulgado em 2013, o número estimado de crianças abaixo de 15 anos infectadas pelo HIV chegou a 2,7 milhões. Embora a maioria dessas crianças esteja vivendo na África Subsaariana, segundo dados do Ministério da Saúde, o Brasil se destaca com 34 mil casos notificados de AIDS em menores de 18 anos de idade, entre os anos de 1980 e junho de 2013.

A necessidade de reduzir a morbimortalidade e aumentar significativamente a qualidade de vida da população pediátrica impulsionaram incessantes pesquisas sobre o comportamento da doença nesta faixa etária e a introdução de novos e mais potentes medicamentos antirretrovirais. A terapia antirretroviral altamente ativa (*highly active antiretroviral therapy*, *HAART* em inglês), uma combinação de pelo menos três drogas antirretrovirais, compreende um arsenal terapêutico de cinco classes de medicamentos utilizados para suprimir a replicação do vírus, afetando o ciclo replicativo em diversas fases.

Entretanto, a adesão à terapia pode ser limitada, em razão da dependência de um cuidador para administrar os medicamentos, dos inúmeros efeitos colaterais, estigma da doença, formulações disponíveis e uso diário e contínuo da medicação. A baixa potência dos esquemas anteriores, interações medicamentosas e variações na absorção dos antirretrovirais somados à adesão insuficiente resultam em uma multiplicação viral ativa durante o uso do tratamento.

Com isso, o surgimento de cepas virais resistentes, o aparecimento das mutações de resistência e conseqüente falha terapêutica impossibilitam a supressão viral completa e o sucesso no tratamento. A grande diversidade genética do HIV também representa um evento desafiador, pois contribui na formação de diferentes subtipos e recombinantes, o que possibilita sua disseminação e resistência aos antirretrovirais.

Diante disso, o teste de genotipagem assume papel essencial na manutenção da terapia antirretroviral. Tem como finalidade a identificação de mutações de resistência por meio de alterações genéticas ocorridas no genoma viral capaz de bloquear ou diminuir a eficácia dos medicamentos, direcionar as melhores estratégias terapêuticas de resgate e possibilitar o monitoramento da variabilidade genética do HIV-1. Em 2001, o Programa Nacional de DST/HIV/AIDS, do Ministério da Saúde, implantou uma rede nacional de laboratórios aptos a executar o exame de genotipagem (RENAGENO), disponibilizados gratuitamente na rede pública de saúde.

Apesar dos avanços conquistados ao longo dos últimos anos no tratamento da população pediátrica, ainda são limitadas as informações sobre a resposta terapêutica em crianças e adolescentes infectados com HIV-1, principalmente no nordeste do Brasil.

O presente estudo justifica-se pela necessidade de avaliar o perfil genotípico e mutacional em crianças e adolescentes na cidade de Salvador/Bahia, e entender a sua relação com a resposta à terapia. Além disso, ressaltar a importância da adesão regular e do exame de genotipagem na orientação de um esquema antirretroviral adequado também fazem parte do nosso estudo.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta terapêutica aos antirretrovirais, a partir da análise dos testes de genotipagem e do desfecho virológico em crianças e adolescentes infectados com HIV-1, em Salvador/Ba.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a frequência de mutações de resistência aos antirretrovirais;
- Avaliar a resposta terapêutica de acordo com uso prévio ou não dos ARVs;
- Avaliar a resposta terapêutica após a troca de esquema guiado pela genotipagem;
- Associar a presença de mutações genotípicas aos subtipos do HIV-1;
- Associar a resposta terapêutica aos subtipos do HIV-1.

4 ARTIGOS

4.1 ARTIGO DE REVISÃO LITERATURA

TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES INFECTADOS PELO HIV-1

EPIDEMIOLOGIA HIV/AIDS

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), descrita como uma doença caracterizada por sinais e sintomas resultantes do comprometimento do sistema imune é consequência da infecção causada pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). O primeiro alerta para a doença foi relatado em 1981, nos Estados Unidos e, em 1983, o HIV foi identificado como o agente etiológico da AIDS¹⁻².

A epidemia da infecção pelo vírus representa fenômeno global e dinâmico, cuja forma de ocorrência nas diferentes regiões do mundo depende, entre outras causas, do comportamento individual e coletivo dos indivíduos³. De acordo com o relatório mundial da UNAIDS, divulgado em 2013, o número estimado de pessoas infectadas pelo HIV chegou a 35,3 milhões, dentre elas, cerca de 2,7 milhões correspondem à crianças abaixo de 15 anos de idade⁴.

No Brasil, foram notificados cerca de 686 mil casos acumulados de AIDS entre os anos de 1980 e junho de 2013. Com registro de ocorrência de casos em todo o território nacional, a distribuição da AIDS, no entanto, não se apresenta homogênea quanto às regiões de residência, sexo, idade, grau de escolaridade nem no que se refere às categorias de transmissão. Observa-se maior concentração de casos nas regiões Sudeste (55,2%) e Sul (20,0%), seguido das regiões Nordeste, centro-oeste e norte, com taxas de 13,9%, 5,8% e 5,1% respectivamente⁵.

Dentre os casos de AIDS notificados no Brasil, 34 mil (4,9%) correspondem a crianças e adolescentes menores de 18 anos, sendo aproximadamente 14 mil (42,2%) menores de 5 anos, 4 mil (12,7%) com faixa etária entre 5 e 9 anos e 15 mil (45,1%) jovens de 10 a 18 anos. Na última década, observa-se uma queda de 35,8% na detecção de casos de AIDS em menores de cinco anos, embora, dentre as regiões brasileiras, Sudeste, Centro-Oeste e Sul apresentem diminuição (respectivamente, de cerca de 55,2%, 51,2% e 41,4%), e Norte e

Nordeste apresentem aumento (respectivamente, de cerca de 41,9% e 3,7%) nessa taxa. Considerando as principais categorias de exposição em menores de 13 anos, destacam-se a transmissão vertical (92,6%) e a via sexual - subcategoria heterossexual (4,7%). Na faixa etária de 13 ou mais, destacam-se as vias de transmissão sexual e os usuários de drogas injetáveis (UDI)⁵.

CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E ORGANIZAÇÃO GENÔMICA DO HIV-1

O HIV-1 é um vírus de RNA envelopado do gênero *Lentivirinae*, da família *Retroviridae*. A principal característica dos membros desta família é a complexidade de sua organização genética contida em duas cópias idênticas de fita simples de RNA⁶.

A partícula viral infectante do HIV, vírion (Figura 1) apresenta formato esférico, com diâmetro de 100 nm. Sua estrutura externa consiste em um envelope lipoprotéico, derivado da célula do hospedeiro, e internamente a este envoltório está um capsídeo (núcleo) em formato icosaédrico, contendo duas cópias idênticas de RNA, que constituem seu genoma e enzimas virais associadas - protease, transcriptase reversa e integrase⁷⁻⁸.

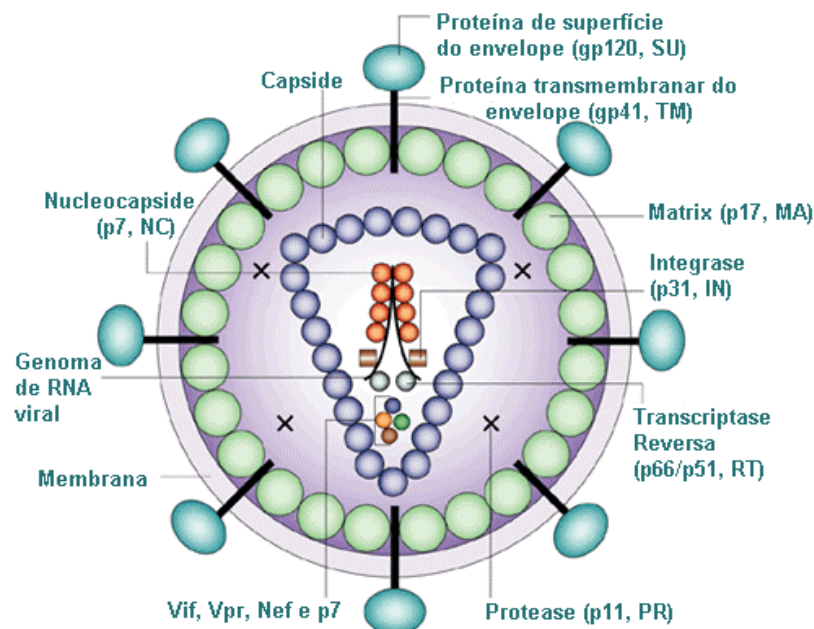


Figura 1: Estrutura do vírus HIV-1.

Fonte: Robinson, 2002.

O genoma do HIV possui aproximadamente 9.800 nucleotídeos (9,8kb), constituído de três genes estruturais envolvidos na replicação viral (*gag*, *pol* e *env*) e genes regulatórios e acessórios (*vif*, *vpr*, *vpu*, *tat*, *rev* e *nef*), que têm suas seqüências intercaladas aos genes

principais (Figura 2) e estão envolvidos nas funções celulares e com o controle da replicação deste vírus^{7,9}. Todos esses genes são delimitados nas terminações 3' e 5' pelas longas sequências repetidas (LTRs – *Long Terminal Repeats*), as quais desempenham importante função de integração entre o genoma viral e o DNA celular, durante o ciclo replicativo do vírus⁶.

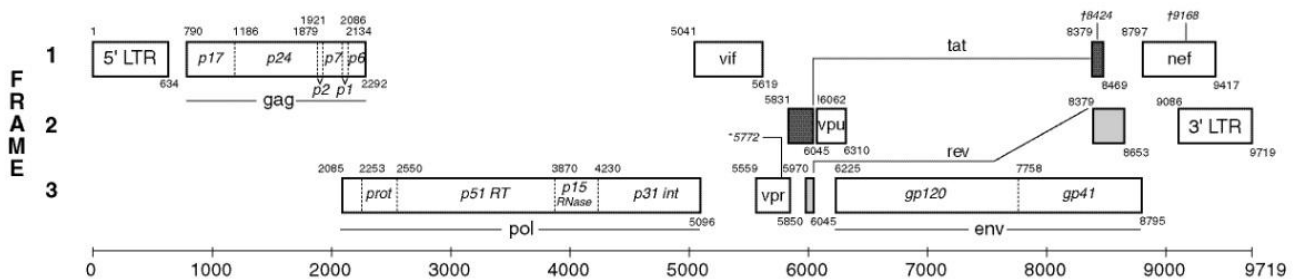


Figura 2: Genoma do HIV-1. Cepa padrão HXB2.

Fonte: Los Alamos, 2013.

O gene *gag* codifica as proteínas estruturais do capsídeo produzindo a *p55* que ao ser clivada, origina outras quatro proteínas, a *p17* (matriz), *p24* (capsídeo), *p9* e *p6* (associadas ao nucleocapsídeo). O gene *pol* codifica as enzimas necessárias à replicação viral, nomeadamente a transcriptase reversa, a protease e a integrase. A transcriptase reversa (*p66/p51* – TR) possui atividade de síntese do DNA a partir do RNA viral, sendo uma DNA Polimerase RNA-dependente. A integrase (*p31* – IN) integra o DNA proviral, ou seja, insere o genoma viral no DNA celular. E a protease (*p11* – PR) atua especificamente na clivagem dos polipeptídeos precursores das proteínas funcionalmente ativas, dos genes *gag* e *pol* do HIV-1. A terceira região genômica, *env*, codifica a porção mais externa da partícula viral, a glicoproteína *gp160*, que posteriormente é processada na *gp120*, de superfície e na *gp41*, transmembrana. A *gp120* é formada por cinco regiões variáveis (V1-V5) intercaladas por cinco regiões conservadas (C1-C5). Ambas são alvos para anticorpos neutralizadores, que impedem a penetração e replicação do vírus nas células, prevenindo muitas vezes, a ligação à proteína CD4⁺^{8,10-13}.

Os genes regulatórios e acessórios codificam as proteínas *tat* e *rev*, relacionadas com a regulação da expressão gênica na transcrição dos genes virais; *nef*, que atua na inibição da expressão das moléculas de CD4⁺ e do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) nas células hospedeiras aumentando a liberação de partículas virais; *vif* aumenta a

infeciosidade viral e a transmissão célula-célula; *vpu* promove a liberação das partículas virais e o *vpr*, auxilia no aumento da replicação viral^{10, 14-16}.

CICLO REPLICATIVO

Na replicação viral, os linfócitos T auxiliares e células do sistema imune, que possuem a molécula $CD4^+$ como marcadora de superfície são os principais alvos celulares para infecção do HIV in vivo⁹⁻¹⁰. A entrada do vírus na célula hospedeira tem início através da ligação da proteína de superfície *gp120* e o receptor celular CD4, além de interações adicionais com os receptores de quimiocinas, também conhecidos como correceptores (CCR5 e CXCR4)¹³.

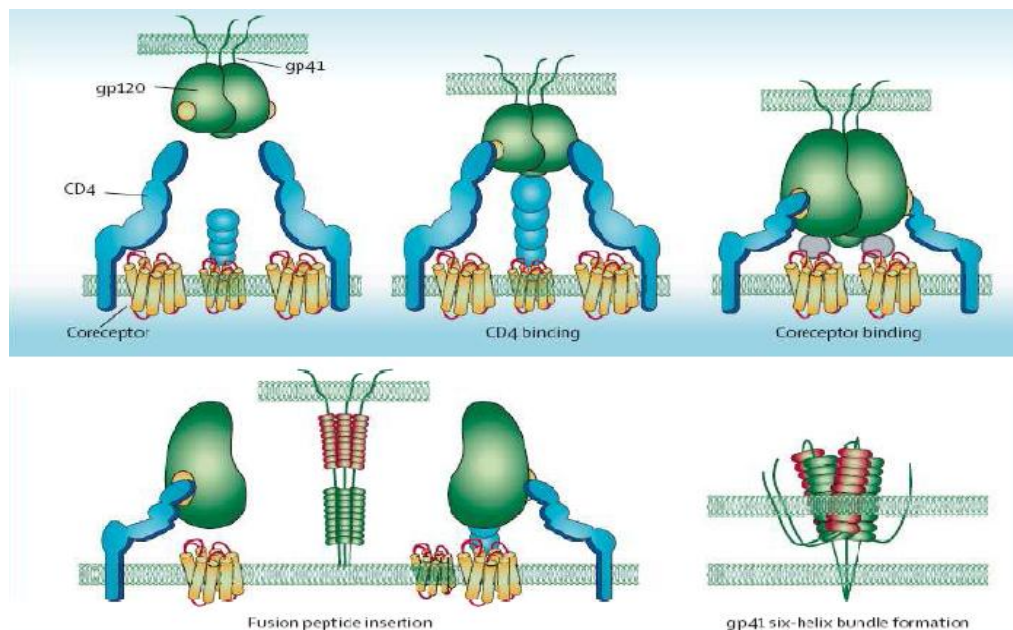


Figura 3: Mecanismo de mudança conformacional da *gp120* e *gp41*

Fonte: Dimmock e Primrose, 1994

A interação da *gp120* com $CD4^+$ induz uma mudança conformacional (Figura 3) e exposição de outros sítios da *gp120* para tornar possível uma interação eficiente da alça V3 desta glicoproteína com o respectivo correceptor. A ligação do correceptor induz uma mudança conformacional na subunidade *gp41*, que resulta na fusão vírus-célula (Figura 4), permitindo a entrada do capsídeo na célula hospedeira e liberação das proteínas do core e as duas cadeias de RNA no citoplasma^{10,15}. Após a liberação do genoma viral, a enzima TR transcreve uma molécula de DNA de fita simples, a partir de uma molécula molde de RNA viral, onde a própria TR, que também possui a ação de ribonuclease (RNase H), degrada a fita

considerado o mais agressivo e apresenta distribuição mundial, enquanto o HIV-2 concentra-se no continente Africano, com um pequeno número de casos na Europa e nos Estados Unidos¹⁷⁻¹⁸.

Evidências indicam que a transmissão do HIV-1 para o homem se deu a partir do Vírus da Imunodeficiência Símia (SIV) de chimpanzés. De acordo com as relações filogenéticas três grupos distintos foram classificados: M, N e O¹⁹⁻²⁰. O grupo M (“major” - principal) é o mais prevalente, composto por 9 subtipos: A-D, F-H, J e K e as recombinações entre estes subtipos geram numerosas formas recombinantes únicas (URFs) e mais de 50 formas recombinantes circulantes (CRFs)²¹⁻²². Além disso, dentro de um subtipo, é possível identificar variantes, denominadas subsubtipos. Este é o caso dos subtipos A e F, cujos subsubtipos são classificados em A1, A2, F1 e F2²³. O grupo O (“outlier” - atípico) e o grupo N (“new” – não-M/não-O) foram descritos circulando no oeste africano²⁴⁻²⁵. Em 2009, na França, uma nova cepa viral foi identificada relacionada com o SIV de gorilas, em uma mulher de origem africana, sendo denominado grupo P²⁶.

Um panorama global da distribuição dos subtipos do HIV-1 é mostrado na figura 5. Estudos de epidemiologia molecular mostram que, as formas genéticas mais prevalentes do HIV-1 são os subtipos A, B e C^{21,27}.

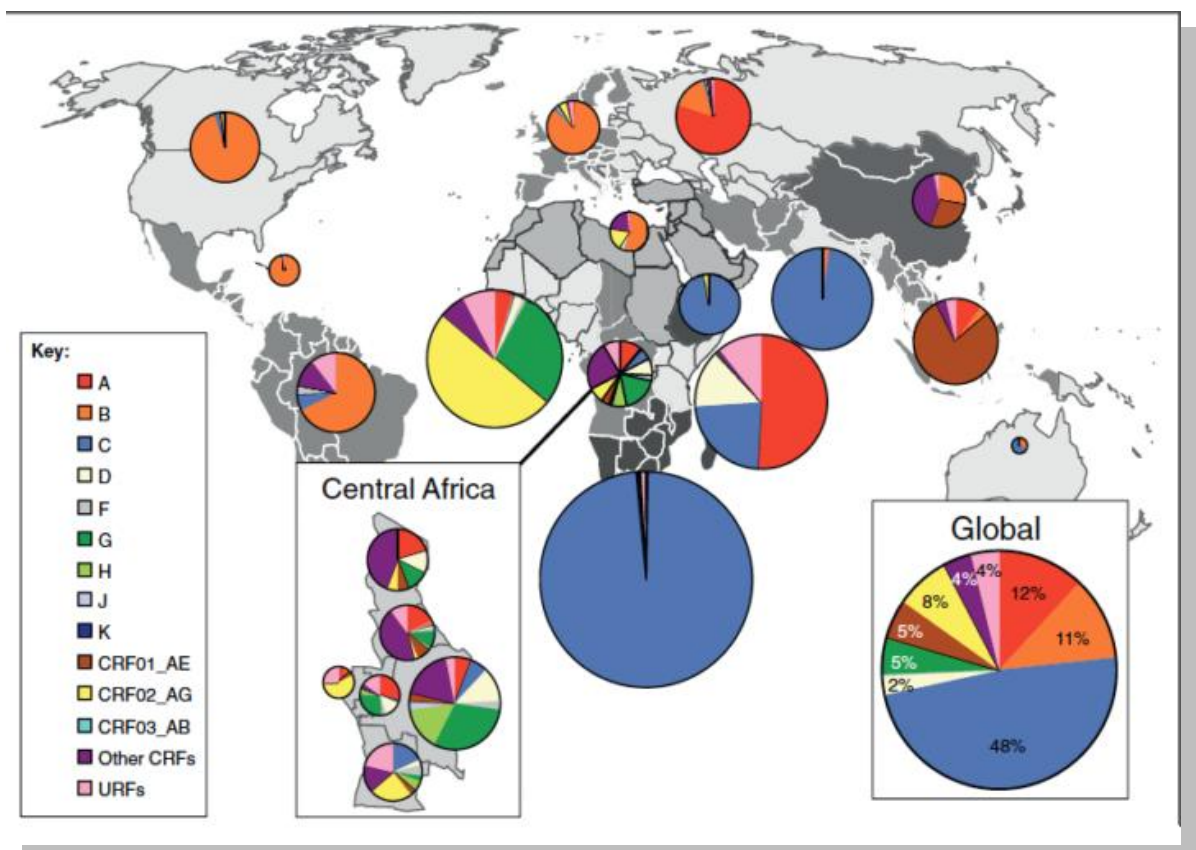


Figura 5: Distribuição mundial dos subtipos e CRFs do HIV-1
Fonte: Hemelaar et al, 2011

O subtipo C predomina em cerca de 50% de todas as infecções globais, com destaque para África do Sul e Índia. O subtipo B é o principal grupo encontrado na Europa ocidental e central, nas Américas, Austrália e também é comum em vários países do sudeste da Ásia, norte da África e Oriente Médio. A relevância das CRFs no mundo é cada vez mais reconhecida, representando cerca de 18% das infecções, com destaque para o CRF01_AE (Sudeste da Ásia) e CRF02_AG (África ocidental)²¹.

Diversos estudos sobre a diversidade genética do HIV-1 no Brasil mostram a prevalência do subtipo B, e a presença dos subtipos F, C, D e A, e dos recombinantes B/F e B/C. Nas regiões Norte, Nordeste, Centro-oeste e Sudeste predomina o subtipo B, seguido do subtipo F²⁸⁻³¹, enquanto que, na região Sul, estudos mostram a prevalência do subtipo C³²⁻³³. Formas recombinantes circulantes estão sendo descritas circulando nas diferentes regiões do país (CRF02_AG, CRF28_BF, CRF29_BF, CRF31_BC, CRF39_BF, CRF40_BF e CRF46_BF)³⁴⁻³⁵.

Estudos sobre a diversidade genética do HIV-1, conduzidos em crianças soropositivas, oriundas da Bahia, Rio de Janeiro e São Paulo, comprovaram a predominância do subtipo B e F, seguido por formas recombinantes, B/F e B/C³⁶⁻³⁸. Os mecanismos que contribuem para esta diversidade genética estão relacionados à recombinação de cepas circulantes e o alto índice replicativo do vírus³⁹, somado aos erros inatos da transcriptase reversa⁴⁰. Estudos evidenciam diferenças na prevalência de mutações de resistência de acordo com os subtipos B e não-B^{29,31,41}, entretanto, os efeitos destas diferenças com a eficácia da terapia antirretroviral ainda é pouco evidente.

TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

O objetivo da terapia antirretroviral (TARV) é proporcionar a supressão máxima e prolongada da replicação do HIV, reduzindo o risco de resistência e preservando o sistema imunológico do indivíduo⁴².

Em 1987 surgiu a primeira droga antirretroviral para o tratamento da AIDS, o zidovudina (AZT), demonstrando grande eficácia na redução da multiplicação do vírus. Após a introdução do AZT foram gradualmente incorporados outros fármacos atuando sobre a transcrição reversa viral (inibidores da transcriptase reversa viral, análogos de nucleosídeos – ITRNs – e não análogos de nucleosídeos – ITRNNs), que primeiro em monoterapia e mais tarde em combinações duplas foram utilizados como estratégias terapêuticas ao longo da

década seguinte, proporcionando melhor recuperação imune, controle da replicação do HIV-1, maior qualidade de vida e maior sobrevida⁴³⁻⁴⁶.

Entretanto, somente a partir de 1996, com a inclusão de uma nova classe de medicamentos (inibidores da protease - IPs) foi possível suprimir de forma eficaz e duradoura a replicação do HIV. A utilização combinada de três antirretrovirais no tratamento da AIDS foi denominada HAART⁴⁷⁻⁴⁸.

A distribuição universal de medicamentos permitiu uma melhor qualidade de vida aos portadores de HIV/ AIDS. O Brasil destaca-se no cenário mundial, como o primeiro país do terceiro mundo a adotar tal medida. Desde 1996, ano da publicação da Lei 9.313, o Ministério da Saúde vem garantindo o acesso gratuito ao tratamento antirretroviral a todos os soropositivos, que tenham indicação de recebê-lo, conforme as recomendações terapêuticas vigentes no Brasil^{46,49}.

O arsenal terapêutico utilizado para suprimir a replicação do HIV tem diferentes alvos moleculares, sendo capazes de afetar o ciclo viral em diversas fases^{13,50}. Estão disponíveis em cinco classes de drogas antirretrovirais: duas classes de inibidores da transcriptase reversa, inibidores da protease, inibidores da integrase e inibidores de entrada.

Os inibidores da transcriptase reversa bloqueiam a ação da enzima transcriptase reversa (TR) impedindo a transcrição do RNA viral em DNA⁵⁰. São classificadas em ITRNs e ITRNNs. As drogas antirretrovirais que representam os ITRNs são abacavir (ABC), didanosina (ddI), lamivudina (3TC), estavudina (d4T), tenofovir (TDF), entricitabina (FTC) e zidovudina (AZT). Fazem parte da classe de drogas dos ITRNNs, o efavirenz (EFZ), nevirapina (NVP) e etravirina (ETV), sendo ideal a utilização destes fármacos associados com ITRNs e inibidores de protease⁵¹⁻⁵².

Os IPs impedem o processamento das proteínas estruturais e funcionais do vírus, realizado pela PR. A inativação da PR demonstra a incapacidade de replicação das partículas virais, produzindo apenas vírions não infectivos^{6,51}. As drogas que compõem os IPs são: atazanavir (ATV), darunavir (DRV), fosamprenavir (FPV), indinavir (IDV), lopinavir (LPV), nelfinavir (NFV), saquinavir (SQV), ritonavir (RTV) e tipranavir (TPV)⁴⁶.

Assim como a TR e a PR, a IN é uma enzima com papel-chave no ciclo de replicação viral⁵³. Os inibidores de integrase impedem a integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira. Os fármacos dessa classe são o raltegravir, elvitegravir e o dolutegravir. No Brasil, apenas o raltegravir (RAL) está disponível para uso clínico, sendo recomendado com outros fármacos no tratamento de indivíduos soropositivos que já foram submetidos a tratamento e que tenham evidência de resistência a múltiplos ARVs⁵⁴⁻⁵⁵.

Com o surgimento de vírus resistentes, os inibidores de fusão são considerados uma nova estratégia na replicação do vírus HIV, impedindo a fusão do vírus com a célula hospedeira, onde deposita a sua informação genética⁵⁶. O enfuvirtida (T-20) foi o primeiro fármaco desenvolvido capaz de inibir as interações com a gp41. O maraviroc bloqueia a interação da gp 120 e se destaca como primeira droga com especificidade para receptor de quimiocina CCR5^{52,57-58}.

TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

Em dezembro de 1982, o Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC) descreveu os primeiros casos de suspeita de AIDS na população pediátrica⁵⁹⁻⁶⁰. Neste período, pouco se conhecia sobre a gênese da doença e verificou-se altas taxas de transmissão vertical do vírus em crianças nascidas de parto normal e que receberam aleitamento materno^{59,61-62}. Com a introdução do AZT, o estudo PACTG 076 (*Pediatric AIDS Clinical Trial Group 076*) demonstrou que o uso da monoterapia em três momentos – na gravidez, nos períodos pré e intraparto e para o recém-nascido por seis semanas – reduziu em até 67% o risco de transmissão perinatal do vírus⁶³.

Como o objetivo de informar os avanços mais importantes para o tratamento e acompanhamento das crianças infectadas e expostas ao HIV, o Programa Nacional de DST e AIDS passou a publicar, a partir de 1994, o Guia de Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV em crianças⁴². Com a introdução da HAART em 1997, o primeiro estudo avaliando a eficácia da terapia combinada (2 ITRN + 1 IP) na população pediátrica demonstrou que a reconstituição da imunidade requer a supressão total da replicação viral, e esse resultado foi compatível com os estudos realizados em adultos. Entretanto, a reconstituição imune ocorre mais rapidamente nas crianças, visto que apresentam um aumento de aproximadamente dez vezes na contagem de células CD4, quando comparado aos adultos⁶⁴.

Nos últimos dez anos, pesquisas comprovaram a eficácia da introdução cada vez mais precoce da terapia antirretroviral, principalmente em crianças, visando a redução significativa na progressão da doença e o prolongamento da qualidade de vida desses pacientes⁶⁵⁻⁶⁶. De acordo com o Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para crianças e adolescentes (2014), sugere-se iniciar o tratamento em todos os menores de 12 meses, independente de sintomatologia clínica, classificação imunológica ou carga viral⁶⁷. Essa recomendação justifica-se pela evidência da eficácia do tratamento precoce⁶⁸⁻⁷⁰, visto que, a progressão da doença é maior em crianças, e parâmetros laboratoriais (carga viral e contagem de células

CD4) são pouco sensíveis para predizer o desenvolvimento da AIDS em menores de 12 meses^{42, 64, 71}.

Em maiores de 12 meses de idade, recomenda-se o tratamento com base na classificação do CDC, composta de uma categoria clínica e uma imunológica (Anexo A e B) para definir o melhor momento de iniciar a TARV. A tabela 1 apresenta os parâmetros clínicos, imunológicos e virológicos para início da terapia antirretroviral em crianças, por faixa etária⁶⁷.

No tratamento de adolescentes, a prescrição de antirretrovirais deve ser baseada no estadiamento da puberdade de Tanner (ver Anexo C) e não na idade cronológica, como nas crianças.

Tabela 1. Parâmetros clínicos, imunológicos e virológicos para início da terapia antirretroviral em crianças, por faixa etária.

| IDADE | CRITÉRIOS |
|-------------------|--|
| < 12 meses | Independente de manifestações clínicas, contagem de células CD4 e carga viral. |
| ≥ 12 e < 48 meses | Critérios clínicos: categoria CDC B* ou C Critérios laboratoriais: - CD4: <25% - Carga viral: ≥ 100.000 cópias/ml |
| ≥ 5 anos | Critérios clínicos: categoria CDC B* ou C Critérios laboratoriais: - CD4: < 500 céls/mm ³ - Carga viral: ≥ 100.000 cópias/ml |

*Exceto episódio único de anemia bacteriana.

Fonte: Ministério da Saúde, 2014.

O adolescente nas fases iniciais da puberdade (Tanner I e II) deve ser tratado segundo as recomendações pediátricas, enquanto aquele em fase adiantada de maturação sexual (Tanner V) deve seguir as recomendações estabelecidas para adultos. Nas fases intermediárias (Tanner III e IV), o tratamento deve ser individualizado a critério médico⁶⁷.

A utilização da terapia antirretroviral combinada com três drogas reduziu substancialmente a morbidade e a mortalidade de crianças e adolescentes infectados pelo HIV. Os objetivos do tratamento antirretroviral em crianças são: (I) reduzir a morbimortalidade e melhorar a qualidade de vida; (II) assegurar crescimento e desenvolvimento adequados; (III) preservar, melhorar ou reconstituir o funcionamento do sistema imunológico, reduzindo a ocorrência de infecções oportunistas; (IV) proporcionar supressão máxima e prolongada da replicação do HIV, reduzindo o risco de resistência aos antirretrovirais, aliada à menor toxicidade^{42, 67}.

Estudo nacional realizado em crianças, comparando os períodos pré e pós – HAART avaliou a incidência de AIDS e as taxas de mortalidade nesta população. Os resultados demonstraram uma redução na incidência dos casos da doença na fase pós-HAART e uma diminuição significativa das taxas de mortalidade no mesmo período^{5,72}.

Entretanto, os desafios da terapia antirretroviral em crianças e adolescentes não são simples. A dependência de um cuidador para administrar um regime antirretroviral complexo, o acesso à fármacos com formulações pediátricas disponíveis, a rigidez dos horários de administração dos medicamentos, esquemas terapêuticos complexos, efeitos colaterais e as restrições alimentares são fatores que contribuem para a descontinuidade à terapia^{70,73}. Os antirretrovirais disponíveis para população pediátrica, incluindo apresentação, conservação e efeitos adversos estão listados no anexo D.

No tratamento inicial para crianças e adolescentes infectados pelo HIV, a melhor estratégia sugerida para maximizar a supressão da replicação viral e retardar a progressão da doença é o uso da terapia combinada de três antirretrovirais de classes diferentes (tabela 2)^{42,67,74}.

Tabela 2. Esquemas antirretrovirais para tratamento inicial.

| |
|--|
| Esquema preferencial: |
| 2 ITRN (AZT + 3TC) + 1 ITRNN NVP: crianças < 3 anos EFV: crianças ≥ 3 anos |
| Esquema alternativo: |
| 2 ITRN + 1 IP/r IP preferencial: LPV/r IP alternativo: ATV/r (> 6 anos) ou FPV/r (>2 anos) |
| Uso em situações especiais: |
| AZT + 3TC + ABC como tratamento inicial na coinfeção HIV/tuberculose |

Fonte: Ministério da Saúde, 2012; Ministério da Saúde, 2014.

Ainda assim, devem ser considerados aspectos referentes à eficácia, durabilidade da supressão viral, toxicidade, capacidade de restringir esquemas subsequentes, viremia plasmática, disponibilidade e palatabilidade das formulações pediátricas, dose apropriada, critérios de peso corporal, idade, presença de coinfeções ou comorbidades como tuberculose, hepatites B ou C, doenças renais ou hepáticas crônicas, medicamentos concomitantes e a capacidade da criança/adolescente, juntamente com o cuidador, aderirem ao esquema prescrito^{42,75}. Na tabela 3 estão apresentadas as associações preferencias de ITRNs para uso combinado com ITRNNs e IPs:

Tabela 3. Associações de 2 inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos para uso combinado com ITRNN ou IP.

| Associações preferenciais | |
|-------------------------------------|---|
| Crianças e adolescentes < 40 quilos | Crianças e adolescentes > 40 quilos |
| AZT + 3TC ou ABC + 3TC | AZT + 3TC ou ABC + 3TC ou TDF + 3TC |
| Associações alternativas | |
| AZT + ABC AZT + ddl | |
| Uso em circunstâncias especiais | |
| d4T + 3TC | |

Fonte: Ministério da saúde, 2009.

As principais vantagens na utilização de ITRNN combinado com os ITRN estão relacionadas ao menor risco de dislipidemia, lipodistrofia, menor número de cápsulas a serem administradas aos pacientes e poupador de IP. Já a prescrição combinada com os IPs potencializados com ritonavir conferem maior eficácia clínica, virológica e imunológica, que implica menor risco de desenvolvimento de resistência, além de poupar o uso de ITRNN.

Vale salientar que, o tratamento inicial deve ser fundamentado no resultado do teste de genotipagem, devido à um aumento da transmissão perinatal de cepas de HIV resistentes^{42, 67}. Crianças e adolescentes sem indicação para uso da TARV devem ser submetidos à exames clínicos e laboratoriais frequentemente, com objetivo de detectar precocemente qualquer manifestação sugestiva de AIDS⁶⁷.

RESPOSTA TERAPÊUTICA AOS ANTIRRETROVIRAIS

A resposta terapêutica aos antirretrovirais deve ser monitorada desde seu início e ao longo de toda a terapia. O monitoramento visa avaliar a adesão aos esquemas, tolerabilidade das drogas, efeitos adversos, eficácia da TARV e modificações associadas à recuperação clínica, virológica e imunológica⁷⁵.

Os resultados de exames antropométricos (peso, estatura, IMC), laboratoriais (carga viral, contagem de linfócitos CD4⁺, hemograma, bioquímica, dentre outros) e o histórico clínico dos pacientes pediátricos são informações muito importantes no acompanhamento (tabela 4) e avaliação da resposta à terapia antirretroviral⁷⁴⁻⁷⁵.

Existem dois tipos de resposta à terapia antirretroviral: o sucesso ou falha terapêutica, que são determinados por fatores limitantes, dentre os quais se destacam como o principal a má adesão ao tratamento e, conseqüentemente, a indução de resistência viral^{67,74,76}. Os dois

tipos de resposta terapêutica podem ocorrer em um mesmo paciente em diferentes momentos e modificar-se em qualquer direção. O fluxograma para o monitoramento e manejo da resposta à terapia antirretroviral está demonstrado na figura 6⁶⁷.

Tabela 4. Periodicidade e intervenções sugeridas no monitoramento da efetividade (resposta terapêutica) e segurança (efeitos adversos) do uso de antirretrovirais

| Tempo de uso de terapia | Toxicidade | Adesão e Efetividade |
|-----------------------------------|---|---|
| Antes do início da terapia | História clínica, hemograma e bioquímica ¹ | História clínica, antropometria e exame físico. Avaliação psicológica e social. Carga viral e contagem de LT-CD4 ⁺ |
| 2-4 semanas | História clínica ² | Avaliação da adesão |
| 8-12 semanas | História clínica, hemograma e bioquímica | História clínica, antropometria e exame físico. Avaliação psicológica e social. Carga viral e contagem de LT-CD4 ⁺ |
| A cada 3-4 meses | História clínica, hemograma e bioquímica | Avaliação da adesão. Carga viral e contagem de LT-CD4 ⁺ |
| A cada 6-12 meses | Lipidograma completo | |

¹Bioquímica: ionograma, glicemia, testes de função hepática e renal, cálcio e fósforo. Lipase e amilase em caso de drogas em toxicidade pancreática.

²Avaliação de função hepática em crianças em uso de nevirapina: a cada 2 semanas nas primeiras 4 semanas de terapia, a seguir, mensalmente por 3 meses e, posteriormente, a cada 3-4 meses.

Fonte: Ministério da Saúde, 2014.

O sucesso terapêutico caracteriza-se pela máxima supressão viral sustentada, isto é, carga viral indetectável mantida ao longo do tempo, associada à restauração e preservação da competência imunológica e à ausência de sintomatologia relacionada à AIDS. Nos pacientes virgens de tratamento, considera-se sucesso terapêutico a indetecção de carga viral após 6 meses de tratamento. Pacientes mais jovens (lactantes) e com viremia plasmática basal elevada podem demorar mais tempo (até 12 meses) para conseguir a indetecção^{42,67}.

Considera-se falha terapêutica, uma resposta subótima ou falta de resposta sustentada à terapia antirretroviral, sob critérios virológicos, imunológicos e/ou clínicos (tabela 5). Alguns fatores estão associados com falhas na terapia antirretroviral e eles devem ser levados em consideração durante o monitoramento da resposta terapêutica. Tais fatores são: toxicidade e efeitos adversos das drogas, altos níveis de carga viral e baixa contagem de linfócitos CD4⁺, presença de comorbidades, falha na adesão e uso prévio de antirretrovirais com falha e resistência viral^{67,76}.

No manejo da falha terapêutica na população pediátrica, as opções terapêuticas para menores de 6 anos de idade são bastante limitadas, permitindo abordar a primeira falha com a troca por 2 ITRN + lopinavir/ritonavir (LPV/r) ou o tipranavir/ritonavir (TPV/r) como IP/r de resgate. Em pacientes com mais de 6 anos de idade, já existem mais opções terapêuticas em

formulações pediátricas, permitindo aplicar a estratégia de uso sequencial da TARV. A tabela 6 resume as opções atuais para a falha terapêutica, de acordo com a faixa etária.



Figura 6: Fluxograma do monitoramento e recomendações do manejo da resposta à terapia antirretroviral
Fonte: Ministério da Saúde, 2014

A solicitação do teste de genotipagem, falha virológica confirmada e resistência a pelo menos um ARV de cada uma das três classes são critérios apontados para a indicação de medicamentos de terceira linha: darunavir (DRV/r), tipranavir (TPV/r), raltegravir (RAL), e enfuvirtida (T-20). O esquema de resgate deve compreender pelo menos um ARV ativo, preferencialmente com atividade plena, no teste de genotipagem, para acompanhar o medicamento de terceira linha⁶⁷.

Tabela 5. Critérios virológicos, imunológicos e clínicos para definição de falha terapêutica.

| | |
|--------------------------|---|
| Falha virológica | <p>Resposta incompleta: (I) Diminuição $<1\log_{10}$ do número de cópias/mL de RNA do HIV após 8 a 12 semanas de tratamento antirretroviral; (II) Carga viral > 200 cópias/mL de RNA do HIV após 6 meses de tratamento.</p> <p>Rebote virológico: Episódios de cargas virais repetidamente detectadas (≥ 1.000 cópias/mL)</p> |
| Falha imunológica | <p>Resposta incompleta: (I) Não ocorre aumento $\geq 5\%$ do percentual de LT-CD4+ basal em pacientes menores de 5 anos de idade com imunossupressão grave (LT-CD4+ $< 15\%$); (II) Não ocorre um aumento de 50 células/mm³ em maiores de 5 anos com imunossupressão grave (LT-CD4+ < 200 células/mm³), após 12 meses de tratamento.</p> <p>Deterioração imunológica: (I) Queda persistente de 5% na contagem de LT-CD4+ em crianças de qualquer faixa etária; (II) Redução do número absoluto basal de LT-CD4+ em crianças maiores de 5 anos de idade.</p> |
| Falha clínica | <p>(I) Ocorrência de novas infecções oportunistas (IO); (II) Evidência clínica de progressão da doença após a instituição da TARV.</p> |

Fonte: Ministério da Saúde, 2012.

Vale salientar que, a dispensação de medicamentos de terceira linha necessita da liberação de um médico autorizador do estado ou do Ministério da Saúde, a partir de preenchimento e envio de formulário específico e de laudo de teste de genotipagem recente. O formulário de solicitação e o fluxo de autorização de antirretrovirais de uso restrito constituem os anexos E e F deste documento.

Tabela 6: Antirretroviral para troca de esquema após falha terapêutica, de acordo com a faixa etária.

| Faixa etária | ITRNN | Inibidor de protease | Inibidor de integrase | Inibidor de fusão |
|------------------|----------------------|---|-----------------------|-------------------|
| 14 dias a 2 anos | NVP | LPV/r | - | - |
| 2 a 6 anos | NVP EFV (>3 anos) | LPV/r FPV/r TPV/r | Raltegravir* | - |
| > 6 anos | NVP EFV | LPV/r FPV/r TPV/r DRV/r ATV/r | Raltegravir* | Enfuvirtida |

*quando a apresentação pediátrica estiver disponível.

Fonte: Ministério da Saúde, 2014.

RESISTÊNCIA AOS ANTIRRETROVIRAIS

A resistência aos ARVs é definida pela ocorrência de mutações no genoma viral que reduzem a sensibilidade às drogas, quando comparado ao vírus selvagem (sem mutação)^{42,77}. As principais causas da emergência de variantes virais resistentes incluem a escolha de um regime pouco potente ou a incompleta aderência ao tratamento. Outras causas estão relacionadas à pré-existência de cepas já resistentes e à transmissão destas no momento da infecção⁷⁸⁻⁸¹.

Existem dois tipos de resistência: a primária e a secundária. Define-se como resistência primária, a presença de mutações no genoma viral, que conferem resistência aos ARVs em indivíduos virgens de tratamento. A transmissão de cepas resistentes, provenientes de um indivíduo já exposto aos antirretrovirais é o mecanismo mais relevante para o aparecimento da resistência primária^{42,81}. A resistência transmitida em crianças ocorre geralmente em filhos de mulheres que receberam a TARV com supressão incompleta ou profilaxia de transmissão mãe-filho ineficiente⁸²⁻⁸³.

A resistência secundária ocorre diante da pressão seletiva exercida pelos medicamentos antirretrovirais, sendo atualmente a principal causa de falha terapêutica em crianças e adolescentes, ocorrendo principalmente em decorrência da má adesão e/ou da exposição prolongada aos ARVs⁴².

Diversos estudos analisaram a resistência primária e secundária em crianças virgens de tratamento e expostas aos antirretrovirais. Ambos os grupos apresentam resistência, entretanto a frequência e o nível de resistência às drogas foram mais evidentes no grupo de indivíduos que já tinham feito uso de antirretrovirais^{36-38,73,84-87}.

MUTAÇÕES DE RESISTÊNCIA

O HIV-1 é caracterizado por uma enorme diversidade genética, consequência de sua elevada taxa de mutação, devido à diversos fatores: ausência de mecanismos eficientes de correção dos erros da transcriptase reversa, resultando em substituições, deleções e inserções de nucleotídeos⁷⁷; alta taxa de replicação *in vivo*⁸⁸; ocorrência de recombinação e a pressão seletiva dos medicamentos antirretrovirais⁸⁹⁻⁹⁰.

Esta elevada variabilidade, dificulta a existência de uma cepa selvagem padrão para estudos de resistência aos antirretrovirais. Por isso, as mutações são definidas como diferenças em relação a uma ou várias sequências referência. A referência mais comumente

utilizada é a HXB2, com os aminoácidos mais comuns para cada posição em vírus selvagens do subtipo B (consenso do subtipo B). Devido a prevalência deste subtipo na Europa e EUA, a classificação das mutações de resistência atribuídas ao subtipo B é empregada para os demais subtipos⁹¹.

As mutações são fixadas nos genes virais e transmitidas à próxima geração, principalmente nos que codificam as enzimas necessárias à replicação viral. A presença de drogas representa uma grande pressão seletiva e qualquer mutação que possa conferir algum nível de resistência a estas drogas, proporciona uma grande vantagem ao vírus^{13,90,92}. Nesse contexto, a TARV deve ser eficiente para controlar a replicação viral e evitar a pressão seletiva responsável pelo surgimento de mutações de resistência⁸⁵.

As mutações são classificadas em primárias (*major mutations*) ou secundárias (*minor mutations*). As primárias, também chamadas de principais, são as primeiras a emergir, normalmente selecionadas durante a terapia e produzem a perda de sensibilidade ao ARV que as selecionou. Já as mutações secundárias, ou acessórias, emergem normalmente mais tarde para recuperar o “*fitness viral*” perdido pelo aparecimento da mutação principal. Essas não conferem níveis significativos de resistência às drogas quando presentes isoladamente⁹³.

Nas figuras abaixo 7, 8 e 9 estão apresentadas as mutações dos genes TR e PR nos seus respectivos códon, que conferem resistência aos antirretrovirais ITRNs, ITRNNs e IPs.

As mutações são representadas utilizando o formato letra-número-letra, sendo que as letras correspondem aos aminoácidos codificados por uma trinca de nucleotídeos (códon), e o número indica a posição ocupada pelo aminoácido no códon de resistência. Por exemplo, a mutação designada T215Y, quer dizer que o aminoácido T (treonina - Thr) do vírus selvagem, na posição 215 da TR foi substituída pelo aminoácido Y (tirosina – Tyr) na sequência analisada. A tabela completa da nomenclatura dos aminoácidos e suas siglas encontra-se no anexo G.

Algumas mutações de resistência aos medicamentos ocorrem geralmente na ausência da pressão seletiva exercida pelos antirretrovirais e são consideradas polimorfismos⁹⁵. Diversos estudos realizados no Brasil, principalmente na região sudeste, relatam a prevalência de mutações de resistência primária e secundária em crianças com falha terapêutica^{37,85-86,96-99}. Na Bahia, estudo realizado em crianças virgens de tratamento, demonstrou uma prevalência de 26,9% de mutações associadas aos ITRNs, ITRNNs e IPs. Esta alta taxa foi justificada pela ausência de profilaxia adequada durante a gestação e baixa adesão aos medicamentos³⁸. Em 2010, estudo realizado em crianças submetidas a terapia antirretroviral com supressão viral

| MUTATIONS IN THE PROTEASE GENE ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO PROTEASE INHIBITORS ^{94,97} | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---|
| Atazanavir +/- ritonavir ^a | L 10 | G 16 | K 20 | L 24 | V 32 | L 33 | E 34 | M 36 | M 46 | G 48 | I 50 | F 53 | I 54 | D 60 | I 62 | I 64 | A 71 | G 73 | V 82 | I 84 | I 85 | N 88 | L 90 | I 93 | |
| | I | E | R | I | I | I | Q | I | I | V | L | L | L | E | V | L | V | C | A | V | V | S | M | L | M |
| | F | M | | | F | | | L | | | Y | V | | | | M | I | S | T | | | | | | |
| | Y | I | | | V | | V | | | | M | | | | | V | T | T | F | | | | | | |
| | C | | | | | | | | | | T | A | | | | L | A | | I | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Darunavir/ ritonavir ^a | V 11 | | | | V 32 | L 33 | | | I 47 | I 50 | I 54 | | | | | | T 74 | L 76 | | I 84 | | | L 89 | | |
| | I | | | | I | F | | | V | V | M | L | | | | | P | V | | V | | | V | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Fosamprenavir/ ritonavir ^a | L 10 | | | | V 32 | | | M 46 | I 47 | I 50 | I 54 | | | | | | G 73 | L 76 | V 82 | I 84 | | | L 90 | | |
| | F | | | | I | | | I | V | V | L | | | | | | S | V | A | V | | | M | | |
| | I | | | | | | | L | | | V | | | | | | | | F | | | | | | |
| | R | | | | | | | | | | M | | | | | | | | S | | | | | | |
| | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | T | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Indinavir/ ritonavir ^a | L 10 | K 20 | L 24 | | V 32 | | M 36 | M 46 | | I 54 | | | | | | | A 71 | G 73 | L 76 | V 77 | V 82 | I 84 | | L 90 | |
| | I | M | I | | I | | I | I | | V | | | | | | | V | S | V | I | A | V | | M | |
| | R | R | | | | | | L | | | | | | | | | T | A | | | F | | | | |
| | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | T | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Lopinavir/ ritonavir ^a | L 10 | K 20 | L 24 | | V 32 | L 33 | | M 46 | I 47 | I 50 | F 53 | I 54 | | | | | A 71 | G 73 | L 76 | V 77 | V 82 | I 84 | | L 90 | |
| | F | M | I | | I | F | | I | V | V | L | V | | | | | P | V | S | V | A | V | | M | |
| | I | R | | | | | | L | A | | L | L | | | | | | | | | F | | | | |
| | R | | | | | | | | | | A | | | | | | | | | | T | | | | |
| | Y | | | | | | | | | | M | T | S | | | | | | | | S | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Nelfinavir ^{94,97} | L 10 | | | | D 30 | | M 36 | M 46 | | | | | | | | | A 71 | | V 77 | V 82 | I 84 | N 88 | L 90 | | |
| | F | | | | N | | I | I | | | | | | | | | V | | I | A | V | D | M | | |
| | I | | | | | | | L | | | | | | | | | T | | | F | | S | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | T | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | S | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Saquinavir/ ritonavir ^a | L 10 | | L 24 | | | | | G 48 | | I 54 | | | | I 62 | | | A 71 | G 73 | V 77 | V 82 | I 84 | | L 90 | | |
| | I | | I | | | | | V | | V | | | | V | | | V | S | I | A | V | | M | | |
| | R | | | | | | | | | | | | | | | | T | | | | | | | | |
| | Y | | | | | | | | | | | | | | | | | | | F | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | T | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tipranavir/ ritonavir ^a | L 10 | | | | L 33 | M 36 | K 43 | M 46 | I 47 | I 54 | Q 58 | | | H 69 | | T 74 | | | V 82 | N 83 | I 84 | | L 89 | | |
| | V | | | | F | I | T | L | V | A | E | | | K | | P | | | L | D | V | | M | | |
| | | | | | | L | | | | M | | | | R | | | | | T | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Figura 9: Mutações que conferem resistência aos IPs.

Fonte: Adaptado de JOHNSON et al, 2013.

TESTE DE RESISTÊNCIA GENOTÍPICA

Nos últimos anos, o surgimento de mutações de resistência, a complexidade dos esquemas terapêuticos e o crescente número de indivíduos portadores de vírus resistentes, tornaram os testes de resistência genotípica uma importante ferramenta para a manutenção de uma terapia eficaz¹⁰⁰⁻¹⁰¹.

O teste de genotipagem consiste na análise de determinadas regiões do genoma do HIV que têm contato com os antirretrovirais para detectar a ocorrência de mutações que conferem resistência às drogas e orientar um esquema ARV mais adequado⁵¹. Esse exame é feito a partir dos produtos da reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction, PCR) de RNA retrotranscrito e sequenciado em equipamentos automatizados com o auxílio de raios laser. As sequências de aminoácidos do genoma são obtidas e comparadas com uma sequência do vírus selvagem padrão para identificar onde ocorreram as mutações. Após

análise semi-automática dos dados obtidos, o software prepara um relatório interpretativo dos dados, baseado em algoritmos desenvolvidos e periodicamente revistos pelo comitê internacional. Existem grandes variações entre os diferentes algoritmos, dificultando a comparação entre eles¹⁰²⁻¹⁰³.

Para facilitar a seleção de esquemas alternativos mais eficazes, o Programa Nacional de DST/HIV/AIDS, do Ministério da Saúde, decidiu implantar no final de 2001, uma rede nacional de laboratórios aptos a executar o exame de genotipagem (RENAGENO), disponibilizados gratuitamente na rede pública de saúde. Atualmente, a rede compreende 23 laboratórios localizados nos estados de Pernambuco, Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul, Amazonas, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná⁴⁶. Os critérios para solicitação do exame pela RENAGENO, do Ministério da Saúde incluem: (I) Falha virológica confirmada, (II) Carga viral para HIV-1 superior a 1.000 cp/ml e (III) Início da TARV⁴².

A partir de 2005, o Departamento de DST/HIV/AIDS incorporou ao programa de acesso universal ao tratamento, os antirretrovirais de terceira linha (enfuvirtida, darunavir, raltegravir e etravirina) ampliando as opções terapêuticas aos pacientes multiexperimentados na TARV. Nesse contexto, foi inserido na RENAGENO, de forma pioneira, a caracterização da resistência genotípica na integrase do gene pol e na gp41 do gene do envelope, realizado em 6 laboratórios da rede, denominado RENAGENO Novos Alvos¹⁰⁴. Com a introdução do Maraviroc para uso clínico, em 2012, foi estabelecido o teste de genotropismo para identificação do tropismo CCR5 do HIV. Esse teste será realizado nos laboratórios que compõem a RENAGENO Novos Alvos¹⁰⁵.

Um estudo prospectivo desenvolvido na Europa, o Viradapt¹⁰⁶ selecionou pacientes com falha terapêutica e os dividiram em dois grupos. Num deles a mudança do tratamento se baseou apenas na experiência clínica; no outro, também no resultado do teste de genotipagem. No grupo de pacientes, onde a mudança no tratamento se baseou no resultado do teste de genotipagem, o sucesso terapêutico foi significativamente melhor, com maior número de pacientes com resultado de carga viral indetectável. Outros estudos de análise da aplicabilidade da genotipagem, como GART¹⁰⁷ e o NARVAL¹⁰⁸ comprovaram sua eficácia em casos de resgate de pacientes em falha terapêutica, em comparação com a fenotipagem. Em 2002, o estudo HAVANA¹⁰⁹ confirmou o benefício da genotipagem associado as informações de um especialista para ajudar na interpretação do teste e obtiveram os melhores resultados virológicos. No Brasil, estudo prévio realizado em Minas Gerais, também

evidenciou o sucesso no tratamento de resgate guiado pelo teste de genotipagem associado a adesão em pacientes com falha prévia aos antirretrovirais¹¹⁰.

ADESÃO À TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

O desenvolvimento de drogas antirretrovirais cada vez mais potentes proporciona grande eficácia no bloqueio da replicação viral, reduzindo os sintomas e a gravidade da AIDS^{43,50}. Entretanto, o uso inadequado e descontínuo destes medicamentos compromete significativamente a eficácia do tratamento. Estudos demonstram que existe uma íntima relação entre a resistência viral, falha terapêutica e adesão irregular¹¹³⁻¹¹⁵.

Dentre muitas definições, o termo adesão representa o comportamento do paciente em seguir a prescrição médica, no que se refere a posologia, à quantidade de medicamentos por horário, ao tempo de tratamento e às recomendações especiais para cada droga. Nesse contexto, a aderência pode ser tratada como uma atividade conjunta, onde o paciente segue as orientações do cuidador, entende e concorda com a prescrição estabelecida pelo médico¹¹⁶⁻¹¹⁷. Estudos revelam um percentual de adesão aos antirretrovirais entre 40% e 80%^{113,118-120}. No entanto, taxas próximas a 95% de aderência representam supressão viral maior do que apenas 80% de adesão^{119,121}.

A não-adesão à TARV é considerada como uma ameaça para o sucesso do tratamento e contribui para o desenvolvimento de cepas virais resistentes, redução das opções terapêuticas disponíveis e disseminação de vírus resistente. A literatura aponta vários fatores preditivos para não-adesão, dentre eles, escolaridade, condições de habitação, ocupação/emprego, idade, religião, dependência química, transtornos psiquiátricos, esquecimento, ausência ou ocorrência de sintomas, gravidade da doença, tempo e complexidade do tratamento, efeitos colaterais, acesso ao serviço e suporte social^{118,120-123}.

Quando se trata de crianças e adolescentes, somado a estes fatores incluem-se dependência de um responsável para ministrar as medicações nos horários prescritos, formulações palatáveis, não compreender a necessidade do tratamento por desconhecer o diagnóstico e o preconceito nos grupos de convívio gerando sentimentos de raiva e revolta. Além disso, podem ter de enfrentar obstáculos adicionais, como: alterações cognitivas, doenças dos pais, depressão, problemas comportamentais e sociais^{42, 124-125}.

Diante da ausência de uma medida com acurácia perfeita para avaliar a aderência ao tratamento, diferentes métodos são utilizados para determinar a não adesão, incluindo: marcadores biológicos que medem os níveis séricos de medicamentos, questionário ou auto-

relato, sistema de monitoramento do uso de medicamentos (MEMS), contagem de pílulas e dispensação de medicamentos da farmácia¹¹⁴. Devido ao alto custo dos marcadores biológicos e do MEMS e dos vieses de memória do auto relato, a utilização dos registros de dispensação da farmácia tem sido apontada como um recurso importante, de baixo custo e de resultados confiáveis, quando comparado com outras estratégias¹²⁶⁻¹²⁸.

Estudos sobre adesão foram realizados na população pediátrica e seus resultados foram compatíveis com as taxas de adultos, variando de 50% à 95% de acordo com o método de avaliação utilizado¹²⁹⁻¹³¹. Apesar da dificuldade no estabelecimento e manutenção da adesão à terapia, a disponibilidade de uma equipe assistente para atender e orientar os pacientes, a utilização de esquemas mais toleráveis e com menos efeitos colaterais são fatores fundamentais que podem auxiliar no comportamento dos pacientes soropositivos^{118-119,120,123}.

Referências

1. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphocyte retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Science*.1983;220: 868-87.
2. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, Gallo RC. Detection, isolation, and continuous of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science*.1984; 224 (4648): 497-500.
3. Brito AM, Castilho EA, Szwarcwald CL. AIDS e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*.2001;34: 207-17.
4. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global report. UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013[internet]. Disponível em http://www.unaids.org/sites/default/files/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf . Acesso em 10 abr. 2014.
5. Ministério da Saúde (BR). Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. 2013. Boletim Epidemiológico HIV e AIDS. Ano II, nº 1. Até a semana epidemiológica 26ª - dezembro de 2013:1-64.
6. Dimmock NJ, Primrose SB. Introduction to Modern Virology. Ed.Blckwell, Science, 1994. 4º Ed: 288-310.
7. Zeichner SL. The molecular biology of HIV. Insights into pathogenesis and targets for therapy. *Clin Perinatol*.1994; 21:39-73.
8. Barré-Sinoussi F. HIV as the cause of AIDS. *Lancet*.1996; 348: 31-5.

9. Santos NSO, Romanos MTV, Wigg MD. Introdução a Virologia Humana. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2002:183-97.
10. Greene WC. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. *The New England Journal of Medicine*. 1991;324(5):308-17.
11. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Imunologia Celular e molecular*. Ed. Revinter. Rio de Janeiro, 1998:235-76.
12. Plantier JC, Pogam S, Poisson F, Buzelay L, et al. Extent of Antigenic Diversity in the V3 Region of the Surface Glycoprotein, gp120, of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Group M and Consequences for Serotyping. *Journal of Virology*. 1998;72(1):677-83.
13. Pomerantz R, Horn D. Twenty years of the therapy for HIV-1 infection. *Nature Med*. 2003;9(7):867-73.
14. Peter F. HIV nef: The mother of all evil? *Immunity*. 1998;9:433-7.
15. Cohen OJ, Weissman D, Fauci A. The immunopathogenesis of HIV infection. In: William e Paul. *Fundamental immunology*. 4.ed. Philadelphia: Lippincott Raven; 1999.
16. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Imunologia celular e molecular*. Ed. Revinter. Rio de Janeiro, 1995:411-3.
17. Marlink R, Kanki P, Thior I, et al. Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science*. 1994;265(5178):1587-90.
18. Kilmark PH. Global epidemiology of HIV. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2009;4: 240-6.
19. Gao F, Bailes E, Robertson DL, Chen YL, et al. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes*. *Nature*. 1999;397:436-41.
20. Woodman Z., Williamson C. HIV molecular epidemiology: transmission and adaptation to human populations. *Curr Opin HIV AIDS*. 2009;4(4):247-52.
21. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, et al. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000 – 2007. *AIDS*. 2011; 25(5):679-89.
22. Thomson NM, Nájera R. Molecular epidemiology of HIV-1 variants in the global AIDS pandemic: an update. *AIDS Rev*. 2005;7(4):210-24.
23. Gao F, Vidal N, Li Y, et al. Evidence of two distinct subsubtypes within the HIV-1 subtype: a radiation. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2001;17 (8):675-88.
24. Peeters M, Gueye A, Mboup S, et al. Geographical distribution of HIV-1 group O viruses in Africa. *AIDS*. 1997;11:493-98.

25. Simon F, Maucière P, Roques P, et al. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nat Med.*1998;4(9):1032-7.
26. Plantier J-C, Leoz M, Dickerson JE, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat. Med.*2009;15:871– 2.
27. Buonaguro L, Tornesello ML, Buonaguro FM. Human immunodeficiency virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications. *Journal of Virology.*2007;81(19):10209-19.
28. Macêdo O, Ferreira LM, Lopes CAF, Sousa RCM, et al. Distribuição de subtipos de HIV-1 em pacientes com falha terapêutica à HAART nos estados do Pará e Amazonas, Brasil, entre 2002 e 2006. *Rev. Pan-Amazônica de Saúde.*2012;3(2):11-6.
29. Cavalcanti AMS, Lacerda HR, Brito AM, Pereira S, et al. Antiretroviral resistance in individuals presenting therapeutic failure and subtypes of the human immunodeficiency virus type 1 in the northeast region of Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*2007;102(7):785-92.
30. Cerqueira DM, Ramalho ED, Oliveira CP, et al. Prevalência de subtipos do HIV-1 no Distrito Federal. *Universitas Ciências da Saúde.*2004;1(1):141-8.
31. Couto-Fernandez JC, Jesus CS, Veloso VG, et al. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*2005;100(1):73-8.
32. Brindeiro RM, Diaz RS, Sabino EC, Morgado MG, et al. Brazilian network for HIV drug resistance Surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. *AIDS.*2003;17:1063-9.
33. Simon D, Béria JU, Tietzmann DC, et al. Prevalência de subtipos do HIV-1 em amostra de pacientes de um centro urbano no sul do Brasil. *Revista de Saúde Pública.*2010;6(1).
34. Santos AF, Sousa TM, Soares EAJM, Sanabani S, et al. Characterization of a new circulating recombinant form comprising HIV-1 subtypes C and B in southern Brazil. *AIDS.*2006;20:2011-9.
35. Guimarães ML, Eyer-Silva WA, Couto-Fernandez JC, et al. Identification of two new CRF_BF in Rio de Janeiro State, Brazil. *AIDS.*2008;22:433- 5.
36. Almeida FJ, Berezin EN, Rodrigues R, et al. Diversidade e prevalência das mutações de resistência aos antirretrovirais entre crianças infectadas pelo HIV-1. *Journal Pediatría.*2009;85(2).
37. Brindeiro PA, Brindeiro RM, Mortensen C, et al. Testing genotypic and phenotypic resistance in human immunodeficiency virus type 1 isolates of clade B and other clades from children failing antiretroviral therapy. *Journal of clinical microbiology.*2002;40(12):4512-9.
38. Pedroso C, Queiroz ATL, Alcântara LC, et al. High prevalence of primary antiretroviral resistance among HIV-1 – infected adults and children in Bahia, a northeast state of Brazil. *J. Acquir. Immune Defic. Syndrome.*2007;45(2):251-2.

39. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, et al. Rapid turnover of plasma of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature*.1995;373:123-6.
40. Gallo RC. HIV – The cause of AIDS: na overview on its biology, mechanisms of disease induction, and our attempts to control it. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*.1988; 1(6):521-35.
41. Soares EAJ, Santos AFA, Sousa TM, et al. Differential drug resistance acquisition in HIV-1 of subtypes B and C. *PloS ONE*.2007;8.
42. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa de DST e Aids. Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV. Série Manuais, n.85: Brasília, 2009.
43. Jr-Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*.1998;338(13):853-60.
44. Vittinghoff E, Scheer S, O'Malley P, et al. Combination antiretroviral therapy and recent declines in AIDS incidence and mortality. *J Infect Dis*.1999;179(3):717-20.
45. Farias SRQ, Lavra ZM, Medeiros FPM, et al. Uma nova proposta terapêutica para tratamento da AIDS: monoterapia à dose fixa combinada. *Rev Bras Farm*. 2006;87(3):92-7.
46. Ministério da Saúde (BR). Programa Nacional de DST, AIDS e Hepatites Virais (website). Disponível em <<http://www.aids.gov.br/aids>> . Acesso em 15 abr. 2014.
47. Powderly WG, Saag MS, Chapman S, et al. Predictors of optimal virological response to potent antiretroviral therapy. *AIDS*.1999;13(14):1873-80.
48. Yamashita TE, Phair JP, Munoz A, et al. Immunologic a virologic response to highly active antiretroviral therapy in the multicenter AIDS cohort study. *AIDS*.2001;15(12):735-46.
49. Ministério da Saúde (BR). Fundação Oswaldo Cruz (website). Disponível em <<http://http://www.ioc.fiocruz.br/aids20anos>>. Acesso em 15 abr. 2014.
50. De Clercq E. Antiretroviral drugs. *Curr Opin Pharmacol*.2010;10:507–15.
51. Shafer RW. Genotypic Testing for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Drug Resistance. *Clin. Microbiol Rev*.2002;15(2):247–77.
52. Cunico W, Gomes CRB, Jr-Vellasco WT. HIV-Recentes avanços na pesquisa de fármacos. *Química Nova*.2008;31(8):2111-7.
53. Peçanha EP, Antunes OAC. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. *Química Nova*. 2002;25(6B):1108-16.

54. Brito MA. Fármacos recentes usados para o tratamento da infecção pelo HIV-1: enfuvirtida, maraviroc, raltegravir e etravirina. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*2011; 32 (2):159-68.
55. Santos, MLA, Albuquerque, MG, Brito MA. Integrase: um alvo terapêutico importante no combate à infecção HIV/AIDS. *Rev Virtual Quim.*2014;6(4):937-54.
56. De Souza MVN. Fármacos inibidores de fusão: uma nova estratégia no combate à replicação do vírus HIV. *Acta Farm Bonaerense.*2005;24(2):291-9.
57. LaBonte J, Lebbos J, Kirkpatrick P. Enfuvirtide. *Nature Reviews Drugs Discovery.*2003;2:345-6.
58. Kuritzkes D, Kar S, Kirkpatrick P. Maraviroc. *Nature Reviews Drugs Discovery.*2008;7:15-7.
59. Centers of Diseases Control –CDC. Epidemiologic Notes and Reports Possible Transfusion-Associated Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) – California. *MMWR.*1982;31(48):652-4.
60. Centers of Diseases Control –CDC. Unexplained Immunodeficiency and Opportunistic Infections in Infants – New York, New Jersey, California. *MMWR.*1982;31(49):665-7.
61. Oleske J, Minnefor A, Cooper R, et al. Immune deficiency syndrome in children. *JAMA.*1983; 249:2345-9.
62. Englund JA, Baker CJ, Raskino C, et al. Clinical and Laboratory characteristics of a large cohort of symptomatic, human immunodeficiency virus-infected infants and children. *Pediatr Infect Dis J.* 1996;15:1025-36.
63. Connor EM, Sperling RS, Kiselev P, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Engl J Med.*1994;331(18):1173-80.
64. Sharland M, Watkins AM, Dalgleish AG, et al. Immune reconstitution in HAART-treated children with AIDS. *Lancet.*1998;352:577-8.
65. Faye A, Chenadec JL, Dollfus C, et al. Early versus deferred antiretroviral multidrug therapy in infants infected with HIV type 1. *Clin Infect Dis.*2004;39:1692-8.
66. Goetghebuer T, Haelterman E, Chanadec JL, et al. Effect of early antiretroviral therapy on the risk of AIDS/ death in HIV-infected infants. *AIDS.*2009;23:597-604.
67. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes. Brasília, 2014.
68. Villada EP, Richardson BA, Stewart GCJ, et al. Post-Haart outcomes in pediatrics populations: comparison of resource-limited and developed countries. *Pediatrics.* 2011;127: 423-41.
69. Violari A, Paed FC, Cotton M, et al. Early antiretroviral therapy and mortality among HIV-infected infants. *N Engl J Med.*2008;359: 2233-44.

70. Aboulker JP, Babiker A, Chaix ML, et al. Highly active antiretroviral therapy started in infants under 3 months of age: 72-week follow-up for CD4 cell count, viral load and drug resistance outcome. *AIDS*.2004;18:237-45.
71. Dunn D, Woodbum 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. *J Infect Dis*.2008;197:398-404.
72. Jr Ramos AN, Matida LH, Hearst N, et al. AIDS morbidity and mortality in brazilian children before and after highly active antiretroviral treatment implementation. *The Pediatric Infectious Disease Journal*.2011;30(9):1-5.
73. Mullen J, Leech S, O'Shea S, et al. Antiretroviral drug resistance among HIV-1 infected children failing treatment. *Journal of Medical Virology*.2002;68:299-304.
74. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV – Suplemento II. Brasília, 2012.
75. Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV Infected Children. Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection. Bethesda: U.S. Department of Health and Human Services. Disponível em: <<http://www.aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/pediatricguidelines.pdf>>. Acesso em 20 mai 2014.
76. Lozano F, Domingo P. Tratamento antirretroviral da infecção pelo HIV. *Enferm Infecç Microbiol Clin*.2011;29(6):455-65.
77. Coffin JM. HIV Population Dynamics in Vivo: Implications for Genetic Variation, Pathogenesis, and Therapy. *Science*.1995;267:483-9.
78. Jr Lignani L, Greco DB, Carneiro M. Avaliação da aderência aos anti-retrovirais em pacientes com infecção pelo HIV/Aids. *Rev Saúde Pública*.2001;35(6):4995-501.
79. Spiras S, et al. Impact of clade diversity on HIV-1 virulence, antiretroviral drug sensitivity and drug resistance. *J. Antimicrob Chemother*.2003;51:229-40.
80. Clavel F, Hance AJ. HIV Drug resistance. *N Engl J Med*.2004;10:1023-35.
81. Yearly S, Kaiser L, Race E, et al. Transmission of antiretroviral-drug-resistance HIV-1 variants. *Lancet*.1999;354:729-33.
82. Nolan M, Fowler MG, Mofenson LM. Antiretroviral prophylaxis of perinatal HIV-1 transmission and the potential impact of antiretroviral resistance. *J. Acquir Immune Defic Syndr*.2002;1(30):216-29.

83. Kourtis AP, Bulterys. Mother-to-child transmission of HIV: pathogenesis, mechanisms and pathways. *Clin Perinatol*.2010;37(4):721-37.
84. Machado DM, Fernandes SC, Succi RCM, et al. Analysis of HIV- type 1 protease and reverse transcriptase in brazilian children failing highly active antiretroviral therapy (HAART). *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*.2005;47(1):1-5.
85. Simonetti SRR, Schatzmayr HG, Simonetti JP. Human immunodeficiency virus type 1: drug resistance in treated and untreated Brazilian children. *Mem Inst Oswaldo Cruz*.2003;98(6):831-7.
86. Almeida FJ, Berezin EN, Rodrigues R, et al. Diversidade e prevalência das mutações de resistência genotípica aos antirretrovirais entre crianças infectadas pelo HIV-1. *Arch Pediatr Urug*.2011;82(4):247-53.
87. Angelis DSA, Tateno AF, Diaz RS, et al. HIV-1 drug resistance genotypic profiles in children with undetectable plasma viremia during antiretroviral therapy. *Braz J Infect Dis*.2011;15(1):60-5.
88. Wel X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature*.1995;373(12):117-22.
89. Diaz RS, Sabino EC, Mayer A, et al. Dual Human Immunodeficiency virus type 1 infection and recombination in a dually exposed transfusion recipient. *Journal of Virology*.1995;69(6):3273-81.
90. Cornelissen M, Burg RVD, Zorgdrager F, et al. *pol* Gene diversity of five human immunodeficiency virus type 1 subtypes: evidence for naturally occurring mutations that contribute to drug resistance, limited recombination patterns, and common ancestry for subtypes B and D. *Journal of Virology*.1997;71(9):6348-58.
91. Shafer RW, Rhee S, Bennett D. Consensus drug resistance mutations for epidemiological surveillance: basic principles and potential controversies. *Antiviral Therapy*.2008;13:59-68.
92. Weinstock H, Respass R, Heneine W, et al. Prevalence of mutations associated with reduced antiretroviral drug susceptibility among human immunodeficiency virus type 1 seroconverters in the United States, 1993-1998. *JID*.2000;182:330-3.
93. Johnson VA, Brun-Vézinet F, Clotet B, et al. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. International AIDS Society-USA. *Topics in Antiviral Medicine*.2010;18 (5).
94. Johnson VA, Clavez V, Huldrych FG, et al. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1: March 2013. International AIDS Society-USA. *Topics in Antiviral Medicine*.2013;21(1).
95. 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(3).
96. Machado ES, Lambert JS, Afonso AO, et al. Overview of genotypic and clinical profiles of human immunodeficiency virus type 1 – infected children in Rio de Janeiro, Brazil. *An Acad Bras Cienc*.2004;76(4):727-41.

97. Machado ES, Afonso AO, Nissley DV, et al. Emergency of primary NNRTI resistance mutations without antiretroviral selective pressure in a HAART-treated child. *PLoS ONE*.2009;4(3).
98. Ferreira FGF, Pinto JA, Kakehasi FM, et al. Prevalence of primary drug resistance-associated mutations among HIV type 1 vertically infected children in Belo Horizonte, Brazil. *AIDS Research and human retroviruses*.2010;26(2):229-32.
99. De Toni EC, Becker IM, Lambert APF. Perfil da resposta terapêutica a medicamentos antirretrovirais envolvendo crianças e adolescentes infectados pelo HIV-1 no Rio Grande do Sul. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*.2012;33(1):147-53.
100. Hirsch MS, Brun-Vézinet F, D'Aquila RT, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *JAMA*.2000;283(18):2417-26.
101. Hirsch MS, Gunthard HF, Schapiro JM, et al. Antiretroviral Drug Resistance Testing in Adult HIV-1 Infection: 2008 Recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *HIV/AIDS*.2008;47:266-86.
102. Kijak GH, Rubio AE, Pampuro SE, et al. Discrepant results in the interpretation of HIV-1 drug-resistance genotypic data among widely used algorithms. *HIV Medicine*.2003;4:72-8.
103. Costagliola D, Descamps D, Assoumou L, et al. Prevalence of HIV-1 Drug Resistance in Treated Patients; A French Nationwide Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*.2007.
104. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites virais. Definição de fluxos e critérios para realização de testes de genotipagem para integrase e GP41 do HIV-1: RENAGENO novos alvos. Nota técnica nº 103/2012/CQV/D-DST-AIDS-HV/SVS/MS. Brasília, 2012.
105. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites virais. Definição de fluxos e critérios para realização de genotipagem e prescrição do maraviroc. Nota técnica nº 172/2013/CQV/Ddhav/SVS/MS. Brasília, 2013.
106. Durant J, Clevenbergh P, Halfon P, et al. Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomized controlled trial. *Lancet*.1999;353(9171):2195-9.
107. Baxter JD, Mayers DL, Wentworth DN, et al. A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. *AIDS*.2000;14:83-93.
108. Meynard JL, Vray M, Morand-Joubert L, et al. Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. *AIDS*. 2002;16:727-36.
109. Tural C, Ruiz L, Holtzer C, et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. *AIDS*.2002;16: 209-18.

110. Tupinambás U, Ribeiro FA, Aleixo A, et al. Treatment Switch Guided by HIV-1 Genotyping in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*.2006;10(2):82-8.
111. Robinson H. New Hope for an AIDS Vaccine. *Nature Rev*.2002;2:239-52.
112. LOS ALAMOS. National Laboratory. Landmarks of the HIV-1 genome (Website). Disponível em <<http://www.lanl.gov/>>. Acesso em 10 mai. 2014.
113. Walsh JC, Poznaik AL, Nelson MR, et al. Virologic Rebound on HAART in the Context of Low Treatment Adherence Is Associated With a Low Prevalence of Antiretroviral Drug Reistance. *JAIDS*.2002;30:278-87.
114. Machtinger EL, Bangsberg DR. Adherence to HIV anti-retroviral therapy. In:HIV In Site Knowledge Base. Disponível em <<http://www.hivinsite.com/InSite?page=kb-03-02-09> > Acesso em 20 de jul de 2014.
115. Gross R, Yip B, Lo Re III, et al. A Simple, Dynamic Measure of Antiretroviral Therapy Adherence Predicts Failure to Maintain HIV-1 Suppression. *JID*.2006;194:1108-14.
116. World Health Organization (WHO). Adherence to long term therapies – evidence for action. 2003. Disponível em <<http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241545992.pdf>>. Acesso em 10 de jul de 2014.
117. Mehta S, Moore RD, Graham NMH. Potential factors affecting adherence with HIV therapy. *AIDS*.1997;11(14).
118. Júnior LL, Greco DB, Carneiro M. Avaliação da aderência aos anti-retrovirais em pacientes com infecção pelo HIV/Aids. *Rev Saúde Pública*.2001;35(6):495-501.
119. Nemes MIB, Carvalho HB, Souza MFM. Antiretroviral therapy adherence in Brazil. *AIDS*.2004; 18 (suppl 3).
120. Carvalho CV, Duarte DB, Mércan-Hamann E, et al. Determinantes da aderência à terapia anti-retroviral combinada em Brasília, Distrito Federal, Brasil, 1999-2000. *Cad Saúde Pública*.2003;19 (2):593-604.
121. Carvalho CV, Mércan-Hamann E, Matsushita R. Determinantes da adesão ao tratamento anti-retroviral em Brasília, DF: um estudo de caso-controle. *Rev Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*.2007;40(5):555-65.
122. Colombrini MRC, Coleta MFD, Lopes MHBM. Fatores de risco para a não adesão ao tratamento com terapia antiretroviral altamente eficaz. *Rev Esc Enferm USP*.2008;42(3):490-5.
123. Colombrini MRC, Coleta MFD, Lopes MHBM. Adesão à terapia antiretroviral para HIV/AIDS. *Rev Esc Enferm USP*.2006;40(4):576-81.
124. Guerra CPP, Seidl EMF. Adesão em HIV/AIDS: Estudo com Adolescentes e seus Cuidadores Primários. *Psicologia em Estudo*.2010;15(4):781-9.

125. Kourrouski MFC, Lima RAG. Adesão ao tratamento: vivências de adolescentes com HIV/AIDS. *Rev Latino-am Enfermagem*.2009;17(6).
126. Wagner G, Miller LG. Is the Influence of Social Desirability on Patients' Self-Reported Adherence Overrated? *J Acquir Immune Defic Syndr*.2004;35(2):203-4.
127. Nieuwkerk PT, Oort FJ. Self-Reported Adherence to Antiretroviral Therapy for HIV-1 Infection and Virologic Treatment Response – A Meta-Analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr*.2005;38(4): 445-8.
128. Gomes RRFM, Machado CJ, Acurcio FA, et al. Utilização dos registros de dispensação da farmácia como indicador da não-adesão à terapia anti-retroviral em indivíduos infectados pelo HIV. *Cad Saúde Pública*.2009;25(3):495-506.
129. Watson DC, Farley JJ. Efficacy of and adherence to highly active antiretroviral therapy in children infected with human immunodeficiency virus type 1. *Pediatr Infect Dis J*.1999;18(8): 682-9.
130. Dachew BA, Tesfahunegn TB, Birhanu AM. Adherence to highly active antiretroviral therapy and associated factors among children at the University of Gondar Hospital and Gondar Poly Clinic, Northwest Ethiopia: a cross-sectional institutional based study. *BMC Public Health*.2014; 14:875.
131. Steele RG, Grauer D. Adherence to antiretroviral therapy for pediatric HIV infection: review of the literature and recommendations for research. *Clin Child Fam Psychol Rev*. 2003;6(1):17-30.

4.2 ARTIGO ORIGINAL

VIROLOGICAL SUPPRESSION IN CHILDREN AND ADOLESCENTS DEPENDS ON OPTIMAL ADHERENCE TO GENOTYPING-BASED ANTIRETROVIRAL THERAPY

Juliana C Abreu, Sara N Vaz, Célia Pedroso, Eduardo M Netto, Carlos Brites

Retrovirology Laboratory, Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

ABSTRACT

Objective: To evaluate the virological outcomes in children and adolescents infected with HIV-1 in Salvador, Bahia according to genotyping results. **Methods:** we retrospectively evaluated the rates of virological suppression of children and adolescents submitted to HIV-1 genotyping test from January/2008 to December/2012. The participants were followed in the two referral centers for pediatric AIDS care, in Salvador, Brazil. Resistance mutations, drug sensitivity profiles and viral subtypes were analyzed using the Stanford HIV Drug Resistance Database. Adherence was estimated by drugs withdrawal at sites' pharmacies. **Results:** A total of 101 subjects were included: 35 (34.6%) were drug-naïve, and the remaining 66 were failing ART. In naïve group, 3 (8.6%), presented with NNRTIs resistance mutations, along with polymorphic mutations to PIs in most (82.8%) of them. Among the failing therapy group we detected a high frequency (89.4%) of resistance mutations to PIs, NRTI (84.8%) and NNRTI (59.1%). Virological suppression after introduction/modification of genotyping-guided ART was achieved in 46.3% of the subjects involved in the study and all of them reporting over 95% adherence to antiretroviral therapy. Main detected HIV-1 subtypes were B (67.3%), F (7.9), C (1.9%), and recombinants (22.8%). **Conclusions:** Despite the use of genotyping tests in guidance of a more efficient antiretroviral regimen, adherence to ART seems to be the main determinant of virological control for children and adolescents, in Salvador, Brazil.

INTRODUCTION

In the last decade, AIDS epidemic has increased among women under reproductive age worldwide, with previsible similar impact on vertical transmission (VT) of HIV-1. In Brazil, 686,000 cases of AIDS were reported between 1980 and 2013, and about 34,000 correspond to children and adolescents under 18 years of age. In 92.6% of those younger than 13 years of age, the transmission occurred through vertical route¹⁻⁴.

The introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART) significantly reduced the epidemic spread in pediatric population, as well as the mortality and morbidity associated

with HIV infection⁵⁻⁸. The combined use of antiretroviral therapy (ART) provides effective control of HIV replication, but it requires adequate levels of adherence to ART to prevent or reduce virological rebound and emergence of resistant strains⁹⁻¹¹.

Adherence to therapy is necessary to achieve complete suppression of viral replication, and to reduce the risk of viral resistance. Several studies showed that consistent, higher than 95% adherence to ART increases the probability of maintaining an undetectable viral load (VL) over time, in comparison to adherence levels of 80%¹²⁻¹⁴. However, there are some challenges that limit the adherence in children and the efficacy of the ARV therapy: complex antiretroviral regimens; side effects; low availability of pediatric formulations; lifelong duration of therapy; and dependence on a caregiver to administrate the medication¹⁵⁻¹⁷.

The ART failure is mainly caused by the development of resistance to ARV drugs, which is defined by the occurrence of mutations in the viral genome that reduce HIV susceptibility to drugs¹⁸⁻²⁰. To detect HIV-1 drug resistance, the Brazilian Ministry of Health and its National HIV/ AIDS Program, implemented in 2001, a National Network of Laboratories (RENAGENO), which provide free genotyping assay as part of the public health system²¹.

In accordance to the Brazilian Recommendations for Antiretroviral Therapy in Children and Adolescents Infected with HIV²⁰, the choice of an initial drug regimen for drug-naïve patients and for those under treatment failure, should be based on the genotyping assay²²⁻²³. In Brazil, several studies provided information on the resistance profile within the pediatric population²⁴⁻³¹.

Viral diversity also plays an important role in the response to antiretroviral treatment. This diversity allows the classification of HIV in different groups, subtypes and circulating recombinant forms (CRFs)³². Some studies have demonstrated specific subtype differences in HIV-1 susceptibility to ARV drugs and the identification of mutations selected by ART^{24,33}, but the relationship between viral diversity and therapeutic response in children and adolescents is still poorly understood.

The goal of this work is to evaluate the response to ARV therapy in children and adolescents infected with HIV-1 in Salvador/BA, according to genotyping assay results.

MATERIALS AND METHODS

Population and Study design: This retrospective cross-sectional study was conducted at Infectious Diseases Research Laboratory (LAPI), located at Professor Edgard Santos

University Hospital (HUPES) in Salvador/Bahia. All genotyping assays performed from January/2008 to December/2012, for patients under 18 years-old, from Salvador/Ba, were reviewed. These subjects were under regular care at HUPES or Specialized State Center for Diagnosis, Care and Research (CEDAP). They were divided into two groups according to the previous exposure to ARVs: (I) drug-naïve subjects and (II) treated subjects. We excluded patients lacking available laboratory information at least six months after ART introduction or switching. The study was approved by the Institutional Ethics Committee in Research (n° 047/2011).

Demographic, Clinical and Laboratory data: We collected information on origin, gender, age, period of diagnosis, history and duration of ART use from existing electronic databases. Pre and post (6 months) therapy HIV-1 Plasma VL were recorded, to evaluate the virological response after ART introduction switching. Adequate virological response was defined as a VL decrease to undetectable levels (≤ 50 copies / ml) six months after genotyping guided ART.

Genotyping assay and HIV-1 subtyping: The genotyping assay was performed using a commercially available Kit (TRUGENE HIV-1 Genotyping Kit Siemens / Bayer Co. USA), the standard test used by RENAGENO. Viral RNA was retrotranscribed and amplified by polymerase chain reaction (PCR). Sequencing of the entire protease region (codon 1 to 99) and most of the reverse transcriptase (codon 41 to 247) of the viral *pol* gene was performed. To assess the presence of drug resistance mutations and to analyze drug susceptibility profile, sequences were submitted to Stanford HIV resistance database (<http://hvdb.stanford.edu>)³³. These resistance mutations were identified according to the International AIDS Society (International AIDS Society, IAS)³⁴.

Therapy Adherence: The method used to assess treatment adherence was drug withdrawal from pharmacy. We reviewed all ARV dispensation by center's pharmacies during the period of six months, following introduction and/or switch of ART. Optimal adherence was defined as procurement of ARV drugs in $\geq 95\%$ of times they were prescribed, and also when there were less than eight days delay for taking the monthly quota of ARVs.

Statistical Analyses: We used SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 17.0 to perform all statistical calculations. Descriptive analyses (frequencies, median and interquartile range (IQR) 25-75%) were performed, and comparisons between groups were assessed by chi-square test. Median was used instead mean and standard deviation because age and viral load were not normally distributed. Non-parametric tests were used and statistically significant difference was assumed when $p < 0.05$.

RESULTS

During the study period, 279 children and adolescents were submitted to genotyping assays in Bahia, and 121 (43.4%) corresponded to samples from Salvador- Bahia. Of these, 20 were excluded: 17 subjects due to low VL (<1000 copies / ml) and three for death. Therefore, our total sample consisted in 101 subjects, 35 of whom were drug-naïve and 66 were failing ART. Table 1 shows the characteristics of study population.

Table 1 – Characteristics of study population.

| | Naïve (n= 35) | ARV failure (n= 66) |
|---|------------------------------|---------------------------|
| Age (months) | | |
| Median (IQR) ¹ | 58.0 (12 – 102) | 137.0 (95.7 – 169.5) |
| Gender– n° (%) | | |
| Female | 22 (62.9) | 29 (43.9) |
| Male | 13 (37.1) | 37 (56.1) |
| Procedência – n° (%) | | |
| CEDAP ² | 28 (80.0) | 46 (69.7) |
| HUPES ³ | 7 (20.0) | 20 (30.3) |
| Period of diagnosis (months) | | |
| Median (IQR) | 8 (3 - 53) | 84 (50 – 110) |
| Duration of ART use (months) | | |
| Median (IQR) | - | 72 (36 – 96) |
| Viral load before genotyping assay | | |
| Median - IQR (copies/ml) | 116,251.0 (14,101 – 247,840) | 22,612.0 (5,000 – 53,588) |
| Viral load after genotyping assay | | |
| Median – IQR (copies/ml) | 2,576.0 (<50 – 11,202) | 208.0 (<50 – 14,056) |

¹ IQR, Interquartile Range.

² CEDAP: Specialized State Center for Diagnosis, Care and Research.

³ HUPES: Professor Edgard Santos University Hospital.

In “drug-naïve group”, the median time since diagnosis of HIV infection was 28.4 (2 – 102) months. In the “ART failure group”, the median duration of drug use was 72 months (36-96) and the median number of drug regimens and ARVs used were 1 (1-3) and 3 (3-5), respectively.

In drug-naïve group, the primary resistance mutations associated to non-nucleoside reverse transcriptase (NNRTI) drugs L100I, K101E and K103N, were detected in three subjects. We detected only secondary mutations in HIV-1 protease: the most frequently detected were M36I/V (42.8%), L10F/I/V (20%), V77I (20%), L89M (20%), I93L (20%) and I62V (20%).

In the ARV failure group, as expected, we detected several drug-resistance mutations: the most frequent were amino acid changes associated with resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs): M184V (65.2%), M41L (39.4%), D67G/N (28.8%), K219E/N/Q/R (27.3%) and T210W (22.7%). Regarding NNRTIs, the most frequent

mutations detected were: K103N (31.8%), G190A/S (25.8%), Y181C (12.1%) and P225H (10.6%). The frequency of detected mutations related to PI were: V82A/I (25.7%), I54V (16.7%), M46I/L (9.1%) and L90M (6.1%).

Among patients failing ART, previous ARV drugs used were: AZT (97.0%), ABC (91.1%), 3TC (86.4%), EFV (45.5%), NVP (34.8%), LPV (39.4%) and NFV (24.2%). All subjects had been exposed to NRTIs, 45 (68.2%) to NNRTIs and 34 (51.5%) to PIs. The higher resistance rates were found to 3TC (74.2%), NVP (72.7%) and NFV (31.8%), for NRTI, NNRTI and PI classes, respectively. Figure 1, displays the frequency of ARV use and the resistance rates to these drugs.

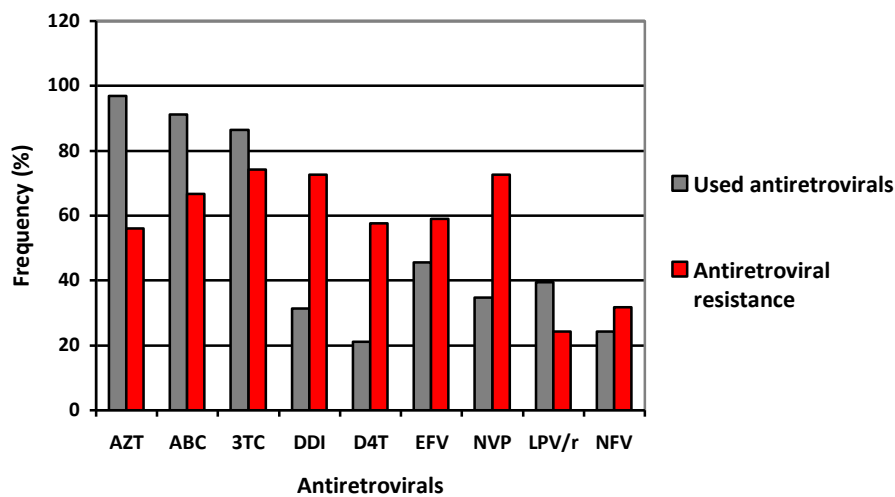


Figure 1: Comparison of the frequency of ARV use in the ARV failure group with the frequency of genotypic resistance to these drugs. AZT, zidovudine; ABC, abacavir; 3TC, lamivudine; DDI, didanosine; D4T, stavudine; EFV, efavirenz; NVP, nevirapine; LPV/r, lopinavir/ritonavir; NFV, nelfinavir.

After genotyping test, all ARV regimens proposed by a resistance advisor expert (medical reference for genotyping – MRG) for the 29 naïve subjects starting ART, contained a genotypic sensitivity score (GSS) of three active drugs. In contrast, the treatment failure group had a median of two (1-3) active drugs in treatment proposed by MRG.

However, the ARV regimens suggested by MRG were maintained by the prescribing physician for only 65.3% of the subjects (27 ARV naïve and 35 in treatment failure groups). The most frequently observed ARV regimens were: 2 NRTIs + 1PI for 58 (61.1%) subjects; 2 NRTIs + 1 NNRTI for 22 (24.2%) subjects, 1 NRTI + 1 NNRTI + 1 IP for 11 (11.5%) subjects, and dual NRTI scheme for three (3.2%) subjects. Raltegravir was included in ARV regimens for eight subjects, while enfuvirtide was prescribed for 2 subjects. Six drug-naïve subjects did not receive ARV prescription.

During the period of six months following ARV prescription, 18 (62.1%) subjects on initial therapy and 44 (66.6%) subjects with subsequent ART after failure attended regularly the monthly scheduled visits to pharmacy to receive ARV. No difference in visits frequency between groups was observed.

Virologic suppression after 6 months was achieved by only 44/95 (46.3%) children and adolescents. Thirteen out of 29 (44.8%) were part of the initial therapy group and 31/66 (46.9%) were part of the ART failing group. It is noteworthy that from all subjects who reached VL below 50 copies/ml after introduction/switch of ART, only 23/44 (52.3%) used the ARV regimen proposed by MRG, but the measured adherence was greater than 95%. According to GSS, 35/66 subjects in treatment failure who did not respond to therapy after genotyping-guided switch used ART regimen containing a median of 1.5 (1-3) active drugs.

Among the 101 samples tested, 68 (67.4%) were classified as subtype B, 8 (7.9%) as subtype F, 2 (1.9%) as subtype C and 23 (22.8%) as recombinant forms. The recombinant forms found for RT and PR regions, were AB (1), BF (2), DB (1), FB (16), KB (2) and CRF02_AG (1). The frequency of mutations associated with HIV-1 subtypes found in drug-naïve group and in the treatment failure group are shown in Tables 2 and 3.

Table 2 – Association of antiretroviral resistance mutations in the PR region¹ according to HIV-1 subtypes in naïve and ARV failure children and adolescents.

| PR mutations ¹ | NAIVE | | | ARV FAILURE | | | |
|--------------------------------|-----------------------|-----------|----------------|--------------|---------------------|-----------------------|-------|
| | n° (%) of mutations | | p ³ | PR mutations | n° (%) of mutations | | |
| B subtype ² n=22 | Non-B subtype n=13 | | | | B subtype n=48 | Non-B subtype n=18 | p |
| L10F/I/V | 2 (9.1) | 5 (38.5) | 0,03 | L10F/I/V | 7 (14.6) | 10 (55.5) | <0,01 |
| K20I/R/M/T | 0 | 5 (38.5) | <0,01 | K20I/R/M/T | 6 (12.5) | 13 (72.2) | <0,01 |
| L24I | 0 | 0 | - | L24I | 2 (4.2) | 2 (11.1) | NS |
| L33F/V | 0 | 0 | - | L33F/V | 4 (8.3) | 2 (11.1) | NS |
| M36I/V | 3 (13.6) | 12 (92.3) | <0,01 | M36I/V | 14 (29.2) | 18 (100.0) | <0,01 |
| M46I/L | 0 | 0 | - | M46I/L | 3 (6.3) | 3 (16.6) | NS |
| I47A | 0 | 0 | - | I47A | 0 | 2 (11.1) | NS |
| I50L | 0 | 0 | - | I50L | 0 | 1 (5.5) | NS |
| I54V | 0 | 0 | - | I54V | 7 (14.6) | 4 (22.2) | NS |
| Q58E | 0 | 0 | - | Q58E | 2 (4.2) | 3 (16.6) | NS |
| I62V | 4 (18.2) | 2 (15.4) | NS* | I62V | 12 (25.0) | 5 (27.7) | NS |
| I63P | 4 (18.2) | 0 | NS | I63P | 30 (62.5) | 5 (27.7) | 0,01 |
| I64L/V | 4 (18.2) | 0 | NS | I64L/V | 14 (29.2) | 0 | 0,01 |
| A71V/T | 3 (13.6) | 0 | NS | A71V/T | 6 (12.5) | 3 (16.6) | NS |
| L76V | 0 | 0 | - | L76V | 0 | 1 (5.5) | NS |
| V77I | 5 (22.7) | 2 (15.4) | NS | V77I | 10 (20.8) | 2 (11.1) | NS |
| V82A | 0 | 0 | - | V82A | 8 (16.6) | 4 (22.2) | NS |
| N83D | 0 | 0 | - | N83D | 1 (2.1) | 0 | NS |
| N88D | 0 | 0 | - | N88D | 4 (8.3) | 0 | NS |
| L90M | 0 | 0 | - | L90M | 2 (4.2) | 2 (11.1) | NS |
| I93L | 5 (22.7) | 2 (15.4) | NS | I93L | 5 (10.4) | 7 (38.8) | <0,01 |

¹ Protease region;

² n: number of subjects carrying the subtype for the indicated gene region;

³ p value; qui-square test;

*NS: no statistical significance.

In PR region, L10F/I/V, K20I/R/M/T, M36I/V mutations were detected in both groups and we found a significant higher frequency of these mutations in non-B subtypes compared with subtype B. On the other hand, I63P ($p = 0.01$) and I64L/V ($p = 0.01$) were observed only in patients under ARV failure, and were more frequently detected among individuals harboring subtype B HIV-1 strains. The I93L mutation ($p < 0.01$) was also found only in the ARV failure group, but it was more common among patients with non-B subtype. The RT region mutations detected in drug-naïve group and ARV failure group showed no differences between subtypes.

Table 3 – Association of ARV resistance mutations in the RT¹ region according to the HIV-1 subtypes in naive and ARV failure children and adolescents.

| RT ¹ mutations | NAIVE | | | RT mutations | ARV FAILURE | | |
|---------------------------|--------------------------------|----------------------|-----------------------|--------------|-------------------|----------------------|----------|
| | Mutations: n° (%) | | <i>p</i> ³ | | Mutations: n° (%) | | <i>p</i> |
| | B subtype ² n=29 | Non-B subtype n=6 | | | B subtype n=59 | Non-B subtype n=7 | |
| M41L | 0 | 0 | - | M41L | 23 (38.9) | 3 (42.8) | NS |
| A62V | 0 | 0 | - | A62V | 4 (6.7) | 1 (14.3) | NS |
| K65R | 0 | 0 | - | K65R | 0 | 1 (14.3) | NS |
| D67G/N | 0 | 0 | - | D67G/N | 18 (30.5) | 1 (14.3) | NS |
| T69D/N | 0 | 0 | - | T69D/N | 6 (10.2) | 1 (14.3) | NS |
| K70Q/R | 0 | 0 | - | K70Q/R | 15 (25.4) | 0 | NS |
| L74I | 0 | 0 | - | L74I | 1 (1.7) | 0 | NS |
| V75M/I | 0 | 0 | - | V75M/I | 6 (10.2) | 2 (28.6) | NS |
| V77L | 0 | 0 | - | V77L | 2 (3.4) | 1 (14.3) | NS |
| F116Y | 0 | 0 | - | F116Y | 1 (1.7) | 1 (14.3) | NS |
| Q151M | 0 | 0 | - | Q151M | 1 (1.7) | 1 (14.3) | NS |
| M184V | 0 | 0 | - | M184V | 37 (62.7) | 6 (85.7) | NS |
| T210W | 0 | 0 | - | T210W | 14 (23.7) | 1 (14.3) | NS |
| T215F | 0 | 0 | - | T215F | 7 (11.8) | 0 | NS |
| K219E/N/Q/R | 0 | 0 | - | K219E/N/Q/R | 17 (28.8) | 1 (14.3) | NS |
| V90I | 1 (3.4) | 0 | NS | V90I | 4 (6.7) | 0 | NS |
| A98G | 0 | 0 | - | A98G | 2 (3.4) | 1 (14.3) | NS |
| L100I | 1 (3.4) | 0 | NS | L100I | 1 (1.7) | 0 | NS |
| K101E | 1 (3.4) | 0 | NS | K101E | 3 (5.1) | 0 | NS |
| K103N | 1 (3.4) | 0 | NS | K103N | 17 (28.8) | 4 (57.2) | NS |
| V106A/M | 0 | 0 | - | V106A/M | 1 (1.7) | 1 (14.3) | NS |
| V108I | 0 | 0 | - | V108I | 4 (6.7) | 2 (28.6) | NS |
| E138A/G/K/Q | 3 (10.4) | 0 | NS | E138A/G/K/Q | 4 (6.7) | 0 | NS |
| V179I | 1 (3.4) | 1 (16.6) | NS | V179I | 4 (6.7) | 2 (28.6) | NS |
| Y181C | 0 | 0 | - | Y181C | 7 (11.8) | 1 (14.3) | NS |
| Y188L | 0 | 0 | - | Y188L | 4 (6.7) | 0 | NS |
| G190A/Q/S | 0 | 0 | - | G190A/Q/S | 17 (28.8) | 0 | NS |
| P225H | 0 | 0 | - | P225H | 5 (8.5) | 2 (28.6) | NS |
| F227L | 0 | 0 | - | F227L | 1 (1.7) | 1 (14.3) | NS |
| K238T | 0 | 0 | - | K238T | 3 (5.1) | 1 (14.3) | NS |

¹ Reverse transcriptase region;

² n: number of subjects carrying the subtype for the indicated gene region;

³ p value; qui-square test;

*NS: no statistical significance.

Among 44 subjects who achieved undetectable VL, 33 (75%) were infected by subtype B HIV-1, 5 (11.4%) by non-B subtype and 6 (13.6%) presented with mosaics DB, FB and

KB. There was no significant difference in the rates of therapy response according to different subtypes ($p = 0.16$). However, we found a significant difference when comparing pure subtypes and recombinant forms ($p = 0.02$). HIV-1 infection in most subjects that achieved therapeutic success was caused by subtypes B, F and C, in contrast to the high rate of ARV failure observed in subjects with recombinant forms (Table 4).

Table 4 – Association of HIV-1 subtypes and adherence to antiretroviral therapy with therapeutic response after genotyping in children naïve and with previous to treatment failure.

| | Therapeutic Response After Genotyping | | <i>p</i> ' |
|--------------------------------------|---------------------------------------|---------|------------|
| | Success | Failure | |
| Subtypes B, F, C | 38 | 35 | 0.02 |
| CRFs ² | 6 | 16 | |
| Adherence ³ more than 95% | 44 | 18 | <0.01 |
| less than 95% | 0 | 33 | |

¹ *p* value; qui-square test.

² Circulating Recombinant Forms: AB, BF, DB, FB, KB and CRF 02_AG.

³ Six naïve subjects were not included in the analysis because they did not begin antirretroviral therapy.

DISCUSSION

In this retrospective study we evaluated the presence of ARV resistance mutations in children and adolescents starting/switching ART, as well as the virological outcomes 6 months after therapy initiation/witch. Drug-naïve children presented a high rate of secondary mutations associated with PI resistance, as already shown in other published papers²⁸⁻²⁹. The absence of mutations associated with NRTIs was unexpected, but similar to the data found in a pediatric cohort in Rio de Janeiro²⁵.

Studies evaluating the presence of primary resistance mutations in children showed a prevalence ranging from 0 to 4.2%^{25,29,36}. Our data revealed a primary resistance rate of 17.2%, similar to a previous study conducted with children in Bahia²⁷. Late diagnosis of HIV infection for most mothers, lack of adequate prophylaxis against vertical transmission, low adherence and transmission of resistant viral strains are likely factors associated with this high rate of primary resistance^{17,37-39}.

Overall, we detected a great number of resistance mutations in patients failing ART, in accordance to previous finding of others^{26,29,40}. The most frequent mutations detected in our study reflects the use of ARV routinely prescribed for initial therapy. It is expected the high observed frequency of thymidine analog mutations - TAMs: M184V (65.2%), M41L (39.4%), D67G/N (28.8%), K219E/ N/Q/R (27.3%), T210W (22.7%), due to the large use of AZT as

first-line therapy in children, in Brazil. The presence of these mutations reduce the sensitivity to AZT, d4T, ABC, ddI and TDF, considerably reducing the long-term efficacy of most NRTI-based therapeutic regimens³⁴⁻³⁵. AZT (97%), ABC (91.1%) and 3TC (86.4%) were the most used drugs in previous ARV regimens, and this fact explains the observed high resistance levels to these drugs^{24,31,41}.

Conversely, ddI (39.4%) and d4T (21.2%) had a lower rate of use in therapeutic regimens, but showed higher levels of resistance, 57.6% and 59.1% respectively. The high rate of resistance to ddI and d4T was also found in other studies^{31,41}, and can be associated with the presence of multiple TAMs, which confers cross-resistance to these ARVs^{31,35,40}. In contrast, other studies evaluating ARV resistance in children under treatment failure detected a low level of resistance to ddI and d4T^{15,38}.

A striking feature of NNRTIs class is its low genetic barrier: the most commonly mutations found were K103N, a single mutation causing cross-resistance to all 1st generation NNRTIs. The second most frequent mutation for this class was G190A^{20,42}. These mutations are selected by EFV and NVP, which are indicated as first-line antiretroviral treatment by Brazilian recommendations for the pediatric use of ARV^{20,23,34}.

The most common mutations associated with resistance in PI class, in our study were similar to those found in other previous studies^{25,29,36,40}. The resistance was more frequent for the most commonly used ARV in past few years, like LPV/r and NFV. Although, other PI have not been used in this population, we observed cross-resistance to all antiretroviral drugs in this class, which impairs their use as salvage therapy⁴⁰⁻⁴¹. The most frequent polymorphisms found were I63P, M36I/V, K20I/R/M/T, L10F/I/V, I62V and I64L/V, as already described by others²⁹.

Although studies conducted in adult cohorts demonstrate significant improvement in viral suppression after therapy guided by genotyping⁴³⁻⁴⁴, in our study, only 44 (43.5%) subjects achieved VL<50 HIV-1 RNA plasma copies/ml. All patients who achieved virologic suppression (13/44 in initial therapy and 31/44 in salvage regimens) presented with adherence rate $\geq 95\%$. Among patients who did not achieve viral suppression, all showed irregular adherence. This is in accordance with previous studies that showed a close relationship between viral resistance, treatment failure and irregular adherence⁴⁵⁻⁴⁸.

Regarding the strain diversity, the results confirm the prevalence of subtype B as the main HIV-1 variant circulating in Brazil, and the findings are in accordance with studies in adult and pediatric cohorts^{24,29,31,33,36,38,40,49}. The observed increase of non-B subtypes, such as the F and C, favor emergence of recombinant forms. Brazilian studies with children

detected prevalence rates from 9.5 to 15% for subtype F^{24,27,29,31,33,36,38,40}, and 1.9 to 2.5% for subtype C^{24,27}, similar to our findings (7.9% F and 1.9% C). However, this is not the case in the South and Southeast regions in Brazil, which have a higher rate of subtype C, than in other areas in the country^{29,31}. Recombinant forms were found in 22.8% of children and adolescents in our study, highlighting the BF and FB mosaics. Despite the frequent mosaic BF prevalence at most studies^{27,29,33,36}, we found a higher frequency in the mosaic FB (15.8%). However, it would be necessary to sequence the entire genome to discard new recombinations in genomic regions not analyzed in our work.

This genetic diversity, allowed us to explore the relationship between the different subtypes, presence of resistance mutations and the response to antiretroviral therapy. In the analysis of the frequency of primary resistance mutations in PR region, for subtypes B and non-B, no significant differences were found in naïve group and in treatment failure group. However, differences were detected between subtypes when analyzing secondary mutations at positions 10, 20, 36, 63, 64 and 93. Possibly, these variations are natural consequences of polymorphisms found in subtypes without any impact on therapeutic response, and these data coincide with previous studies that analyzed the relationship between of resistance mutations among subtypes^{24,38,50-51}. However, Kantor demonstrated that the increase in the number of accessory mutations and polymorphisms may result in different responses to therapy, when it occurs in non-B subtype⁵². Despite the difference prevalence of K65R in RT region, other mutations followed similar patterns across subtypes B and non-B.

Virological and clinical studies suggest that differences between HIV-1 subtypes does not impact the response to therapy⁵². However, this approach may be limited in identifying determinants of specific subtypes in the response to antiretroviral therapy, because there is no evidence that all non-B viruses behave in similar way^{52,53}. Nevertheless, we do not discard the possibility of viral genetic variations be associated with different response to treatment, especially in recombinant forms, since we found a significant difference between pure subtypes and recombinant forms.

In this study, we demonstrated that adherence to antiretroviral therapy is low among children and adolescents with HIV/AIDS, and are the main cause of therapeutic failure onset of the frequent detection of resistance mutations in the pediatric population. Taking into account the vulnerability of these patients, genotyping is essential to guide an appropriate and effective treatment. However, it may be useless if not coupled with enough active drugs prescribed for treating patients failing therapy. In addition, regular adherence to ART remains a decisive factor for therapeutic success.

REFERENCES

1. Connor EM, Sperling RS, Kiselev P, et al: Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *The New England Journal of Medicine* 1994, 331: 1173-80.
2. Brito AM, Castilho EA, Szwarcwald CL: AIDS and HIV infection in Brazil: a multifaceted epidemic. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine* 2001, 34: 207-17.
3. Ministry of Health (BR). Department of DST, AIDS and Viral Hepatitis. *Epidemiological Bulletin HIV and AIDS 2013. Year II, n° 1. Until the 26th epidemiological week - December, 2013: 1-64*
4. UNAIDS. Global report. UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013. Available in <http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf>. Accessed to 10 april 2014.
5. Sharland M, Watkins AM, Dalgleish AG, et al: Immune reconstitution in HAART-treated children with AIDS. *The Lancet* 1998, 352: 577-8.
6. Villada EP, Richardson BA, Stewart GCJ, et al: Post-HAART outcomes in pediatrics populations: comparison of resource-limited and developed countries. *Pediatrics* 2011, 127: 423-41.
7. Jr Ramos AN, Matida LH, Hearst N, et al: AIDS morbidity and mortality in brazilian children before and after highly active antiretroviral treatment implementation. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2011, 30: 1-5.
8. Cardoso, CAA, Pinto JA, Candiani TMS, et al: The impact of highly active therapy on the survival of vertically HIV-infected children and adolescents in Belo Horizonte, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2012, 107: 532-8.
9. Jr-Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al: Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *The New England Journal of Medicine* 1998, 338: 853-60.
10. Jr-Palella FJ, Moorman AC, Holmberg SD, et al: Durability and predictors of success of highly active antiretroviral therapy for ambulatory HIV infected patients. *AIDS* 2002, 16: 1617-26;
11. Yearly S, Kaiser L, Race E, et al: Transmission of antiretroviral-drug-resistance HIV-1 variants. *The Lancet* 1999, 354: 729-33.
12. Nemes MIB, Carvalho HB, Souza MFM: Antiretroviral therapy adherence in Brazil. *AIDS* 2004, 18: 15-20.
13. Carvalho CV, Duarte DB, Mércan-Hamann E, et al: Predictors of compliance with highly active antiretroviral therapy in Brasilia, Distrito Federal, Brazil, 1999-2000. *Book of public health 2003, 19: 593-604.*
15. Carvalho CV, Mércan-Hamann E, Matsushita R: Determinants of antiretroviral treatment adherence in Brasília, Federal District: a case-control study. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine* 2007: 40: 555-65.
16. Mullen J, Leech S, O'Shea S, et al: Antiretroviral drug resistance among HIV-1 infected children failing treatment. *Journal of Medical Virology* 2002, 68: 299-304.
17. Colombrini MRC, Lopes MHB, Figueiredo RM: Adherence to the Antiretroviral Therapy for HIV/AIDS. *Rev Esc Enferm USP* 2006; 40: 576-81.
18. Colombrini MRC, Coleta MFD, Lopes MHB: Risk Factors for Non-Compliance to Treatment with Highly Effective Antiretroviral therapy. *Rev Esc Enferm USP* 2008, 42: 490-5.
19. Coffin JM: HIV Population Dynamics in Vivo: Implications for Genetic Variation, Pathogenesis, and Therapy. *Science* 1995, 267: 483-9.
20. Cornelissen M, Burg RVD, Zorgdrager F, et al: *pol* gene diversity of five human immunodeficiency virus type 1 subtypes: evidence for naturally occurring mutations that contribute

- to drug resistance, limited recombination patterns, and common ancestry for subtypes B and D. *Journal of Virology* 1997, 71: 6348-58.
21. Ministry of Health (BR). Secretariat of Health Surveillance in DST and AIDS. Recommendations for Antiretroviral Therapy in Children and Adolescents Infected by HIV. Manuals Series, n.85: Brasilia, 2009.
 22. Ministry of Health (BR). National Program in DST, AIDS and Viral Hepatitis (website). Available at <<http://www.aids.gov.br/aids>>. Accessed on 15 April 2014.
 23. Shafer RW: Genotypic Testing for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Drug Resistance. *Clin. Microbiol Rev* 2002, 15: 247–77.
 24. Ministry of Health (BR). Secretariat of Health Surveillance. Department of DST, AIDS and Viral Hepatitis. Clinical protocol and therapeutic guidelines for the management of HIV infection in children and adolescents. Brasília, 2014.
 25. Brindeiro PA, Brindeiro RM, Mortensen C, et al: Testing genotypic and phenotypic resistance in human immunodeficiency virus type 1 isolates of clade B and other clades from children failing antiretroviral therapy. *Journal of clinical microbiology* 2002, 40: 4512-9.
 26. Simonetti SRR, Schatzmayr HG, Simonetti JP: Human immunodeficiency virus type 1: drug resistance in treated and untreated Brazilian children. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98: 831-7.
 27. Machado DM, Fernandes SC, Menezes RC, et al: Analysis of HIV- type 1 protease and reverse transcriptase in brazilian children failing highly active antiretroviral therapy (HAART). *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 2005, 47: 1-5.
 28. Pedroso C, Queiroz ATL, Alcântara LC, et al: High prevalence of primary antiretroviral resistance among HIV-1 – infected adults and children in Bahia, a northeast state of Brazil. *J. Acquir. Immune Defic. Syndrome* 2007, 45: 251-2.
 29. Ferreira FGF, Pinto JA, Kakehasi FM, et al: Prevalence of primary drug resistance-associated mutations among HIV type 1 vertically infected children in Belo Horizonte, Brazil. *AIDS Research and human retroviruses* 2010, 26: 229-32.
 30. Almeida FJ, Berezin EN, Rodrigues R, et al: Diversity and prevalence of mutations genotypic resistance to antiretroviral among children infected with HIV-1. *Arch Pediatr Urug* 2011, 82: 247-53.
 31. Angelis DSA, Tateno AF, Diaz RS, et al: HIV-1 drug resistance genotypic profiles in children with undetectable plasma viremia during antiretroviral therapy. *Braz J Infect Dis* 2011, 15: 60-5.
 32. De Toni EC, Becker IM, Lambert APF: Profile of therapeutic response to antiretroviral drugs involving children and adolescents infected with HIV-1 in Rio Grande do Sul. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 2012, 33: 147-53.
 33. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, et al: HIV-1 Nomenclature Proposal. *Science* 2000; 288: 55-6.
 34. Sanabani SS, Pessoa R, Oliveira ACS, et al: Variability of HIV-1 Genomes among Children and Adolescents from São Paulo, Brazil. *Plos One* 2013, 8: 1-15.
 35. Stanford University. HIV drug resistance database. [website]. <<http://hivdb.stanford.edu>>. Accessed in 02 september 2014.
 36. Wensing AM, Calvez V, Gunthard HF, et al: 2014 Update of the resistance mutations in HIV-1. *Topics in Antiviral Medicine* 2014, 22 (3): 642-50.
 37. Oliveira CM, Almeida FJ, Rodrigues R, et al. High frequency of BF mosaic genomes among HIV-1-infected children from Sao Paulo, Brazil. *Arch Virology*, 2008; 153:1799–806.
 38. Ministry of Health (BR). Secretariat of Health Surveillance. Department of DST, AIDS and Viral Hepatitis. Report of the research project: evaluation of vertical transmission of HIV in the state of São Paulo, Brazil, 2010.

39. Machado ES, Lambert JS, Afonso AO, et al: Overview of genotypic and clinical profiles of human immunodeficiency virus type 1-infected children in Rio de Janeiro, Brazil. *An Acad Bras Cienc* 2004, 76: 727-41.
40. Little SJ, Holte S, Routy JP, et al: Antiretroviral-drug resistance among patients recently infected with HIV. *N Engl J Med* 2002, 347.
41. Machado ES, Lambert JS, Watson DC, et al: Genotypic resistance and HIV-1 subtype in Brazilian children on dual and triple combination therapy. *Journal of Clinical Virology* 2004, 30: 24-31.
42. Liang-Johann R, Lee SE, Fernandez A, et al: Genotypic characterization of human immunodeficiency virus type 1 isolated from vertically infected children with antiretroviral therapy experience. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2000, 19: 363-4.
43. Hirsch MS, Gunthard HF, Schapiro JM, et al: Antiretroviral Drug Resistance Testing in Adult HIV-1 Infection: 2008 Recommendations of an International AIDS Society–USA Panel HIV/AIDS 2008, 47: 266-86.
44. Durant J, Clevenbergh P, Halfon P, et al: Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomized controlled trial. *The Lancet* 1999, 353: 2195-9.
45. Baxter JD, Mayers DL, Wentworth DN, et al: A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. *AIDS* 2000: 14: 83-93.
46. Walsh JC, Poznaik AL, Nelson MR, et al: Virologic Rebound on HAART in the Context of Low Treatment Adherence Is Associated With a Low Prevalence of Antiretroviral Drug Resistance. *JAIDS* 2002: 30: 278-87.
47. Machtiger EL; Bangsberg DR: Adherence to HIV anti-retroviral therapy. In: HIV In Site Knowledge Base. Disponível em <<http://www.hivinsite.com/InSite?page=kb-03-02-09>> Acesso em 20 July 2014.
48. Gross R, Yip B, Lo Re III V, et al: A Simple, Dynamic Measure of Antiretroviral Therapy Adherence Predicts Failure to Maintain HIV-1 Suppression. *JID* 2006: 194: 1108-14.
49. Cohen NJ, Oram R, Elsen C, et al: Response to changes in antiretroviral therapy after genotyping in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J* 2002, 21: 647-53.
50. Brindeiro RM, Diaz RS, Sabino EC, et al: Brazilian Network for HIV drug Resistance Surveillance (HIV-BresNet): a survey of chronically infected individuals. *AIDS* 2003, 17: 1063-69.
51. Frater AJ, Beardall A, Ariyoshi K, et al. Impact of baseline polymorphisms in RT and protease outcome of highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected African patients. *AIDS* 2001, 15: 1493-502.
52. Caride EKH, Larder B, Dehertogh P, et al: Genotypic and phenotypic evidence of different drug-resistance mutation patterns between B and non-B subtype isolates of human immunodeficiency virus type I found in Brazilian patients failing HAART. *Virus Genes* 2001, 23: 193-202.
53. Kantor R, Katzenstein D: Polymorphism in HIV-1 non-subtype B protease and reverse transcriptase and its potential impact on drug susceptibility and drug resistance evolution. *AIDS Rev* 2003, 5: 25-35.
54. Pillay D, Walker AS, Gibb DM, et al: Impact of human immunodeficiency virus type 1 subtypes on virologic response and emergence of drug resistance among children in the Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) 5 trial. *The Journal of Infectious Diseases* 2002, 186: 617-25.

5 CONCLUSÃO

- Mutações de resistência são frequentes em crianças e adolescentes infectados pelo HIV-1 independente de estarem ou não em tratamento antirretroviral;
- Resistência primária é frequente no grupo de pacientes virgens de tratamento;
- Altos níveis de resistência aos antirretrovirais estão associados com o uso prévio de ARVs;
- Apesar da utilização do teste de genotipagem ser muito importante na orientação de um esquema antirretroviral apropriado, a adesão adequada e o uso de pelo menos duas drogas ativas no tratamento vigente foram essenciais para alcançar o sucesso terapêutico;
- A presença dos subtipos não-B e formas recombinantes sugerem que variáveis genéticas do HIV-1 circulam frequentemente em nosso meio;
- Devido a maior frequência de pacientes com subtipos puros que alcançaram o sucesso terapêutico, podemos considerar que variações genéticas do HIV-1 podem estar relacionadas com a resposta ao tratamento.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho são de grande relevância na caracterização das mutações de resistência aos antirretrovirais e diversidade de subtipos virais encontradas em crianças e adolescentes infectadas com HIV-1 em Salvador/Ba. Informações sobre os fatores que limitam o sucesso terapêutico contribuem de forma expressiva nas futuras estratégias de tratamento possibilitando uma maior qualidade de vida para estes pacientes. Dados sobre o impacto dos subtipos virais na resposta à terapia antirretroviral ainda são limitados, porém fundamentais para responder questões ainda não esclarecidas.

7 PERSPECTIVAS DE ESTUDO

Pretendemos dar continuidade a este trabalho com o desenvolvimento de um estudo prospectivo que nos possibilite o acompanhamento de crianças e adolescentes virgens de tratamento e em situação de falha terapêutica. Buscaremos aumentar a população englobando todos os pacientes do estado da Bahia com idade inferior a 18 anos; realizar o sequenciamento do genoma completo para avaliação das mutações de resistência e perfis de sensibilidade; construção de árvores filogenéticas para confirmação dos subtipos virais, aplicar diferentes métodos para avaliar adesão à terapia antirretroviral e buscar informações do histórico terapêutico das mães. A continuidade deste trabalho será de grande importância para avaliação do perfil genotípico e mutacional da população pediátrica na Bahia, a fim de criar estratégias para reduzir o número de indivíduos com falha terapêutica.

8 ANEXOS

ANEXO A – Classificação do CDC por categorias clínicas da infecção pelo HIV em pediatria.

| 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 duas ou mais das condições abaixo, porém sem nenhuma das condições da categoria B ou C: |
| <ul style="list-style-type: none"> • Linfadenopatia (linfonodos $\geq 0,5\text{cm}$ em mais de duas cadeias diferentes); • Hepatomegalia; • Esplenomegalia; • Parotidite; • Infecções persistentes ou recorrentes de vias aéreas superiores (otite média ou sinusite). |
| Categoria B: Sinais e/ou sintomas moderados |
| <ul style="list-style-type: none"> • Anemia ($\text{Hb} < 8\text{g/dL}$), neutropenia (< 1.000 leucócitos/mm^3) ou trombocitopenia (< 100.000 plaquetas/mm^3) por mais de 30 dias; • Meningite bacteriana, pneumonia ou sepse; • Candidíase oral persistindo por mais de dois meses; • Miocardiopatia; • Infecção por CMV antes de um mês de vida; • Diarreia crônica ou recorrente; • Hepatite; Estomatite pelo HSV recorrente (mais do que 2 episódios/ano); • Pneumonite ou esofagite por HSV, com início antes de um mês de vida; • Herpes zoster, com dois episódios ou mais de um dermatomo; • LIP; Nefropatia; Nocardiose; • Febre persistente por mais de 1 mês; • Toxoplasmose antes de 1 mês de vida; • Varicela disseminada ou complicada. |
| Categoria C: Sinais e/ou sintomas graves |
| Criança com quaisquer das condições listadas abaixo: |
| <ul style="list-style-type: none"> • Infecções bacterianas graves, múltiplas ou recorrentes (confirmadas por cultura, dois episódios em intervalo de um ano): septicemia, pneumonia, meningite, infecções osteoarticulares, abscessos de órgãos internos; • Candidíase esofágica ou pulmonar • Coccidioomicose disseminada • Criptococose extra-pulmonar • Criptosporidíase ou isosporidíase com diarreia (duração maior que um mês) • CMV em locais além do fígado, baço ou linfonodos, a partir de um mês de vida • Encefalopatia pelo HIV (achados que persistem por mais de dois meses): (a) déficit do desenvolvimento neuropsicomotor; (b) evidência de déficit do crescimento cerebral ou microcefalia adquirida identificada por medidas do perímetro cefálico ou atrofia cortical mantida em tomografias computadorizadas ou ressonâncias magnéticas sucessivas do crânio; e (c) déficit motor simétrico com dois ou mais dos seguintes achados: paresias, reflexos patológicos, ataxia e outros; • Infecção por HSV, úlceras mucocutâneas com duração maior que um mês ou pneumonite ou esofagite (crianças acima de um mês de vida); • Histoplasmose disseminada; • Mycobacterium tuberculosis disseminada ou extrapulmonar; • Mycobacterium, outras espécies ou não identificadas, disseminadas; • Mycobacterium avium ou Mycobacterium kansasii disseminados; • Pneumonia por Pneumocystis carinii (atualmente Pneumocystis jiroveci); • Salmonelose disseminada recorrente; • Toxoplasmose cerebral com início após o primeiro mês de vida; • Síndrome da caquexia (wasting syndrome), manifestada por: (a) perda de peso $> 10\%$ do peso anterior; ou (b) queda de dois ou mais percentis nas tabelas de peso para a idade; ou (c) peso abaixo do percentil 5 em duas medidas sucessivas; e (d) diarreia crônica (duração maior que 30 dias); ou (e) febre por 30 dias ou mais, documentada; • Leucoencefalopatia multifocal progressiva; • Sarcoma de Kaposi; • Linfoma primário do cérebro e outros linfoma. |

ANEXO B – Classificação do CDC por categorias imunológicas da infecção pelo HIV em pediatria baseada na contagem total e percentual de linfócito TCD4⁺

| Categoria imunológica | Contagem de linfócitos T CD4 ⁺ | | | | | |
|-----------------------------|---|-------|-------------------------|-------|-------------------------|-------|
| | < 12 meses de idade | | 1-5 anos de idade | | 6-12 anos de idade | |
| | Células/mm ³ | % | Células/mm ³ | % | Células/mm ³ | % |
| 1. Sem imunossupressão | ≥ 1.500 | ≥ 25 | ≥ 1.000 | ≥ 25 | ≥ 500 | ≥ 25 |
| 2. Imunossupressão moderada | 750-1.499 | 15-24 | 500-999 | 15-24 | 200-499 | 15-24 |
| 3. Imunossupressão avançada | < 750 | < 15 | < 500 | < 15 | < 200 | < 15 |

ANEXO C – Classificação de Tanner

| SEXO FEMININO | |
|--|---|
| MAMAS (figura 1) | PÊLOS (figura 2) |
| <p>M1 - mama infantil.</p> <p>M2 (8-13 anos) - fase de broto mamário, com elevação da mama e aréola como pequeno montículo.</p> <p>M3 (10-14 anos) - maior aumento da mama, sem separação dos contornos.</p> <p>M4 (11-15 anos) - projeção da aréola e das papilas para formar montículo secundário por cima da mama.</p> <p>M5 (13-18 anos) - fase adulta, com saliência somente nas papilas.</p> | <p>P1 - fase de pré-adolescência (não há pelugem).</p> <p>P2 (9-14 anos) - presença de pelos longos, macios e ligeiramente pigmentados ao longo dos grandes lábios.</p> <p>P3 (10-14,5 anos) - pelos mais escuros e ásperos sobre o púbis.</p> <p>P4 (11-15 anos) - pelugem do tipo adulto, mas a área coberta é consideravelmente menor que a do adulto.</p> <p>P5 (12-16,5 anos) - pelugem do tipo adulto, cobrindo todo o púbis e a virilha.</p> |
| SEXO MASCULINO | |
| PÊLOS (figura 2) | GENITÁLIA (figura 2) |
| <p>P1 - fase de pré-adolescência (não há pelugem).</p> <p>P2 (11-15,5 anos) - presença de pelos longos, macios e ligeiramente pigmentados na base do pênis.</p> <p>P3 (11,5-16 anos) - pelos mais escuros e ásperos sobre o púbis.</p> <p>P4 (12-16, 5 anos) - pelugem do tipo adulto, mas a área coberta é consideravelmente menor que a do adulto.</p> <p>P5 (15-17 anos) - pelugem do tipo adulto, estendendo-se até a face interna das coxas</p> | <p>G1 (9,5-13,5 anos) - pré-adolescência (infantil).</p> <p>G2 (10-13,5 anos) - crescimento da bolsa escrotal e dos testículos, sem aumento do pênis.</p> <p>G3 (10,5-15 anos) - ocorre também aumento do pênis, inicialmente em toda a sua extensão.</p> <p>G4 (11,5-16 anos) - aumento do diâmetro do pênis e da glândula, crescimento dos testículos e do escroto, cuja pele escurece.</p> <p>G5 (12,5-17 anos) - tipo adulto</p> |

Figura 1: Mamas

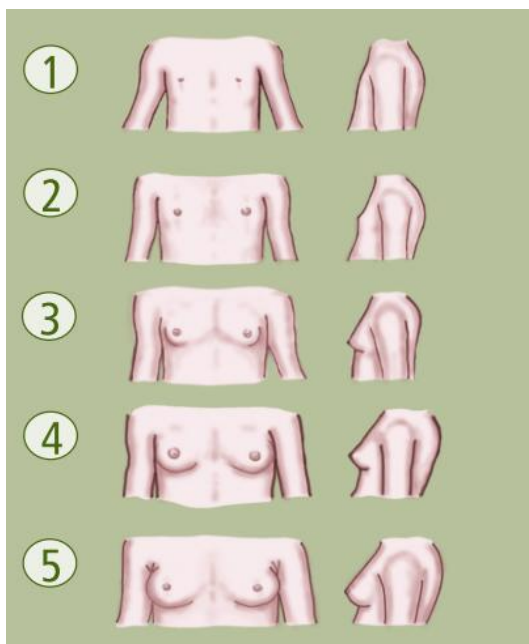
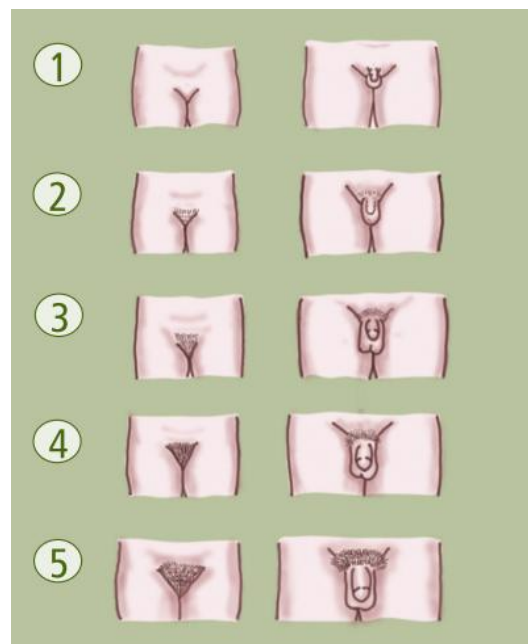


Figura 2: Pêlos pubianos nos sexos feminino e masculino



ANEXO D – Quadro de antirretrovirais para uso em crianças e adolescentes

| SIGLA | ARV | APRESENTAÇÃO, CONSERVAÇÃO E EFEITOS ADVERSOS |
|--|------------|--|
| Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo/nucleotídeo (ITRN): | | |
| ABC | Abacavir | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido 300mg: manter entre 15°C a 25°C. • Solução oral 20mg/mL: refrigerar após aberto o frasco (NÃO congelar). • Reações de hipersensibilidade potencialmente graves: náusea, febre, cefaleia, diarreia, exantema, fadiga, sintomas respiratórios, mais comuns nas primeiras 6 semanas de uso. Não reintroduzir ABC após reação grave. Pacientes com genótipo HLA-B*5701 não devem receber ABC. |
| ddl | Didanosina | <ul style="list-style-type: none"> • Cápsulas EC 50mg e 400mg: manter 15°C a 30°C; • Pó para suspensão oral 10mg/mL: refrigerar após a reconstituição. • Neuropatia periférica, pancreatite, náusea, diarreia. Ocorrência de lipodistrofia, acidose láctica e pancreatite potencializada se associado ao d4T. |
| d4T | Estavudina | <ul style="list-style-type: none"> • Pó para suspensão oral 1mg/mL: refrigerar (2°C a 8°C) após a reconstituição. • Neuropatia periférica, pancreatite, náusea, diarreia. Ocorrência de lipodistrofia, acidose láctica e pancreatite potencializada se associado ao ddl. |
| 3TC | Lamivudina | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido 150mg: manter entre 15°C a 30°C. • Solução oral 10mg/mL: manter entre 15°C a 30°C. • Náusea, diarreia, cefaleia, fadiga, exacerbação de hepatite B se interrompido. |
| TDF | Tenofovir | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido 300mg: manter entre 15°C a 30°C. • Pó para solução oral e outros comprimidos não disponíveis no Brasil. • Cefaleia, náusea, vômitos, disfunção tubular renal, desmineralização óssea, exacerbação de hepatite B se interrompido. Importante: requer monitoramento da função renal (sangue e urina). |
| AZT | Zidovudina | <ul style="list-style-type: none"> • Cápsula 100mg: manter entre 15°C a 30°C. • Solução oral 10mg/mL: manter entre 15°C a 30°C. • Frasco-ampola 10mg/mL: após reconstituída: - se refrigerar (2°C a 8°C), utilizar até 24h após sua preparação; - se mantiver entre 15°C a 30°C, utilizar até 8h após sua preparação. • Neutropenia e/ou anemia, náusea, cefaléia, miopatia, pigmentação unhas, neuropatia. |
| AZT + 3TC | Biovir | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido 300/150mg - manter entre 15°C a 30°C. • Neutropenia e/ou anemia, náusea, vômitos, cefaléia, fadiga, miopatia, pigmentação unhas, neuropatia. |

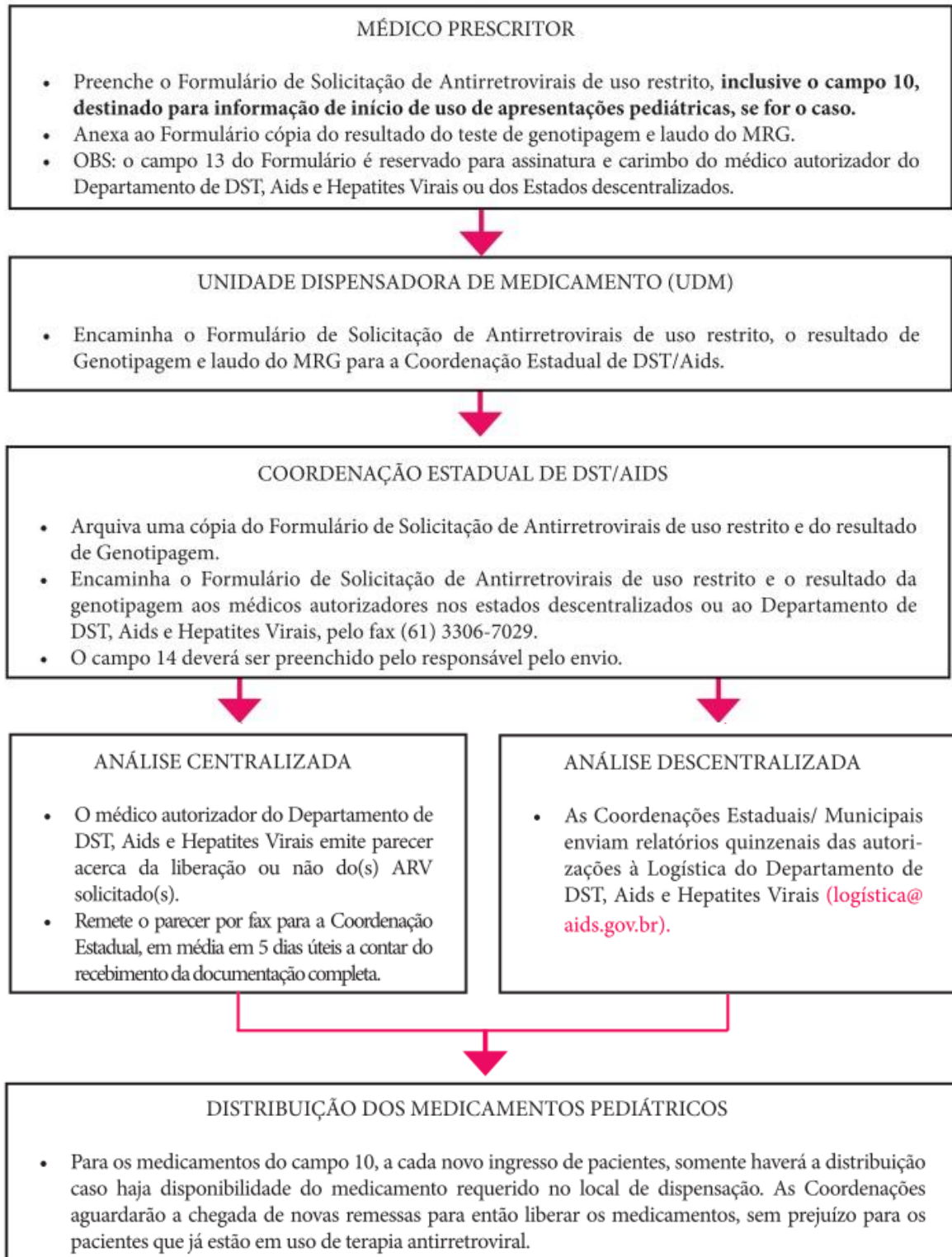
| SIGLA | ARV | APRESENTAÇÃO, CONSERVAÇÃO E EFEITOS ADVERSOS |
|---|---------------|--|
| Inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeo/nucleotídeo (ITRNN): | | |
| NVP | Nevirapina | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido 200mg: manter entre 15°C a 30°C. • Suspensão oral 10mg/mL: manter entre 15°C a 30°C. • Pode ocorrer exantema, hepatite e síndrome de Steven-Johnson geralmente nas primeiras 12 semanas. Monitorar função hepática nas 2, 4 e 8 semanas iniciais de tratamento. |
| EFV | Efavirenz | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido ou cápsula 200mg: manter entre 15°C a 30°C. • Comprimido 600mg: manter entre 15°C a 30°C. • Solução oral 30mg/mL: manter entre 15°C a 30°C. • Podem ocorrer alterações de humor e sonhos vívidos nas primeiras 2-4 semanas, hipercolesterolemia, exantema, potencial teratogênico (evitar uso em gestantes). |
| ETR | Etravirina | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido 100mg: manter entre 15°C a 30°C. • Comprimido pediátrico ainda não disponível no Brasil. • Pode causar náuseas, exantema (inclusive síndrome de Stevens-Johnson) e reações de hipersensibilidade. |
| Inibidores da protease (IP): | | |
| ATV | Atazanavir | <ul style="list-style-type: none"> • Cápsulas 200mg e 300mg: manter entre 15°C a 30°C. • Pode causar náusea, cefaleia, exantema, icterícia e elevação de bilirrubina total. |
| DRV | Darunavir | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimidos 75mg, 150mg e 300mg: manter entre 15°C a 30°C. • Solução oral ainda sem registro no Brasil. • Podem ocorrer exantema, náusea, diarreia, cefaleia. Verificar antecedentes de hipersensibilidade às sulfonamidas. |
| FPV | Fosamprenavir | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido 700mg: manter entre 15°C a 30°C. • Suspensão oral 50mg/mL: manter entre 15°C a 30°C. • Podem ocorrer exantema, parestesia perioral, náusea, diarreia. |
| LPV/r | Lopinavir/r | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimidos 200/50mg e 100/25mg – baby dose - (LPV/RTV): manter entre 15°C a 30°C. • Solução oral 80/20mg (LPV/RTV): refrigerar (2°C a 8°C). • Podem ocorrer diarreia, cefaleia, náusea, vômitos. Cuidado na insuficiência hepática. |
| RTV | Ritonavir | <ul style="list-style-type: none"> • Cápsula 100mg: refrigerar (2°C a 8°C). • Solução oral: 80mg/ml: manter entre 20°C a 25°C (NÃO refrigerar). • Pode causar parestesia perioral, náusea, diarreia, • exantema. |
| SQV | Saquinavir | <ul style="list-style-type: none"> • Cápsula 200mg. • Pode causar diarreia, náusea, exantema e exacerbação de doença hepática. |
| TPV | Tipranavir | <ul style="list-style-type: none"> • Cápsula gelatinosa mole 250mg: manter entre 15°C a 30°C. • Solução oral 100mg/mL: manter entre 15°C a 30°C. • Pode ocorrer toxicidade hepática, hemorragia intracraniana. |

| SIGLA | ARV | APRESENTAÇÃO, CONSERVAÇÃO E EFEITOS ADVERSOS |
|---------------------------------|-------------|---|
| Inibidores de Fusão: | | |
| T20 | Enfuvirtida | <ul style="list-style-type: none"> • Frasco-ampola 108mg/1,1mL (90mg/mL): após reconstituída, refrigerar (2°C a 8°C) e utilizar até 24h após sua preparação; • Sítios de injeção subcutânea: braços, face anterior da coxa, abdome (alternados); • Reações nos locais de aplicação são comuns. Pneumonia, bacteremia (raro). |
| Inibidores da Integrase: | | |
| RAL | Raltegravir | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido 400mg: manter entre 15°C a 30°C; • Comprimido 100mg (quando disponível); • Administrar com ou sem alimento; • Pode causar náusea, tonturas, insônia, exantema inclusive síndrome de Stevens-Johnson, pancreatite; elevação de ALT, AST e gama-GT. |
| Antagonista de CCR5: | | |
| MVQ | Maraviroque | <ul style="list-style-type: none"> • Comprimido de 150mg; • Não há dose pediátrica definida; • Administrar com ou sem alimento; • Pode estar associado a: dor abdominal, tosse, tonteira, sintomas músculo-esqueléticos, febre, exantema, infecções respiratórias altas, hepatotoxicidade e hipotensão ortostática. |

ANEXO E - Formulário de solicitação de antirretrovirais de uso restrito

| | | | | | |
|---|--------------------------------------|----------------------|---|----------------------------------|----------------------|
| 1 - Medicamento solicitado: <input type="checkbox"/> Enfuvirtida <input type="checkbox"/> Darunavir <input type="checkbox"/> Raltegravir <input type="checkbox"/> Etravirina <input type="checkbox"/> Tipranavir (exclusivo para < 18 anos) | | | | | |
| 2 - Informações do médico solicitante: Nome completo: _____ CRM/DF: _____ / _____ Telefone(s): (____) - _____ E-mail(s): _____ | | | | | |
| 3 - Informações do serviço: Município/UF: _____ / _____ Nome da Unidade de Atendimento: _____ Telefone(s): (____) - _____ Responsável para contato: _____ | | | | | |
| 4 - Informações do paciente: Nome completo: _____ Data de nascimento (dd/mm/aaaa): ____/____/____ Peso corporal (kg): _____ (para < 18 anos) Nome da mãe: _____ Município de nascimento/UF: _____ / _____ | | | | | |
| 5 - História terapêutica do paciente (esquemas antirretrovirais utilizados com respectivos períodos de início e troca): | | | | | |
| 6 - Justificativa para uso do medicamento solicitado: | | | | | |
| 7 - Esquema antirretroviral proposto: | | | | | |
| 8 - CD4 atual (células/mm ³): _____ | | Data: ____/____/____ | 9 - CV atual (cópias/mL): _____ | | Data: ____/____/____ |
| 10- Medicamentos em formulações pediátricas para informação de início de tratamento: | | | | | |
| X | Medicamento | Posologia | Campo de preenchimento exclusivo do Ministério da Saúde | | |
| | | | Distribuição N° FR | Data para início da distribuição | |
| | Fosamprenavir suspensão oral 50mg/mL | | | ____/____/____ | |
| | Darunavir comprimido 75mg | | | ____/____/____ | |
| | Darunavir comprimido 150mg | | | ____/____/____ | |
| | Ritonavir solução oral 80mg/mL | | | ____/____/____ | |
| | Tipranavir cápsula 250mg | | | ____/____/____ | |
| | Tipranavir solução oral 100mg/mL | | | ____/____/____ | |
| 11 - Médico solicitante: Data: ____/____/____ _____ (carimbo e assinatura) | | | 12 - Ministério da Saúde (logística) _____ (carimbo e assinatura) | | |
| 13- Médico autorizador: Data: ____/____/____ _____ (carimbo e assinatura) | | | 14- CE DST/Aids (responsável pelo envio das informações - fax): Data: ____/____/____ _____ (carimbo e assinatura) | | |

Anexo F - Fluxo de liberação dos antirretrovirais de uso restrito (crianças e adolescentes – 18 anos incompletos)



Anexo G – Nomenclatura e símbolos dos aminoácidos

| Símbolo | Nome |
|-------------------|------------------------------|
| Gly, Gli | Glicina ou Glicocola |
| Ala | Alanina |
| Leu | Leucina |
| Val | Valina |
| Ile | Isoleucina |
| Pro | Prolina |
| Phe ou Fen | Fenilalanina |
| Ser | Serina |
| Thr, The | Treonina |
| Cys, Cis | Cisteina |
| Tyr, Tir | Tirosina |
| Asn | Asparagina |
| Gln | Glutamina |
| Asp | Aspartato ou Ácido aspártico |
| Glu | Glutamato ou Ácido glutâmico |
| Arg | Arginina |
| Lys, Lis | Lisina |
| His | Histidina |
| Trp, Tri | Triptofano |
| Met | Metionina |

Anexo H – Parecer do Comitê de Ética



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 IORG0003460, IRB00004123 June 30, 2012 – January 31, 2014
 Assurance FWA00002471, May 31, 2011 – February 08, 2014

Rua do Limoeiro, nº 137 – Nazaré Cep: 40.005-150 – Salvador-Bahia
 Telefax: (71) 3283-9210/9211 e-mail: cepmco@ufba.br/cepcco@gmail.com

PARECER/RESOLUÇÃO N.º 052/2011

Registro CEP. 047/11. (Este número, bem como o do Parecer acima, devem ser citados nas correspondências referentes a este projeto)

Título do Projeto: “Impacto da Genotipagem sobre a Eficácia da TARV em Crianças e Adolescentes com AIDS na Bahia”.

Patrocínio/Financiamento: Inespecificado. Orçamento formal, sem expressividade, a ser custeado com recursos do “Laboratório de Pesquisa em Infectologia – LAPI”, aonde são processadas todas as amostras da Rede de Genotipagem da Bahia, mantida pelo Ministério da Saúde.

Instituição Proponente, Serviços Especializados em Infectologia, “SEI”, Salvador – Bahia.

Pesquisador Orientador: Professor, PHD, **Carlos Roberto Brites Alves**. Orientanda, **Juliana Costa de Abreu**. “Curricula Vitae” anexos, súmulas, procedentes.

Entidades: “LAPI” e “SEI”, Esta entidade vinculada.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas, 2.00; Biologia Geral, 2.01; Biossegurança; Nível Epidemiológico, Grupo III.

Objetivo(s) Geral: Avaliar o impacto dos testes de Genotipagem realizados em crianças e adolescentes experimentadas e virgens de tratamento sobre o desfecho virológico desta população após a introdução ou troca dos ARVs. **Objetivos Específicos:** - Avaliar a frequência de mutações de resistência aos antirretrovirais em crianças virgens de TARV e em situação de falha a esta terapia; Avaliar as taxas de resposta à TARV após troca de esquemas guiada pela genotipagem, de acordo com o uso prévio ou não de ARVs; Avaliar as taxas de resposta terapêutica de acordo com os subtipos do HIV-1; Avaliar a adequação dos esquemas ARVs utilizados após o teste de genotipagem.

Resumo: Após **Introdução**, na qual são tecidas considerações sobre o HIV, (identificação e suas múltiplas variáveis, patogenicidade em adultos e crianças, resistências emergíveis e suas causas, tratamentos e fatores determinantes das falhas terapêuticas e a importância dos esquemas alternativos mais eficazes conduzidos através da Rede Nacional de Genotipagem RENAGENO – Ministério da Saúde; **Metodologia**, (Banco de Dados franqueado à SEI pelo LAPI), população alvo infante-juvenil, 0 a 18 anos, constituída entre Janeiro de 2006 a Dezembro de 2011, seleção de todas as seqüências genotipadas e inclusíveis nos critérios do Estudo e agrupadas em VT – virgens de tratamento e submetidas à genotipagem e à terapia antiretroviral – e ARV – submetidas a antirretrovirais com falhas terapêutica e/ou preenchem os critérios para realização do teste cujos critérios para submissão à genotipagem são **a)** estar com carga viral para HIV1 superior a 2.000 cp/ml, **b)** fase inicial da doença antes do TARV, **c)** falha na terapia com drogas (alta CV), **d)** gestantes em uso regular e TARV por três meses e carga viral > 5.000 cp/ml e **f)** pacientes candidatos ao uso de T20, – Enfuvirtida. **Análises Estatísticas; Considerações Éticas; Resultados Esperados e Cronograma** vêm as **Referências Bibliográficas**.

Comentários: As peças constitutivas desta condensada, porém completa “Proposição da Pesquisa” obedecem as normas vigentes que presidem a Pesquisa em Seres Humanos. “A ausência do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” explica-se pela própria natureza do Estudo – consulta em Banco de Dados, à semelhança de Pesquisa em Prontuários Médicos, com todas suas características de se realizar na Sede do Atendimento original e garantia da segurança quanto à privacidade e confidencialidade – cuja tentativa de nova convocação do “Pesquisando” implicaria em óbices certamente intransponíveis para alcance da representatividade desejada face a localizações, motivações e altos custos processuais frente ao tempo transcorrido, além de totalmente desnecessária ao fim colimado.

O presente Processo Investigatório, com seus anexos, pode ser **aprovado** por este Institucional. Bem como a realização da pesquisa na **Entidade referida** sob a condução do **Pesquisador Responsável**,




COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
IORG0003460. IRB00004123 June 30, 2012 – January 31, 2014
Assurance FWA00002471, May 31, 2011 – February 08, 2014

Rua do Limoeiro, nº 137 – Nazaré Cep: 40.005-150 – Salvador-Bahia
Telefax.: (71) 3283-9210/9211 e-mail: cep/mco@ufba.br/cep/mco@gmail.com

devendo ser observadas as disposições constantes na “Folha de Recomendações” e no “Modelo de Relatório” deste CEP, inclusos. **Projeto Aprovado.**

Salvador, 03 de Novembro de 2011.


Professor, Doutor Eduardo Martins Netto
Coordenador – CEP/MCO/UFBA

Observações importantes. Toda a documentação anexa ao Protocolo proposto e rubricada pelo (a) Pesquisador (a), arquivada neste CEP, e também a outra devolvida com a rubrica da Secretária deste (a) ao (à) mesmo (a), faz parte intrínseca deste Parecer/Resolução e nas “Recomendações Adicionais” apenas, **bem como a impostergável entrega de relatórios parciais e final como consta nesta liberação,** (Modelo de Redação para Relatório de Pesquisa, anexo).