



**INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF. FERNANDO
FIGUEIRA -IMIP**

**PROGRAMA DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIBIC -
IMIP/CNPq - 2022/2023**

**RESISTÊNCIA AO TENOFOVIR E EMTRICITABINA EM PESSOAS
VIVENDO COM HIV-1, EM FALHA VIROLÓGICA, NO MARANHÃO:
AVALIAÇÃO DO IMPACTO DAS MUTAÇÕES DE RESISTÊNCIA DO
HIV-1 NAS MEDICAÇÕES UTILIZADAS PARA PROFILAXIA PRÉ-
EXPOSIÇÃO**

Matheus Alexandre Sobral Batista

RECIFE – PE

2023

**INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF. FERNANDO
FIGUEIRA - IMIP
PROGRAMA DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIBIC -
IMIP/CNPq - 2020/2021**

**RESISTÊNCIA AO TENOFOVIR E EMTRICITABINA EM
PESSOAS VIVENDO COM HIV-1, EM FALHA VIROLÓGICA, NO
MARANHÃO: AVALIAÇÃO DO IMPACTO DAS MUTAÇÕES DE
RESISTÊNCIA DO HIV-1 NAS MEDICAÇÕES UTILIZADAS
PARA PROFILAXIA PRÉ-EXPOSIÇÃO**

Artigo apresentado como relatório final do
Programa Institucional de Bolsas de Iniciação
Científica – CNPq/IMIP – 2022-2023

Orientador: Kledoaldo Oliveira de Lima

Aluno: Matheus Alexandre Sobral Batista

Colaboradores: Joshua Henrique de Melo Santos, Luiza Carneiro Leão Cavalcanti

RECIFE-PE

2023

Autores da pesquisa:

Matheus Alexandre Sobral Batista

Estudante do 8º período do curso de Medicina Faculdade Pernambucana de Saúde – FPS

Contato: (81) 9866-5930/ Email: matheus.alexandre.sobral@gmail.com

Joshua Henrique de Melo Santos

Estudante do 8º período do curso de Medicina Faculdade Pernambucana de Saúde – FPS

Contato: (87) 99988-1852/ Email:joshuahenriquesantos@gmail.com

Luiza Carneiro Leão Cavalcanti

Estudante do 8º período do curso de Medicina Faculdade Pernambucana de Saúde – FPS

Contato: (81) 9976-3600/ Email: luizacarneirol2903@gmail.com

Kledoaldo Oliveira de Lima

Doutor em Medicina Tropical pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Biomédico com especialização em Virologia, pesquisa em virologia molecular e clínica,
com colaboração interinstitucional entre UFPE, UFPE e UFMA

Contato: (81) 9976-6012/ Email: kledoaldo@gmail.com

Fontes de auxílio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CNPq

Os autores declaram ausência de conflito de interesse.

ARTIGO ORIGINAL

Resistência ao Tenofovir e Emtricitabina em Pessoas Vivendo com HIV-1, em Falha Viroológica, no Estado Do Maranhão: Avaliação do Impacto das Mutações de Resistência Do HIV-1 nas Medicções Utilizadas para Profilaxia Pré-Exposição

Tenofovir and Emtricitabine Resistance in People Living with HIV-1, in Virological Failure, in the State of Maranhão: Assessment of the Impact of HIV-1 Resistance Mutations on Pre-Exposure Prophylaxis Medications.

Matheus Alexandre Sobral Batista¹, Joshua Henrique Melo dos Santos¹, Luiza Carneiro Leão Cavalcanti¹, Kleodoaldo Oliveira de Lima¹

¹Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS). Av. Mal. Mascarenhas de Moraes, 4861, Recife - PE, Brasil. CEP: 51150-000

²Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, 1235. Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil. CEP: 50670-901.

RESUMO

Introdução: Determinar a frequência da resistência antirretroviral e das mutações primárias ao Tenofovir Disoproxil Furamato e a Emtricitabina, e realizar inferência filogenética em pessoas vivendo com HIV-1 que apresentam falha virológica, no estado do Maranhão no período correspondente aos anos 2008 a 2021.

Métodos: Consiste em um estudo de caráter transversal do tipo analítico que faz parte do projeto âncora intitulado “Análise do perfil genótipo de pacientes com falha terapêutica à anti-retrovirais no estado do Maranhão”.

Resultados: Resultados: De um conjunto de 339 amostras de sangue submetidas à análise de sequenciamento genético para avaliar a resistência aos antirretrovirais TDF e FTC, 264 (77,9%) apresentaram perfil de resistência ao TDF e/ou FTC. As maiores taxas de resistência foram observadas em relação ao FTC, atingindo 266 (66,7%) pacientes, enquanto a resistência ao TDF foi registrada em 37 (10,9%) pacientes. Além disso, aproximadamente 23 (6,8%) das amostras apresentaram resistência tanto ao TDF quanto ao FTC

Conclusão: O subtipo B apresentou maior expressão, representando 86,2%, entre as 339 amostras, tanto nos casos de resistência ao TDF quanto ao FTC. O sexo masculino foi predominantemente infectado pelo HIV-1, representando uma taxa de 62,8%. A frequência de indivíduos do sexo masculino vivendo com HIV/AIDS também foi maior na classe de resistência TDF e na classe de resistência FTC.

Palavras-chave: HIV; Fármacos anti-HIV; Síndrome da Imunodeficiência Adquirida; Profilaxia pré-exposição; Aplicações da Epidemiologia

ABSTRACT:

Objectives: To determine the frequency of antiretroviral resistance and primary mutations to Tenofovir Disoproxil Fumarate and Emtricitabine, and to perform phylogenetic inference in people living with HIV-1 experiencing virological failure in the state of Maranhão during the period from 2008 to 2021.

Methods: This is a cross-sectional analytical study that is part of the anchor project titled "Analysis of the genotype profile of patients with therapeutic failure to antiretrovirals in the state of Maranhão."

Results: Out of a set of 339 blood samples subjected to genetic sequencing analysis to assess resistance to the antiretrovirals TDF and FTC, 264 (77.9%) exhibited a resistance profile to TDF and/or FTC. The highest rates of resistance were observed in relation to FTC, affecting 266 (66.7%) of the patients, while resistance to TDF was recorded in 37 (10.9%) patients. Additionally, approximately 6.8% of the samples showed resistance to both TDF and FTC.

Conclusion: The subtype B exhibited higher expression, accounting for 86.2%, among the 339 samples, in both TDF and FTC resistance cases. The male gender was predominantly infected by HIV-1, representing a rate of 62.8%. The frequency of male individuals living with HIV/AIDS was also higher in the TDF resistance class and in the FTC resistance class.

KEYWORDS: HIV; Anti-HIV drugs; Acquired Immunodeficiency Syndrome; Pre-Exposure Prophylaxis; Epidemiology Applications.

INTRODUÇÃO

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é uma doença viral causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) que acometeu, em 2021, entre 1,1 milhão – 2 milhões de pessoas em todo o mundo¹. No Brasil, neste mesmo ano, foram registrados 40.880 novos casos diagnosticados de HIV². Dessa forma, com a finalidade de diminuir a transmissão do HIV-1, tem-se estimulado a prevenção combinada, que entre vários métodos, adota-se medicamentos antirretrovirais (ARV) para evitá-la³. Tais medicações têm diversas formas de utilização: a Terapia Antirretroviral (TARV), para o tratamento de indivíduos infectados pelo HIV⁴; a Profilaxia pós-exposição (PEP), em casos de exposição sexual ou a materiais biológicos possivelmente contaminados; e a Profilaxia pré-exposição (PrEP), como medida de prevenção em pessoas com alto risco de exposição ao HIV, mas que se encontram livres da infecção⁵. Entretanto, os ARV induzem sobre o vírus uma pressão seletiva, podendo estimular o desenvolvimento de resistência viral, principalmente em casos de má adesão terapêutica.

A PrEP oral é uma estratégia de prevenção do HIV oferecida gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde do Brasil (SUS) desde o final de 2017. Envolve a administração dos medicamentos tenofovir desoproxila (TDF) e emtricitabina (FTC) para pessoas não infectadas, mas em risco de contágio, como homens que fazem sexo com homens (HSH), população transgênera, profissionais do sexo e casais sorodiscordantes⁶. O estudo IPERGAY, realizado em 2017 com HSH em alto risco, demonstrou uma redução relativa de 86% no risco de infecção por HIV-1 com o uso da PrEP. No entanto, é importante mencionar que esse resultado pode ter sido influenciado pelo curto período de acompanhamento e pela alta adesão inicial⁷. Estudos anteriores (iPrEx de 2010) com HSH mostraram que a adesão à PrEP diária foi baixa, mas a eficácia aumentou em participantes com níveis detectáveis de tenofovir no sangue⁸. O estudo PROUD, em

2015, alertou sobre a geração de vírus resistentes a medicamentos como uma desvantagem da PrEP, especialmente em pacientes com infecção aguda no início do tratamento ⁹. Em um estudo com heterossexuais no Quênia e Uganda, o uso diário de TDF e TDF-FTC reduziu o risco de infecção por HIV-1 em 67% e 75%, respectivamente, quando combinado com outros serviços de prevenção. Ambos os medicamentos mostraram eficácia semelhante para homens e mulheres ¹⁰. Outro estudo, também realizado em Uganda, analisou que tanto o uso da PrEP diária e intermitente em casais sorodiscordantes para o HIV, verificou-se que a PrEP intermitente é aceitável e segura¹¹. Para usuários de drogas injetáveis, o TDF oral reduziu o risco de infecção por HIV em 48,9%, com a eficácia aumentando com maior adesão ao tratamento ^{12,13}.

Os primeiros dados presentes que avaliaram a eficácia da PrEP oral mostraram que a resistência ao TDF e FTC era baixa (3%). Porém foi visto que a resistência ao TDF e/ou FTC era consideravelmente mais frequente (41%) quando a PrEP era iniciada em casos de infecção aguda ainda não diagnosticada ¹⁴. Em 2022, aproximadamente 2,5 milhões de pessoas usaram PrEP mundialmente, representando apenas 7% da meta global até 2025 ¹⁵. Segundo relatório da UNAIDS, em 2010, foram detectadas aproximadamente 1,9 milhões de novas infecções por HIV, globalmente, em pessoas acima de 15 anos; em 2021, houve uma redução significativa para aproximadamente 1,3 milhões, uma redução de 31,5% ¹⁶. Mas, muito ainda precisa ser estudado e modificado para melhorar adesão do uso diário da PrEP oral e conscientização das populações com indicação do uso. Somado a isso, há necessidade de identificação de disparidades no acesso em segmentos mais vulneráveis socialmente. Em um estudo brasileiro que buscou avaliar conscientização e disposição para usar profilaxia pré-exposição (PrEP) entre HSH e mulheres transgênero, a amostra final do estudo era composta por 1187 indivíduos, sendo 95,3% homens e 4,7% mulheres trans. Destes, 728 participantes (61,3%) relataram estar

cientes da PrEP e 975 (82,1%) relataram que estariam dispostos a usá-la. A conscientização sobre a PrEP foi relatada com mais frequência entre indivíduos mais velhos, assim como entre aqueles que se auto identificam como brancos ou que possuem 12 anos ou mais de educação ¹⁸. Tal nível de conscientização sobre a PrEP observado é semelhante a estudos anteriores relatados com HSH/mulheres trans de diferentes regiões do mundo ^{19, 20, 21}.

Até 2021, segundo o relatório de resistência aos antirretrovirais da OMS, foram publicados relatórios sobre 348 soroconversão em 20.867 indivíduos que receberam prescrição de TDF + FTC (PrEP). É importante ressaltar que trinta e cinco soroconversão foram relatadas em indivíduos que iniciaram a PrEP durante a infecção aguda não diagnosticada. Entre eles, 18 de 35 (51%) apresentaram HIV-1 com mutações associadas à resistência ao TDF ou FTC (K65R e/ou M184I ou V). Trezentos e treze indivíduos se tornaram HIV positivos após iniciar a PrEP, desses, 19 de 313 (6%) apresentaram mutações associadas ao TDF e/ou FTC. Por esse motivo é tão importante a avaliação dessa resistência viral na possibilidade de falha terapêutica na PrEP e TARV, para que se previna e proteja a efetividade de ambos os usos de retrovirais ²². Atualmente, o Cabotegravir de ação prolongada (long-acting cabotegravir / CAB-LA) vem sendo estudado como opção de PrEP injetável, sendo aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 2022 ²³.

Sabe-se que a PrEP oral é segura e, assumindo uma adesão adequada, efetivamente previne o HIV em HSH e casais sorodiscordantes, também se mostrando eficaz em pessoas que usam drogas injetáveis. No entanto, estudos para avaliar a resistência antirretroviral do HIV-1 às medicações utilizadas na PrEP oral são escassos e, para nosso conhecimento, não há estudo específico referente ao tema realizado na Região

Nordeste do Brasil. Desta forma, este trabalho avaliou a frequência de mutações de resistência a medicações utilizadas na PrEP oral (tenofovir e emtricitabina) em pacientes em falha virológica no estado do Maranhão, com foco nos mecanismos de resistência, frequência e impacto na eficácia profilática.

MÉTODO

População e local de estudo

Trezentos e trinta e nove sequências do gene *pol* do HIV-1, de pacientes adultos em tratamento antirretroviral, foram selecionadas da pesquisa de Lima et al., (2020). As sequências foram geradas no Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Maranhão (LACEN/MA), Nordeste – Brasil, onde foram sequenciadas a partir de amostra de indivíduos submetidos à terapia antirretroviral e sob falha virológica, oriundos do Sistema Único de Saúde (SUS) do Ministério da Saúde do Brasil. As sequências correspondiam ao período de 2008 a 2017, com exceção do ano de 2010 do qual não foi possível a obtenção das mesmas. A amostragem foi de conveniência e adotou-se os seguintes critérios de inclusão: indicação para a realização do exame de genotipagem do HIV-1 devido à falha virológica e ser maior de 18 anos de idade. Indivíduos virgens de terapia antirretroviral foram excluídos da pesquisa. A análise genômica das sequências e de seus dados epidemiológicos foram realizados em colaboração com pesquisadores da Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS), do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) e do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal do Pará.

Sequenciamento do gene da polimerase (*pol*) do HIV-1

O sequenciamento da protease inteira (PR) e parte da transcriptase reversa (TR) do gene da polimerase (*pol*) do HIV-1 foi realizado pelo ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System (Abbott Laboratories, US) e TRUGENE® HIV-1 Genotyping Assay (Siemens

Diagnostics, US) e analisados pelos sequenciadores automáticos DNA ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems, US) e OpenGene[®] Sequencing System (Siemens Diagnostics, US), respectivamente. Todos os procedimentos metodológicos seguiram as instruções dos fabricantes. Fragmentos de 1029 bp (pares de bases) foram obtidos, englobando a protease e, aproximadamente, dois terços da transcriptase reversa, correspondendo às posições 2268 – 3291 da protease e transcriptase reversa relativa à cepa de referência HXB2 (número de acesso no Genbank: K03455). As sequências estão avaliadas no GenBank database com números de acesso MN971800-MN972432.

Análise filogenética

As sequências *pol* do HIV-1 foram primeiramente analisadas pelo REGA HIV-1 Subtyping Tool - Version 3.0 (dbpartness.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool/) para classificação preliminar do subtipo viral. O REGA é uma ferramenta de bioinformática que utiliza métodos filogenéticos para a determinação do subtipo em sequências específicas, através da metodologia de recombinação *bootscanning*, que envolve a construção de árvores *neighbor-joining* em partições dos fragmentos genéticos ao longo do alinhamento e a comparação destes fragmentos com sequências de referência.

Sequências de referências foram obtidas através do HIV *sequence database* do Los Alamos National Laboratory (<http://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/search/search.html>). Os alinhamentos, compostos pelas sequências do estudo e as sequências de referência obtidas nos bancos de dados supracitados, foram realizados pelo programa AliView (LARSSON, 2014), seguido de edição manual através do BioEdit software (HALL, 1999). Os modelos de substituição nucleotídica para cada alinhamento foram inferidos adotando-se os critérios da estatística de *Maximum Likelihood* com o *Bayesian Information Criterion*

(BIC) utilizando o programa MEGA versão 7 (KUMAR, STECHER & TAMURA, 2016), e o *General Time Reversible* com distribuição Gama e taxa de variação entre os sítios invariantes (GTR+G+I) foi o principal modelo evolutivo escolhido para os diversos alinhamentos.

As inferências filogenéticas foram realizadas a partir dos métodos de distância genética de *Neighbor-joining* (NJ) e o de máxima verossimilhança (*Maximum-likelihood* - ML) implementados no MEGA 7 e o suporte estatístico da topologia das árvores foram avaliados por 1000 replicatas (bootstrap). As árvores filogenéticas geradas puderam ser visualizadas no Figtree versão 1.4.3 (www.tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

Determinação dos clusters de transmissão de resistência antirretroviral (TDR)

Os *clusters* de transmissão de resistência antirretroviral ao TDF e FTC foram determinados nas árvores filogenéticas construídas para os subtipos B, F e C e os recombinantes BF, separadamente, nos ramos com alto suporte pelo “*approximate likelihood-ratio test*” (aLTR > 0.90) (CRISPIM et al., 2019).

Análise da resistência antirretroviral

Determinação de mutações de resistência ao HIV-1 ocorreu através da submissão das sequências do estudo à plataforma *on line* HIV Drug Resistance Database – Stanford University (<http://hivdb.stanford.edu>), empregando a lista das principais mutações de resistência ao HIV-1 (Major HIV-1 Drug Resistance Mutations) padronizada pelo Stanford HIV Database (<http://hivdb.stanford.edu/assets/media/resistance-mutation-handout-feb2019.b0204a57.pdf>).

Análise estatística

Os testes de Qui-quadrado de Pearson e exato de Fisher foram utilizados para comparações entre a frequência de mutações de resistência do HIV-1 e a drogas antirretrovirais. Dados foram analisados pelo EpiInfoTM versão 7.2.2.16.

Considerações éticas

Este estudo faz parte do projeto âncora: “Análise do perfil genótipo de pacientes com falha terapêutica à antirretrovirais no estado do Maranhão”; e obedeceu aos termos da Resolução 510/16 do Conselho Nacional de Saúde, havendo aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão (CEP-UFMA), com o número do Parecer: 3.663.458.

RESULTADOS

Resistência aos antirretrovirais e frequência dos subtipos do HIV – 1

Foram analisadas 339 sequências da região *pol* do HIV-1, de indivíduos em falha virológica, submetidos à TARV, com o propósito de avaliar a resistência aos antirretrovirais TDF e FTC, que são utilizados na Profilaxia Pré-Exposição (PrEP). No que diz respeito à faixa etária, observou-se um predomínio de pacientes infectados pelo HIV-1 na faixa etária de 34 a 45 anos, com uma mediana de 39 anos. O sexo masculino representou a maior frequência de indivíduos infectados pelo HIV-1 e em falha virológica (62.8%). Adicionalmente, o HIV-1 subtipo B obteve maior prevalência (86.2%), na população analisada, seguido pelos recombinantes BF (8.8%), subtipos F (3,8%), C (0,6%) e recombinantes BC (0,6%) (Tabela 1). Foram avaliadas a resistência aos antirretrovirais TDF e FTC, tanto de forma isolada quanto em combinação. Das sequências, 264 (77,9%) apresentaram perfil de resistência ao TDF e/ou FTC. As taxas mais elevadas de resistência estavam associadas ao FTC (n= 226, 66,7%), devido à alta frequência da mutação primária M184V. Trinta e sete sequências apresentaram resistência ao TDF (10.9%).

Quanto à resistência ao TDF, o subtipo mais frequente associado a esta condição foi o subtipo B (n= 35, 94.6%). O HIV-1 C e os recombinantes BF apresentaram apenas

uma sequência com resistência a tal fármaco. Em relação à FTC, observou-se uma diferença quanto à dispersão de suas mutações de resistência, visto que houve maiores proporções da mesma nos subtipos B, C e recombinantes BF.

Frequência das mutações de resistência

Os resultados destacaram as mutações de resistência associadas ao TDF e ao FTC, que pertencem à classe dos ITRN (Figura 1). As alterações genéticas mais prevalentes ligadas aos ITRN foram, em ordem decrescente de frequência: M184V, M41L, T215Y, L210W, T215F, K65R, K07E, Y115F e Q151M. Entre essas mutações, M41L foi a mais frequentemente observada em casos de resistência ao TDF. Quanto às mutações relacionadas à resistência ao FTC, destacaram-se K65R, Q151M e M184V. M184V foi a mutação mais frequentemente identificada em casos de resistência ao FTC. Nos casos de resistência simultânea ao TDF e FTC, as mutações mais comuns foram a M184V, K65R e Q151M, seguidas das M41L, T215Y, L210W, D67N (Tabela 2).

Análise filogenética

Análises filogenéticas foram realizadas utilizando métodos bioinformáticos para construir árvores filogenéticas que representam os subtipos do HIV-1 e os subtipos recombinantes. A análise filogenética dos recombinantes BF do HIV-1 é apresentada na Figura 2, enquanto a análise filogenética dos subtipos B, C e F é ilustrada na Figura 3. As linhas vermelhas correspondem a pessoas com resistência ao FTC, as linhas verdes representam sequências com resistência ao TDF, as linhas azuis indicam casos de resistência simultânea ao TDF e FTC, e as linhas pretas são sequências de referência. As áreas demarcadas em azul, que englobam várias linhas na árvore, representam clusters de transmissão, sugerindo a possível circulação do mesmo vírus em determinadas áreas geográficas (Figura 2, Figura 3).

DISCUSSÃO

Das 339 sequências genômicas do HIV-1 avaliadas quanto a resistência aos antirretrovirais TDF e FTC, 264 (77,9%) exibiram um perfil de resistência ao TDF e/ou FTC. As taxas mais elevadas de resistência foram observadas em relação ao FTC, afetando 226 (66,7%) dos pacientes, enquanto a resistência ao TDF foi registrada em 37 (10,9%) pacientes. Adicionalmente, aproximadamente 23 (6,8%) das amostras demonstraram resistência tanto ao TDF quanto ao FTC. No que diz respeito aos subtipos do HIV-1, o subtipo B foi o mais frequentemente identificado, abrangendo 86,2% das 339 amostras, tanto nos casos de resistência ao TDF quanto nos casos de resistência ao FTC. Recombinantes BF apresentaram a segunda maior frequência (n, 8,8%). No que concerne às mutações mais prevalentes aos ITRN, em ordem decrescente de frequência, destacam-se: M184V, M41L, T215Y, L210W, T215F, K65R, K07E, Y115F e Q151M. A mutação M41L foi a mais comum quando se tratava de resistência ao medicamento TDF, enquanto algumas mutações, como K65R e Q151M, conferem resistência tanto ao TDF quanto ao FTC. Adicionalmente, a mutação M184V foi a mais frequentemente observada quando se considerava a resistência ao FTC em particular. A análise filogenética revelou a existência de 21 clusters de transmissão, sendo 1 formado pelo recombinante BF e os demais pelos subtipos B, C e F do HIV-1, indicando a possível circulação de variantes virais relacionadas em áreas geográficas similares. No cluster formado pelo recombinante BF, foi encontrada resistência à FTC. Já nos clusters formados pelos subtipos B, C e F, foi encontrada uma alta resistência à FTC, seguida de resistência combinada a TDF+FTC e resistência ao TDF, respectivamente.

Em um estudo similar, foi avaliada a resistência transmitida a Tenofovir/Emtricitabina entre pessoas com infecção pelo HIV recém diagnosticada na cidade de Shenyang, nordeste da China, de 2016 a 2018. Foi um estudo retrospectivo de

epidemiologia molecular. Todos os residentes de Shenyang recém diagnosticados com HIV entre 2016 e 2018 foram incluídos neste estudo. Os resultados mostraram que a prevalência de resistência às drogas foi baixa e que há poucas conexões genéticas entre os casos, sugerindo que o impacto da resistência às drogas no projeto de PrEP em andamento na região é muito limitado. De forma geral, constatou-se que 4,9% das sequências analisadas neste estudo, apresentavam mutações associadas à resistência a medicamentos antirretrovirais inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleotídeo (ITRN). Dessas sequências, somente 0,6% (13 de 2167) demonstraram ser resistentes ao TDF/FTC. As mutações identificadas incluíram K65R (presente em 61,5% das 13 ocorrências), M184I/V (presente em 38,5% das 13 ocorrências) e Y115F (encontrada em 2 das 13 ocorrências). A mutação K65R é reconhecida por conferir uma elevada resistência ao Tenofovir (TDF) e uma resistência de nível intermediário à Emtricitabina (FTC), enquanto a mutação M184I/V confere uma resistência alta à FTC e Lamivudina (3TC) e uma resistência de nível baixo ao abacavir (ABC). Por sua vez, a mutação Y115F pode conferir uma resistência alta ao ABC, mas apenas uma resistência de nível baixo ao TDF. Entre os pacientes que apresentaram resistência ao TDF/FTC, 92,3% (12 de 13) eram do sexo masculino, com uma idade média de 33 anos (variando entre 25 e 50 anos). Sabe-se que 76,9% (10 de 13) eram homens que fazem sexo com homens (HSH)²⁵. Entretanto, diferentemente da nossa amostragem, estes autores avaliaram indivíduos virgens para TARV, dessa forma, era esperado essa menor frequência de resistência antirretroviral ao se comparar com indivíduos em falha virológica, como no nosso estudo.

Até o momento e conhecimento de produção desse trabalho, não há estudos no Brasil que testem diretamente a resistência da PrEP oral. Em um estudo realizado pela Universidade Federal do Ceará em 2015, dos 5469 pacientes que realizaram teste rápido

para HIV, 258 pacientes positivaram, entre eles, 108 amostras foram obtidas e sequenciadas. Dessas, 10 sequências apresentaram mutações que conferem resistência aos ITRN. Essas foram: D67N (n=1), T69D (n=1), V75A (n=1) e V75M (n=1). As mutações D67N e T69D foram detectadas no mesmo paciente. Nenhuma delas causam resistência ao TDF/ETC. Desses dez, nove indivíduos foram diagnosticados com o HIV-1 subtipo B, enquanto um apresentou o subtipo C. Sete eram do sexo masculino e três do sexo feminino ²⁶. Outro estudo, na região Nordeste do Brasil, demonstrou que o subtipo B foi a variante mais comum (78,5%), seguido dos subtipos F1 (6,7%) e recombinantes BF (6,5%). As mutações mais prevalentes relacionadas aos ITRNs compreenderam a 184V (79,1%), 41L (33,5%), 67N (30,4%), 215Y (24,6%), 70R (24,5%) e 210W (22,3%). Mutações adicionais apresentaram uma frequência inferior a 20% ²⁷.

Como limitações, avaliamos que este estudo teve o escopo reduzido a apenas um estado brasileiro. Além disso, o estudo foi realizado analisando a resistência viral em pacientes com falha terapêutica ao TARV em uso de ARV, sendo assim, a análise da resistência viral a PrEP foi obtida indiretamente isolando a resistência viral ao TDF e a FTC. Ainda não se sabe quais são os efeitos diretos que a resistência a esses ARV tem na prática clínica da PrEP. As implicações clínicas da resistência viral a TDF e FTC podem variar de acordo com diversos fatores, como a carga viral do paciente, a presença de mutações genéticas específicas e a resposta individual ao tratamento subsequente ²⁸. Portanto, a generalização dos resultados para a prática clínica deve ser feita com cautela, uma vez que ainda há lacunas no conhecimento, devido à escassez de estudos e sobre os desdobramentos dessas resistências. Pesquisas futuras podem expandir essas investigações para incluir uma gama mais ampla de pacientes e contextos, a fim de fornecer uma compreensão mais abrangente dessas complexas dinâmicas virais e terapêuticas.

A PrEP é uma excelente forma de profilaxia que deve ser utilizada e mais estudada em diferentes populações. A resistência ao TDF/FTC, até o presente momento, não contraindica seu uso, pelo contrário, reafirma o compromisso de uma prevenção combinada, como proposto pela OMS ²⁹. O presente estudo tem relevância com base na necessidade do monitoramento da resistência aos ARV, tendo em vista que a alta resistência a essas medicações pode colocar em risco a sua seguridade e seu uso, a resistência viral pode comprometer a eficácia da PrEP, tornando-a no menos eficaz na prevenção da infecção no futuro. Portanto, é crucial monitorar a resistência para garantir que a PrEP continue sendo uma ferramenta eficaz de prevenção. Outrossim, a PrEP não é apenas uma medida de saúde pública essencial, mas também está alinhada com o princípio da equidade do SUS em relação às populações mais afetadas pelo HIV. As populações mais afetadas pelo HIV muitas vezes incluem grupos marginalizados, como HSH, profissionais do sexo e pessoas transgênero. O monitoramento da resistência na PrEP é crucial para garantir que esses grupos tenham acesso igualitário a estratégias preventivas e eficazes ²⁹. O monitoramento da resistência contribui para a pesquisa contínua na área do HIV, o que pode levar ao desenvolvimento de medicamentos mais eficazes e estratégias de prevenção mais adaptadas às necessidades das populações mais afetadas, como é o caso do recente aprovado pela ANVISA: CAB-LA ³⁰. Isso faz com que os serviços estejam preparados para estabelecer estratégias preventivas e a detecção precoce da resistência viral pode ajudar a evitar a ampliação de cepas resistentes aos antivirais atuais e auxiliar os gestores de saúde a selecionar os medicamentos mais apropriados levando em consideração a situação epidemiológica. Visto que a entricitabina e o tenofovir também estão presentes, além da PrEP, no esquema terapêutico da TARV e a PEP, entender a resistência viral a esses fármacos é essencial para garantir sua efetividade e, quando necessário, elaborar novos esquemas de tratamento.

REFERÊNCIAS

1. UNAIDS Brasil. 2022. Folha informativa: HIV/AIDS no Brasil. [Internet]. São Paulo: UNAIDS Brasil; 27 de julho de 2022 [acesso em 3 de julho de 2023]. Disponível em: https://unaids.org.br/wp-content/uploads/2022/07/2022_07_27_Factsheet_PT.pdf
2. Ministério da Saúde (BR). Boletins Epidemiológicos. [Internet]. Brasília (DF): Ministério da Saúde (BR); 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/aids/pt-br/centrais-de-conteudo/boletins-epidemiologicos/2022>
3. Jackson-Best F, Edwards N. Stigma and intersectionality: a systematic review of systematic reviews across HIV/AIDS, mental illness, and physical disability. *BMC Public Health*. 2018 Jul 27;18(1):919. doi: 10.1186/s12889-018-5861-3.
4. Macdonald V, Mbuagbaw L, Jordan MR, Mathers B, Jay S, Baggaley R, Verster A, Bertagnolio S. Prevalence of pretreatment HIV drug resistance in key populations: a systematic review and meta-analysis. *J Int AIDS Soc*. 2020 Dec;23(12):e25656. doi: 10.1002/jia2.25656.
5. Powell VE, Gibas KM, DuBow J, Krakower DS. Update on HIV Preexposure Prophylaxis: Effectiveness, Drug Resistance, and Risk Compensation. *Curr Infect Dis Rep*. 2019 Jun 21;21(8):28. doi: 10.1007/s11908-019-0685-6.
6. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (BR). Relatório de recomendação: tenofovir associado a entricitabina (TDF/FTC) como profilaxia pré-exposição (PrEP) para populações de maior risco à infecção pelo HIV. [Internet]. Brasília (DF): Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (BR); 2017. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/relatorios/2017/recomendacao/relatorio_tenofovirentricitabina_prep_recomendacao_2017.pdf

7. Molina JM, Capitant C, Spire B, Pialoux G, Cotte L, Charreau I, Tremblay C, Le Gall JM, Cua E, Pasquet A, Raffi F, Pintado C, Chidiac C, Chas J, Charbonneau P, Delaugerre C, Suzan-Monti M, Loze B, Fonsart J, Peytavin G, Cheret A, Timsit J, Girard G, Lorente N, Préau M, Rooney JF, Wainberg MA, Thompson D, Rozenbaum W, Doré V, Marchand L, Simon MC, Etien N, Aboulker JP, Meyer L, Delfraissy JF; ANRS IPERGAY Study Group. On-Demand Preexposure Prophylaxis in Men at High Risk for HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 2015 Dec 3;373(23):2237-46. doi: 10.1056/NEJMoa1506273. Epub 2015 Dec 1.
8. Grant RM, Lama JR, Anderson PL, McMahan V, Liu AY, Vargas L, Goicochea P, Casapia M, Guanira-Carranza JV, Ramirez-Cardich ME, Montoya-Herrera O, Fernández T, Veloso VG, Buchbinder SP, Chariyalertsak S, Schechter M, Bekker LG, Mayer KH, Kallás EG, Amico KR, Mulligan K, Bushman LR, Hance RJ, Ganoza C, Defechereux P, Postle B, Wang F, McConnell JJ, Zheng JH, Lee J, Rooney JF, Jaffe HS, Martinez AI, Burns DN, Glidden DV; iPrEx Study Team. Preexposure chemoprophylaxis for HIV prevention in men who have sex with men. *N Engl J Med*. 2010 Dec 30;363(27):2587-99. doi: 10.1056/NEJMoa1011205. Epub 2010 Nov 23.
9. McCormack S, Dunn DT, Desai M, Dolling DI, Gafos M, Gilson R, Sullivan AK, Clarke A, Reeves I, Schembri G, Mackie N, Bowman C, Lacey CJ, Apea V, Brady M, Fox J, Taylor S, Antonucci S, Khoo SH, Rooney J, Nardone A, Fisher M, McOwan A, Phillips AN, Johnson AM, Gazzard B, Gill ON. Pre-exposure prophylaxis to prevent the acquisition of HIV-1 infection (PROUD): effectiveness results from the pilot phase of a pragmatic open-label randomised trial. *Lancet*. 2016 Jan 2;387(10013):53-60. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00056-2.
10. Baeten JM, Donnell D, Ndase P, Mugo NR, Campbell JD, Wangisi J, Tappero JW, Bukusi EA, Cohen CR, Katabira E, Ronald A, Tumwesigye E, Were E, Fife KH,

- Kiarie J, Farquhar C, John-Stewart G, Kacia A, Odoyo J, Mucunguzi A, Nakku-Joloba E, Twesigye R, Ngure K, Apaka C, Tamoo H, Gabona F, Mujugira A, Panteleeff D, Thomas KK, Kidoguchi L, Krows M, Revall J, Morrison S, Haugen H, Emmanuel-Ogier M, Ondrejcek L, Coombs RW, Frenkel L, Hendrix C, Bumpus NN, Bangsberg D, Haberer JE, Stevens WS, Lingappa JR, Celum C; Partners PrEP Study Team. Antiretroviral prophylaxis for HIV prevention in heterosexual men and women. *N Engl J Med*. 2012 Aug 2;367(5):399-410. doi: 10.1056/NEJMoa1108524.
11. Kibengo FM, Ruzagira E, Katende D, Bwanika AN, Bahemuka U, Haberer JE, Bangsberg DR, Barin B, Rooney JF, Mark D, Chetty P, Fast P, Kamali A, Priddy FH. Safety, adherence and acceptability of intermittent tenofovir/emtricitabine as HIV pre-exposure prophylaxis (PrEP) among HIV-uninfected Ugandan volunteers living in HIV-serodiscordant relationships: a randomized, clinical trial. *PLoS One*. 2013 Sep 26;8(9):e74314. doi: 10.1371/journal.pone.0074314.
 12. Choopanya K, Martin M, Suntharasamai P, Sangkum U, Mock PA, Leethochawalit M, Chiamwongpaet S, Kitisin P, Natrujirote P, Kittimunkong S, Chuachoowong R, Gvetadze RJ, McNicholl JM, Paxton LA, Curlin ME, Hendrix CW, Vanichseni S; Bangkok Tenofovir Study Group. Antiretroviral prophylaxis for HIV infection in injecting drug users in Bangkok, Thailand (the Bangkok Tenofovir Study): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2013 Jun 15;381(9883):2083-90. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61127-7.
 13. O Murchu E, Marshall L, Teljeur C, Harrington P, Hayes C, Moran P, Ryan M. Oral pre-exposure prophylaxis (PrEP) to prevent HIV: a systematic review and meta-analysis of clinical effectiveness, safety, adherence and risk compensation in all populations. *BMJ Open*. 2022 May 11;12(5):e048478. doi: 10.1136/bmjopen-2020-048478.

14. Parikh UM, Mellors JW. Should we fear resistance from tenofovir/emtricitabine preexposure prophylaxis? *Curr Opin HIV AIDS*. 2016 Jan;11(1):49-55. doi: 10.1097/COH.0000000000000209. PMID: 26633640; PMCID: PMC4970748.
15. Liegeon G, Ghosn J. Long-acting injectable cabotegravir for PrEP: A game-changer in HIV prevention? *HIV Med*. 2023 Jun;24(6):653-663. doi: 10.1111/hiv.13451.
16. UNAIDS Brasil. Dados Globais para o HIV. [Internet]. São Paulo: UNAIDS Brasil; 2022. Disponível em: <https://unaids.org.br/wp-content/uploads/2022/07/Dados-Globais-para-o-HIV.jpeg>
17. Jalil EM, Torres TS, Luz PM, Monteiro L, Moreira RI, de Castro CRV, Leite IDC, Cunha M, de Cássia Elias Estrela R, Ramos M, Hoagland B, Wagner Cardoso S, Anderson P, Veloso VG, Wilson E, Grinsztejn B; PrEPParadas Study Team. Low PrEP adherence despite high retention among transgender women in Brazil: the PrEPParadas study. *J Int AIDS Soc*. 2022 Mar;25(3):e25896. doi: 10.1002/jia2.25896.
18. Hoagland B, De Boni RB, Moreira RI, Madruga JV, Kallas EG, Goulart SP, Cerqueira N, Torres TS, Luz PM, Fernandes NM, Liu AY, Grinsztejn B, Veloso VG; PrEP Brasil Study Team. Awareness and Willingness to Use Pre-exposure Prophylaxis (PrEP) Among Men Who Have Sex with Men and Transgender Women in Brazil. *AIDS Behav*. 2017 May;21(5):1278-1287. doi: 10.1007/s10461-016-1516-5.
19. Bil JP, Davidovich U, van der Veldt WM, Prins M, de Vries HJ, Sonder GJ, Stolte IG. What do Dutch MSM think of preexposure prophylaxis to prevent HIV-infection? A cross-sectional study. *AIDS*. 2015 May 15;29(8):955-64. doi: 10.1097/QAD.0000000000000639.
20. Cohen SE, Vittinghoff E, Bacon O, Doblecki-Lewis S, Postle BS, Feaster DJ, Matheson T, Trainor N, Blue RW, Estrada Y, Coleman ME, Elion R, Castro JG, Chege W, Philip SS, Buchbinder S, Kolber MA, Liu AY. High interest in preexposure

- prophylaxis among men who have sex with men at risk for HIV infection: baseline data from the US PrEP demonstration project. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015 Apr 1;68(4):439-48. doi: 10.1097/QAI.0000000000000479.
21. Yang D, Chariyalertsak C, Wongthanee A, Kawichai S, Yotruean K, Saokhieo P, Guadamuz T, Suwanvanichkij V, Beyrer C, Chariyalertsak S. Acceptability of pre-exposure prophylaxis among men who have sex with men and transgender women in Northern Thailand. *PLoS One*. 2013 Oct 8;8(10):e76650. doi: 10.1371/journal.pone.0076650.
22. World Health Organization (WHO). Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. [Internet]. Geneva: World Health Organization (WHO); 2016. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240038608>
23. Fiocruz. Unitaid e Fiocruz vão implementar PrEP injetável contra o HIV no Brasil. [Internet]. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2023. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/unitaid-e-fiocruz-vao-implementar-prep-injetavel-contra-o-hiv-no-brasil>
24. Tang MW, Shafer RW. HIV-1 antiretroviral resistance: scientific principles and clinical applications. [PDF]. Stanford HIV Drug Resistance Database. Disponível em: <https://hivdb.stanford.edu/pages/pdf/Tang.CID.2012.pdf>. Publicado em 2012.
25. Wang, Z., Zhao, B., An, M. *et al*. Transmitted drug resistance to Tenofovir/Emtricitabine among persons with newly diagnosed HIV infection in Shenyang city, Northeast China from 2016 to 2018. *BMC Infect Dis* **21**, 668 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06312-3>
26. Mello, LMS. Caracterização da resistência transmitida e variabilidade genética do HIV-1 em pacientes recém-diagnosticados atendidos no Centro de Testagem e

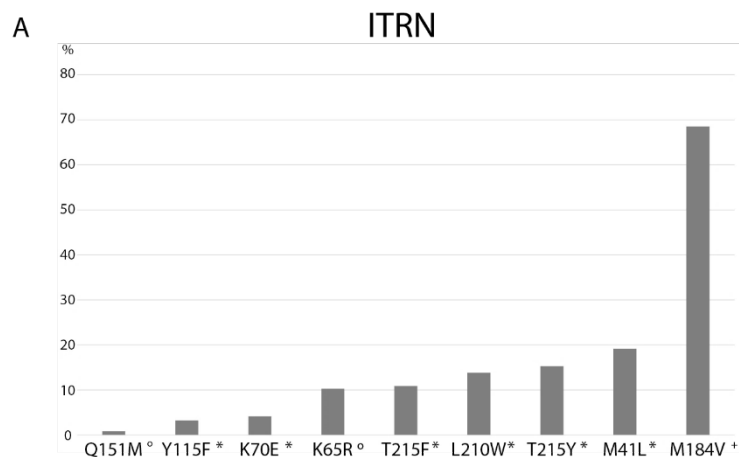
- Aconselhamento (CTA) em Fortaleza [Internet]. 2015. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/60781/1/2015_dis_lmsmello.pdf
27. Oliveira AW de, Brites C. Geolocalization of HIV-1 subtypes and resistance mutations of patients failing antiretroviral therapy in Salvador - Brazil. *Braz J Infect Dis* [Internet]. 2017. 21(3):234-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.02.006>
28. Clutter DS, Jordan MR, Bertagnolio S, Shafer RW. HIV-1 drug resistance and resistance testing. *Infect Genet Evol.* 2016 Dec;46:292-307. doi: 10.1016/j.meegid.2016.08.031. Epub 2016 Aug 29. PMID: 27587334; PMCID: PMC5136505.
29. Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Profilaxia Pré-Exposição (PrEP) de Risco à Infecção pelo HIV. Biblioteca Virtual em Saúde - Ministério da Saúde; https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_profilaxia_prep.pdf. Acessado em 20 de setembro de 2023.
30. ANVISA. Apretude (cabotegravir) - Novo registro [Internet]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/novos-medicamentos-e-indicacoes/apretude-r-cabotegravir-novo-registro>. Acesso em 20 de setembro de 2023.

Tabela 1. Resistência aos antirretrovirais Tenofovir e/ou Emtricitabina de acordo com gênero, subtipos do HIV-1 e idade¹

	Total (%) N = 339	TDF (%) N = 37	FTC (%) N = 226	TDF + FTC N = 23
Gênero				
Homens	213 (62,8)	23 (62,2)	141 (62,4)	15 (65,2)
Mulheres	126 (37,2)	14 (37,8)	85 (37,6)	8 (34,8)
Subtipos do HIV-1				
B	292 (86,2)	35 (94,6)	196 (86,7)	22 (95,6)
C	2 (0,6)	1 (2,7)	0 (0)	0 (0)
F	13 (3,8)	0 (0)	6 (2,7)	0 (0)
Recombinantes BF	30 (8,8)	1 (2,7)	24 (10,6)	1 (4,3)
Recombinantes BC	2 (0,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Idade*				
Mediana (Quartis)	39 (34 – 45)	40 (37 – 43)	39 (34 – 46)	40 (35,5 – 44,5)

*Foi calculada a mediana das idades e percentis 25 e 75. As sequências de resistência TDF+FTC também foram citadas como sequências de resistência, de forma individual nos grupos TDF e FTC.

Figura 1. Frequência das mutações de resistência relacionadas ao tenofovir e emtricitabina.



* representa as mutações de resistência relacionadas ao TDF; +mutações de resistência à FTC; ° mutações de resistência ao TDF e FTC.

Tabela 2. Mutações das sequências do HIV-1 associadas à resistência ao TDF e à FTC identificadas em indivíduos com resistência ambos antirretrovirais

ID_WHO	Subtipo	Gênero	Idade	Mutações de resistência da Transcriptase Reversa
09BR_MA026	B	Masculino	45	M184V ; M41L; L210W; T215Y; D67N
09BR_MA032	B	Masculino	43	M184V ; M41L; L210W; T215Y; D67N; D67G; K74I; V75T; 219Q
09BR_MA038	B	Feminino	36	M184V ; L210W; T215Y; D67E; L74I; K103N; K219N
09BR_MA292	B	Masculino	49	M184V ; M41L; L210W; T215Y; L74I; V75T; K103N; K219N; M230L
11BR_MA167	B	Feminino	44	M184V ; K65R ; Q151M ; M41L; V75M; F77L; K103N; T215D; P225H
11BR_MA171	B	Masculino	39	M184V ; M41L; L210W; T215Y; D67N; T69D; L74V; Y181C; G190A
12BR_MA121	B	Masculino	52	M184V ; M41L; K70R; T215F; D67N; T69D; L74I; K101E; Y181C; G190S; K219Q
12BR_MA123	B	Masculino	31	M184V ; M41L; L210W; T215Y; D67G; V75M; F77L, Y188L
12BR_MA304	B	Masculino	42	K65R ; M184V ; Y115F

13BR_MA154	B	Feminino	43	K65R, M184V ; Y115F
13BR_MA208	B	Masculino	52	K65R, M184V; Q151M ; F77L; F116Y; K219Q; Y115F
13BR_MA210	B	Masculino	34	M184V ; M41L; L210W; T215Y; D67N; V70R; V75M; K219E
13BR_MA489	B	Masculino	37	M184V ; D67N; V75M; K103S; G190S; K219E; M41L; K70R; L210W; T215Y
14BR_MA460	B	Masculino	35	M184V ; M41L; L210W; T215Y; D67N; V75M; K101E; G190A
15BR_MA015	B	Masculino	38	M184V; K65R ; Y115F; L100I; K103N; P225H
15BR_MA017	B	Feminino	40	M184V; K65R ; K70E; L100I; K103N; P225H
15BR_MA044	B	Masculino	21	M184V ; M41L; L210W; T215Y; D67N; K103N; K219E
15BR_MA075	B	Feminino	49	M184V; K65R ; V75T; K219Q; M41L
15BR_MA200	B	Feminino	34	M184V; K65R ; K103N; G190A
15BR_MA247	B	Masculino	25	M184V; K65R ; Y115F; L74I; L100I; K103N
16BR_MA10567	BF	Feminino	67	K65R; M184V ; T215FIS
16BR_MA11465	B	Masculino	43	M184V ; D67N, V75M, K103N, P225H; M41L, L210W, T215Y
16BR_MA11469	B	Feminino	38	K65R; M184V ; Y115F; K103S; V106M; G190A

Em negrito estão destacadas as mutações que induzem queda da suscetibilidade da cepa ao fármaco; na fonte simples estão as mutações que reduzem a suscetibilidade aos fármacos quando há presença de outras mutações.

Figura 2. Análise filogenética dos Recombinantes BF do HIV-1, denotando um cluster de transmissão (sublinhado em azul), sequências com resistência à FTC (linha vermelha) e TDF+FTC (azul). Sequências de referência estão em preto.

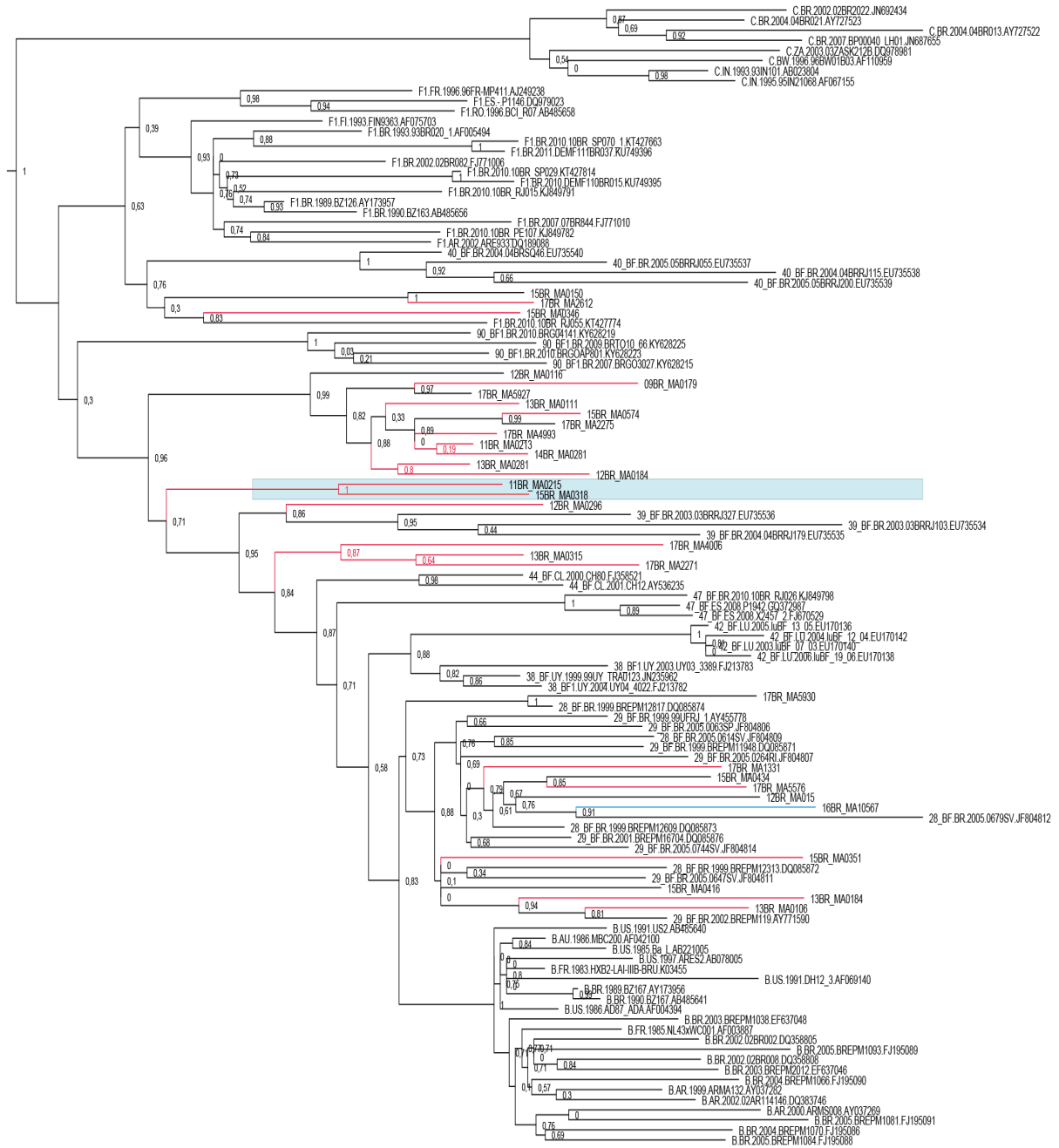


Figura 3. Análise filogenética dos subtipo B, F e C do HIV-1, denotando um cluster de transmissão (sublinhado em azul), sequências com resistência à FTC (linha vermelha), TDF (verde) e TDF+FTC (azul). Sequências de referência estão em preto.

