Perfil genotípico das mutações do HIV-1 relacionadas a terapia antirretroviral

Genotypic profile of HIV1 mutations related to antiretroviral therapy

Juliano Bruno Riella[1], Nelson Eduardo Godoy Jr.[1], Amaury Mielle Filho[2]

RESUMO

Introdução: O teste de genotipagem em pacientes infectados pelo HIV-1 é capaz de selecionar a melhor terapia antirretroviral e auxiliar nos casos de falha terapêutica. O mapeamento das mutações, assim como o perfil de resistência dos antirretrovirais é uma forma de aprimorar e conhecer melhor as utilidades desta técnica. **Métodos:** Foram avaliados 88 exames de genotipagem, realizados nos anos de 2007 a 2009 em pacientes infectados pelo HIV-1, de exames realizados nos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Entre os 88 exames, 13 destes foram descartados por impossibilidade da amplificação do RNA viral. **Resultados:** Observamos um predomínio pelo sexo masculino (n=47, 62,7%) e uma maior prevalência do subtipo B (n=53, 70,7%), seguido do C (n=16, 21,3%). Em relação às mutações, 97,4% (n=73) dos pacientes apresentaram-nas na região da protease, sendo a mais prevalente a L63P (n= 43, 43,88%). Entre os Inibidores de Transcriptase reversa, 68 (90,7%) pacientes apresentaram mutação nessa região e dentro das suas classes, os Inibidores de Transcriptase Reversa não Análogos ao Nucleosídeo (ITRNN) apresentaram uma maior prevalência na mutação K103N (n=25, 28,41%) e, entre os Inibidores de Transcriptase Reversa Análogos ao Nucleosídeo (ITRN), encontramos uma maior prevalência no M184V (N=50, 56,82%). Em relação à resistência aos antirretrovirais, 85,4% (n=64) dos pacientes apresentaram resistência a algum Inibidor de Protease e 92% (n=69) dos pacientes apresentaram resistência a algum Inibidor de Transcriptase Reversa. **Conclusão:** O teste de genotipagem demonstrou-se útil para mapear e identificar as principais mutações, assim como determinar os antirretrovirais mais resistentes.

UNITERMOS: HIV, Genotipagem, Mutação, Antirretroviral, Resistência Antirretroviral.

ABSTRACT

Introduction: *The genotyping test in patients infected with HIV-1 is able to select the best antiretroviral therapy and assist in cases of therapeutic failure. The mapping of mutations and the resistance profile of antiretroviral drugs is a way to enhance and better understand the utility of this technique.* ***Methods:*** *We evaluated 88 genotyping tests performed from 2007 to 2009 in patients infected with HIV1 in the states of Sao Paulo, Paraná and Santa Catarina. Thirteen of the 88 tests were discarded because of failure of amplification of viral RNA.* ***Results:*** *There was a predominance of males (n = 47, 62.7%) and a higher prevalence of subtype B (n = 53, 70.7%), followed by C (n = 16, 21.3%). Regarding mutations, 97.4% (n = 73) of patients showed them in the protease region, L63P being the most prevalent (n = 43, 43.88%). Among reverse transcriptase inhibitors , 68(90.7%) patients had mutations in this region, and within classes, non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NNRTIs) showed a higher prevalence of mutation K103N (n = 25, 28 , 41%), while among nucleoside analog reverse-transcriptase inhibitors (NARTIs) we found a higher prevalence in M184V (N = 50, 56.82%). Regarding resistance to antiretrovirals, 85.4% (n = 64) of patients showed resistance to some protease inhibitor and 92% (n = 69) of patients showed resistance to some reverse transcriptase inhibitor.* ***Conclusion:*** *The genotyping test was shown to be useful to map and identify major mutations, as well as to determine the most effective antiretrovirals.*

KEYWORDS: HIV, Mutation, Antiretroviral Therapy, HAART, Genotype.

[1] Acadêmico de Medicina.
[2] Professor titular da Disciplina de Infectologia da Universidade Regional de Blumenau (FURB).

INTRODUÇÃO

A terapia antirretroviral (TARV) tem por objetivo controlar a replicação do Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 1 (HIV-1) e evitar a pressão seletiva responsável pelo surgimento de mutações que capacitarão o vírus HIV-1 a resistir ao tratamento (1). O desenvolvimento de resistência aos antirretrovirais vem sendo estudado em larga escala (2, 3, 4, 5) e muitas vezes tendo como foco principal o perfil de resistência obtido pelo teste de genotipagem.

Estudos prospectivos randomizados demonstraram uma considerável utilidade clínica do teste de genotipagem em comparação com o teste fenotípico (6), principalmente porque auxilia na escolha da terapia de resgate (7), porém o real significado da interpretação de exames de genotipagem ainda é incerto, pois são inúmeras as mutações responsáveis pela resistência aos inibidores de protease (IP) e de transcriptase reversa (TR).

A genotipagem também contribui para a identificação dos subtipos do vírus HIV-1 determinando assim a diversidade viral e seus subtipos prevalentes. Sabe-se hoje que o subtipo mais prevalente em território nacional é o B (8), porém trabalhos recentes apontaram variedades epidemiológicas do vírus HIV-1 conforme a região do país (8, 9, 10, 11). Estes exames determinam as mutações que geram resistência aos antiretrovirais que, de acordo com a literatura, são as seguintes: associadas aos Inibidores de Transcriptase Reversa não análogos Nucleosídeo (ITRNN): A98G, L100I, K101E/P, K103N (causador de resistência a todos desta classe), K103S, V106A/M/I, V108I, V179D/E/F/T, Y181C/I/V, Y188C/H/L, G190A/S, P225H, F227L/C, M230L e K238T; associadas aos Inibidores de Transcriptase Reversa Análogos Nucleosídeo (ITRN) encontram-se nos seguintes códons: 41, 43, 44, 62, 65, 67, 69, 70, 74, 75, 77, 115, 116, 118, 151, 184, 208, 210, 215, 218, 219, 221 e 228; associadas aos Inibidores de Protease (IP) que subdividem-se em: maiores D30N, M46I/L, I50L/V, V82A/F/S/T, I84V, L90M e menores L10F/I/R/V; K20M/R; L24I/V; L33F; M36I; I47V; G48V; F53L; I54L/M/V; L63P; A71T/V; G73S; N88D/S (12, 13).

Este estudo tem como objetivo descrever o perfil de mutações do vírus HIV-1 obtido pelo teste de genotipagem realizados em laboratório particular, realizados no período de 2007 a 2009, assim como o perfil de resistência aos antirretrovirais.

MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Universidade Regional de Blumenau, em Santa Catarina, nos anos de 2009 e 2010. Os exames de genotipagem foram analisados no período de 2007 a 2009 no laboratório Genolab – Análises Genéticas, sendo que todos foram coletados de pacientes infectados pelo HIV-1 das regiões de São Paulo, Santa Catarina e Paraná. O motivo da realização do exame, assim como carga viral, contagem de CD4 e terapia antirretroviral prévia são desconhecidos. O desenho do estudo foi transversal e quantitativo. Foram obtidos no total 88 exames de genotipagem e para sua realização foi feita a extração de RNA (a partir do plasma do paciente), seguido de reação de transcrição reversa para obtenção do cDNA. A seguir, foram utilizados oligonucleotídeos iniciadores para proceder à amplificação por PCR (*polimerase chain reaction*) das duas regiões do genoma viral envolvidos com o processo de resistência medicamentosa: protease e transcriptase reversa. A etapa posterior constituiu-se de eletroforese dos produtos de PCR em gel de agarose 2% corados com brometo de etídeo, para verificação da amplificação dos fragmentos alvos. Certificado a amplificação, os produtos de PCR foram purificados para realização da reação de sequenciamento. A análise do sequenciamento foi realizada com o software BioEdit®, utilizando-se o algoritmo de interpretação da Universidade de Stanford.

Não foi possível amplificar o RNA viral para análise da região da Transcriptase reversa em 15 pacientes e em 13 ocorreu a impossibilidade de amplificar ambas as regiões. Portanto, 13 pacientes foram descartados pela impossibilidade de análise da transcriptase reversa e da protease – sensibilidade do teste: 1000 cópias/mL. Um banco de dados com os resultados foi calculado no programa Microsof Excel, apresentados na forma de tabelas que foram divididas de acordo com a classe de antirretroviral, apresentando os códons que sofreram mutação, suas prevalências e relação dos antirretrovirais (IP, ITRN e ITRNN).

RESULTADOS

Foram analisados um total 75 exames de genotipagem, sendo que a maioria (n=47, 62,7%) dos pacientes era do sexo masculino quando comparados ao sexo feminino (n=28, 37,3%). Em relação aos subtipos, evidenciou-se uma prevalência do subtipo B (n=53, 70,7%), em relação aos subtipos B/C (n=4, 5,3%), C (n=16, 21,3%) e F (n=2, 2,7%). Em relação aos vírus selvagens, definidos como os que não apresentam mutações nos códons da região da transcriptase reversa ou da protease, estes não tiveram representatividade em nosso estudo.

Em relação às mutações, observou-se que 73 (97,4%) pacientes apresentaram alguma mutação na região da protease e 68 (90,7%) pacientes na região da Transcriptase Reversa. Em se tratando de resistência, 64 (85,4%) pacientes apresentaram resistência aos IP e 69 (92%) pacientes aos inibidores de Transcriptase Reversa. Entre as classes dos Inibidores de Transcriptase Reversa, observou-se que 65 (86,6%) pacientes apresentaram resistência aos ITRN e 52 (69,3%) apresentaram resistência aos ITRNN.

TABELA 1 – Prevalências das mutações relacionadas aos Inibidores de Transcriptase Reversa Não Análogos ao Nucleosídeo

Mutações	N	(%)
K103N	25	(28,41%)
A98G	11	(12,50%)
G190A	10	(11,36%)
V108I	6	(6,82%)
Y188L	6	(6,82%)
Y181C	5	(5,68%)
K101E	3	(3,41%)
Y318F	3	(3,41%)
F227L	2	(2,27%)
L100I	2	(2,27%)
V179E	2	(2,27%)
F227C	1	(1,14%)
K101P	1	(1,14%)
P225H	1	(1,14%)
V106A	1	(1,14%)
V106M	1	(1,14%)
V179F	1	(1,14%)
V179D	1	(1,14%)

N: Número de pacientes; F(%): prevalência de pacientes

TABELA 2 – Prevalências das resistências aos Inibidores de Transcriptase Reversa não Analágos ao Nucleosídeo

ANTIRRETROVIRAIS	R	(%)	P	(%)	S	(%)
Nevirapina	40	(54,79%)	3	(4,11%)	30	(41,10%)
Delavirdina	33	(45,21%)	0	(0,00%)	40	(54,79%)
Efavirenz	36	(49,32%)	0	(0,00%)	37	(50,68%)
Etravirine	1	(01,37%)	0	(0,00%)	72	(98,63%)

R: Resistência Completa; P: Resistência Parcial; S: Ausência de resistência; (%): Prevalência de pacientes

TABELA 3 – Prevalências das mutações aos Inibidores de Transcriptase Reversa Análogo ao Nucleosídeo

Mutações	N	F (%)
M184V	50	(56,82%)
M41L	34	(38,64%)
D67N	19	(21,59%)
K70R	19	(21,59%)
L210W	17	(19,32%)
K65R	12	(13,64%)
T215F	12	(13,64%)
V118I	12	(13,64%)
K219Q	11	(12,50%)
T215Y	10	(11,36%)
K219E	9	(10,23%)
D67G	5	(5,68%)
E44D	5	(5,68%)
T69N	3	(3,41%)
H208Y	2	(2,27%)
Q151M	2	(2,27%)
T69G	2	(2,27%)
D67E	1	(1,14%)
E44A	1	(1,14%)
K219R	1	(1,14%)
T69D	1	(1,14%)

N: Número de pacientes; F(%): Prevalência de pacientes

TABELA 4 – Prevalências das resistências aos Inibidores de Transcriptase Reversa Analágos Nucleosídeo

ANTIRRETROVIRAIS	R	(%)	P	(%)	S	(%)
ddI	34	(46,58%)	19	(26,03%)	20	(27,40%)
Tenofovir	23	(31,51%)	14	(19,18%)	36	(49,32%)
AZT	31	(42,47%)	20	(27,40%)	22	(30,14%)
AZT+3TC	24	(32,88%)	25	(34,25%)	24	(32,88%)
Abacavir	35	(47,95%)	17	(23,29%)	21	(28,77%)
FTC	42	(57,53%)	8	(10,96%)	23	(31,51%)
ddC	48	(65,75%)	1	(1,37%)	24	(32,88%)
d4T	28	(38,36%)	13	(17,81%)	32	(43,84%)
3TC	49	(67,12%)	2	(2,74%)	22	(30,14%)
Tenofovir + 3TC	0	(0,00%)	9	(12,33%)	64	(87,67%)
Tenofovir + d4T	0	(0,00%)	2	(2,74%)	71	(97,26%)

R: Resistência Completa; P: Resistência Parcial; S: Ausência de resistência; (%): Prevalência de pacientes

TABELA 5 – Prevalências das mutações dos Inibidores de Protease

Mutações	N	(%)
L63P	43	(43,88%)
V82A	36	(36,73%)
L10I	34	(34,69%)
M36I	31	(31,63%)
L90M	22	(22,45%)
A71V	17	(17,35%)
I54V	17	(17,35%)
M46L	12	(12,24%)
K20R	11	(11,22%)
M46I	9	(9,18%)
L33F	6	(6,12%)
G73S	5	(5,10%)
I54L	5	(5,10%)
I84V	5	(5,10%)
L10V	3	(3,06%)
L24I	3	(3,06%)
A71T	2	(2,04%)
D30N	2	(2,04%)
F53L	2	(2,04%)
I50L	2	(2,04%)
I50V	2	(2,04%)
L10F	2	(2,04%)
K20M	1	(1,02%)
L10R	1	(1,02%)
N88D	1	(1,02%)
N88S	1	(1,02%)

N: Número de pacientes; F(%): Prevalência de pacientes

TABELA 6 – Prevalências das resistências aos Inibidores de Protease

ANTIRRETROVIRAIS	R	(%)	P	(%)	S	(%)
Amprenavir	35	(46,67%)	6	(8,00%)	34	(45,33%)
Amprenavir-r	23	(30,67%)	11	(14,67%)	41	(54,67%)
Atazanavir	35	(46,67%)	5	(6,67%)	35	(46,67%)
Atazanvir-r	30	(40,00%)	4	(5,33%)	41	(54,67%)
Darunavir	0	(0,00%)	0	(0,00%)	75	(100,0%)
Indinavir	42	(56,00%)	7	(9,33%)	26	(34,7%)
Indinavir-r	31	(41,33%)	6	(8,00%)	38	(50,67%)
Lopinavir	1	(1,33%)	0	(0,00%)	74	(98,7%)
Lopinavir-r	19	(25,33%)	10	(13,33%)	46	(61,33%)
Nelfinavir	42	(56,00%)	9	(12,00%)	24	(32,00%)
Ritonavir	39	(52,00%)	5	(6,67%)	31	(41,3%)
Saquinavir	40	(53,33%)	8	(10,67%)	27	(36,00%)
Saquinavir-r	30	(40,00%)	3	(4,00%)	42	(56,00%)
Tipranavir	0	(0,00%)	7	(9,33%)	68	(90,67%)
Tipranavir-r	0	(0,00%)	2	(2,67%)	73	(97,33%)

R: Resistência Completa; P: Resistência Parcial; S: Ausência de resistência; (%): Prevalência de pacientes

DISCUSSÃO

Em concordância com estudos realizados na América do Sul, em países como Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil, observamos uma prevalência superior do subtipo B aos demais subtipos do HIV-1 (14, 15, 16), porém, numa proporção relativamente menor. Esta comparação também pode ser realizada em nosso país: enquanto que subtipos não-B foram observados em até 29,3% (n=22) em nosso trabalho, em outras regiões como Sudeste, este valor chega a apenas 15% (17, 18) e outras regiões como Centro-Oeste, menos de 10% (19). Entretanto, em estudos do Rio Grande do Sul, os valores obtidos foram semelhantes aos nossos, tendo como o segundo mais prevalente, o subtipo C (20).

Em relação às mutações encontradas nos códons avaliados, nosso trabalho observou maior prevalência da mutação M184V (n=50, 58,6%), L63P (n=32, 43,9%), M41L (n=34, 38,6%), enquanto que estudos realizados no Sul, Sudeste e Nordeste do país relataram a mutação do gene 184 como sendo a mais prevalente, variando de 64 a 88% (10, 11, 21, 22). Relacionando a prevalência das mutações a resistência aos antirretrovirais, observou-se uma maior prevalência nas mutações ocorridas na região da Protease do que na Transcriptase Reversa, porém, houve uma maior prevalência da resistência aos Inibidores da Trancriptase Reversa (n=69, 92%), do que aos Inibidores de Protease (n=64, 85,4%).

Em se tratando dos ITRN, os estudos nacionais apontam que mutações que geram resistência a essa medicação estão em torno de 89,1% a 96,6% e em estudos internacionais entre 71 a 80% (23, 24, 25, 26); em nosso trabalho foi encontrado em 86,6% (n=65) dos pacientes. A mutação K65R associada aos ITRN que é pouco encontrado em pesquisas no nosso país apresentou em nosso trabalho uma prevalência de 13,6% (n=12), sendo superior aos estudos do Paraná, por exemplo, que apresentou uma prevalência inferior a 1% ou no Nordeste que apresentou a maior prevalência, de 5,9% (21, 22).

Estudos nacionais apontam que em torno de 55,4% a 67,7% dos pacientes apresentam alguma mutação na região da Transcriptase Reversa e, em estudos internacionais, entre 25% a 52% dos pacientes (21, 22, 24, 25, 26, 27); entretanto, encontramos em nossa pesquisa estas mutações em 90,7 % (n=68) dos pacientes. Nesses estudos nacionais, aponta-se as mutações nos códons 103 e 190 como as mais prevalentes nessa classe de ARV apresentando o nosso estudo as seguintes prevalências: K103N (n=25, 28,4%), A98G (n=11, 12,5%) e G190A (n=10, 11,4%).

Quando analisado os IP, observou-se em nosso estudo que 85,4% (n=64) dos pacientes apresentavam pelo menos uma mutação que conferia resistência a esta classe de ARV, semelhante ao estudo paranaense (90,3%) e bastante superior ao trabalho do Nordeste com 49,4%, apenas. Pesquisas nacionais também relataram o códon 90 como o mais prevalente enquanto, no nosso trabalho, quem apresentou maior prevalência foi o L63P encontrado em 43,88% (n=43) dos pacientes, sendo que o L90M o quinto de maior prevalência, nesta classe de ARV, sendo encontrado em 22,4% (n=22) dos pacientes (10, 11, 22, 23).

CONCLUSÃO

O teste de genotipagem demonstrou-se útil para mapear e identificar as principais mutações, assim como determinar o perfil de resistência dos antirretrovirais. Neste estudo, observou-se maior prevalência do subtipo B e C como relatado em demais pesquisas do Sul do país e também uma maior prevalência de mutação sobre a região da TR, destacando os ITRN, em concordância com a literatura pesquisada. As prevalências nas mutações tanto na região da Protease quanto da Transcriptase Reversa tiveram um pequeno número de dados em discordância aos encontrados em escala nacional, entretanto, de uma maneira geral, houve grande correlação com estes estudos e se comparados a achados internacionais (24, 25, 26, 27), encontrou-se valores bem superiores em relação ao número de mutações. Destacamos que faz-se necessário mais pesquisas para determinar o perfil genotípico e de resistência do vírus HIV-1 conforme a localidade, a fim de obter informações e compreender melhor a diversidade genética do vírus e assim poder optar por tratamentos antirretrovirais mais adequados conforme o perfil da região, evitando trocas desnecessárias, falhas terapêuticas e indução de resistência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Medeiros MS, Arruda EAG, Guerrant RL, Brown C, Hammarskjold M et al. Genotype testing and antiretroviral resistance profiles from HIV-1 patients experiencing therapeutic failure in northeast Brazil. Braz. J. Infect. Dis. 11, 2007;11(4):390-394.
2. Desgruttola V, Dix L, DAquila REA. The relation between baseline HIV drug resistance and response to antiretroviral therapy: reanalysis of retrospective and prospective studies using a standardized data analysis plan. Antivir Ther, 5, 2000. 41-48.
3. Demeter L, Haubrich R. Phenotypic and genotypic resistance assays: methodology, reliability, and interpretations. J Acquir Immune Defic Syndr. 2001;26(1):S3-9.
4. Hanna G, DAquila RT. Clinical use of genotypic and phenotypic drug resistance testing to monitor antiretroviral chemotherapy. Clin Infect Dis. 2001;32: 774-82.
5. Caride E, Hertogs K, Larder BEA. Genotypic and phenotypic evidence of different drug-resistance mutation patterns between B and non-B subtype isolates of human immunodeficiency virus type 1 found in Brazilian patients failing HAART. Virus Genes. 2001;26(1):193-202.
6. Meynard JL, Vray M, Morand-Joubert L, Race E, Descamps D, Peytavin G et al. Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. AIDS. 2002;16:727-36.
7. Tural C, ruiz L, Holtzer C, Schapiro J, Viciana P, González J et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. AIDS. 2002;16(2): 209-18.
8. Brindeiro RM, Diaz RS, Sabino EC, Morgado MG, Pires IL, Brigido L et al. Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. AIDS. 2003;17(7):1063-1069.

9. Cerqueira DM, Amorim RMS, Silva RR, Camara GNL, Brígido MM, Martins CRF.Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the Federal District, Central Brazil. Mem Inst Owsaldo Cruz. 2004;99(8):877-882.
10. Couto-Fernandez JC, Silva-de-Jesus C, Veloso VG, Rachid M, Gracie RSG, Chequer-Fernandez SL et al. Human immunodeficiency vírus type 1 genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutaions in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005;100(1):73-78.
11. Rodrigues R, Vazquez CMP, Colares JK, Custodio RM, Bonásse Filho F, Souza LR et al. Antiretroviral resistance mutations in human immunodeficiency vírus type 1 infected patients enrolled in genotype testing at the Central Public Health Laboratory, São Paulo, Brazil: preliminary results. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005; 100(1):97-102.
12. Shafer RW, Schapiro JM. HIV-1 drug resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART. AIDS Rev.2008;10:67-84.
13. Johnson VA, Brun-Vezinet F, Clotet B, Günthard HF, Kuritzkes DR, Pillay et al. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1: Spring 2008. Top HIV Med. 2008;16(1):62-8.
14. Avila MM, Pando MA, Carrion G, Peralta LM, Salomón H, Carrillo MG, et al. Two HIV-1 epidemics in Argentina: different genetic subtypes associated with different risk groups. J Acquir Immune Defic Syndr 2002; 29(4):422-26.
15. Montano SM, Sanchez JL, Laguna-Torres A, Cuchi P, Avila MM, Weissenbacher M et al. Prevalences, genotypes, and risk factors for HIV transmission in South America. J Acquir Immune Defic Syndr. 2005;40(1):57-64.
16. Lacerda HR, Medeiros LB, Cavalcanti AMS, Ximenes RAA, Albuquerque MFPM. Comparison of the epidemiology, profile of mutations, and clinical response to antiretrovirals among subtypes B and F of the human immunodeficiency virus type 1. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007:102(6):693-99.
17. Tanuri A, Swanson P, Devare S, Bero OJ, Sayedra A, Costa LJ et al. HIV-1 subtypes among blood donors from Rio de Janeiro, Brazil. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 1999;20:60-6.
18. Morgado MG, Sabino EC, Shpaer EG, et al. V3 region polymorphism in HIV-1 from Brazil: prevalence of subtype B strains divergent from the North American/European prototype and detection of subtypes F. AIDS Res Hum Retroviruses. 1994;10:569-75.
19. Morgado MG, Guimarães ML, Galvão-Castro B. HIV-1 polymorphism: a challenge for vaccine development - a review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002;97(2):143-150.
20. Baccin, T. Genotipagem do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 no Estado do Rio Grande do Sul: determinação da frequência dos subtipos e das mutações de resistência aos antiretrovirais em indivíduos sob falha terapêutica. Tese de Mestrado (2007). Porto Alegre, UFGRS.
21. Cavalcanti AM, Lacerda HR, Brito AM, Pereira S, Medeiros D, Oliveira S. 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.
22. Toledo PVM. Estudo epidemiológico do perfil genotípico do HIV-1 em adultos com falha virológica a anti-retrovirais no Paraná. Tese de Mestrado (2009). Curitiba, UFPR.
23. Sucupira ME. Antiretroviral treatment failure and HIV-1 genotypic resistance in São Paulo, Brazil. Antiviral Therapy. 2001;6:263-4.
24. Gallego O, Ruíz L, Vallejo A, Clotet B, Leal M, Soriano V. Rate of virological treatment failure and frequencies of drug resistance genotypes among human immunodeficiency virus-positive subjects on antiretroviral therapy in Spain. J Clin Microbiol 2002;40:3865-6
25. Violin M, Galli A, Corvasce S, Velleca R, Caramma I, Franzetti M et al. Study of antiretroviral resistance in treated patients with virological failure (START study): an Italian survey over the period 2003-2005. XV International HIV Drug Resistance Workshop; Sitges, Spain. Antivir Ther. 2006:S132.
26. Zazzi M, Corsi P, Gonnelli A, Di Pietro M, Giacometti A, Almi P et al. Evolution of the prevalence of HIV drug resistance patterns over 9 years of HAART and its relation with changes in the failing treatment regimens: an analysis of a large Italian database. XV International HIV Drug Resistance Workshop; Sitges, Spain. Antivir Ther. 2006:S137.
27. Tamalet C, Fantini J, Tourres C, Yahi N. Resistance of HIV-1 to multiple antiretroviral drugs in France: a 6-year survey (19972002) based on an analysis of over 7000 genotypes. AIDS. 2003;17:2383-8.

✉ Endereço para correspondência
Juliano Bruno Riella
Rua Coronel Feddersen, 133
89030-400 – Blumenau, SC – Brasil
☎ (47) 3323-2538 / (47) 9172-7615
julianoriella@hotmail.com

Recebido: 2/6/2011 – Aprovado: 28/7/2011