

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE SANTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU E PESQUISA EM
SAÚDE COLETIVA

RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E DIVERSIDADE GENÉTICA DO VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV-1), EM AMOSTRAS DE PACIENTES QUE
INICIARAM TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL (HAART) NO MUNICÍPIO DE
ITANHAEM - ESTADO DE SÃO PAULO, 2009 – 2011.

WELLINGTON DIAS

SANTOS – SÃO PAULO

2012

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE SANTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU E PESQUISA EM
SAÚDE COLETIVA

RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E DIVERSIDADE GENÉTICA DO VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV-1), EM AMOSTRAS DE PACIENTES QUE
INICIARAM TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL (HAART) NO MUNICÍPIO DE
ITANHAEM - ESTADO DE SÃO PAULO, 2009 – 2011.

WELLINGTON DIAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu e pesquisa em saúde coletiva Da Universidade Católica de Santos como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Saúde Coletiva.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Olavo Pinto da
Costa

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Montani Caseiro

SANTOS – SÃO PAULO

2012

Dados Internacionais de Catalogação
Sistema de Bibliotecas da Universidade Católica de Santos
SIBIU

D541r Dias, Wellington

Resistência primária e diversidade genética do vírus da imunodeficiência humana (hiv-1), em amostras de pacientes que iniciaram tratamento antirretroviral (haart) no município de itanhaem - estado de São Paulo, 2009 – 2011. Wellington Dias;

Orientador. Sérgio Olavo Pinto da Costa - Santos : [s.n.], 2013.

89 f.; 30 cm. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Católica de Santos, Programa de Mestrado em Saúde Coletiva.

1. Diversidade genética do vírus da imunodeficiência humana (hiv-1). I. Sérgio Olavo Pinto da Costa. II. Resistência primária e diversidade genética do vírus da imunodeficiência humana (hiv-1), em amostras de pacientes que iniciaram tratamento antirretroviral (haart) no município de itanhaem - estado de são paulo, 2009 – 2011.

CDU 614(043.3)

**RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E DIVERSIDADE GENÉTICA DO VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV-1), EM AMOSTRAS DE PACIENTES QUE
INICIARAM TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL (HAART) NO MUNICÍPIO DE
ITANHAEM - ESTADO DE SÃO PAULO, 2009 – 2011.**

Orientador: Prof. Dr. Sergio Olavo Pinto da Costa

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sergio Olavo Pinto da Costa - orientador

Prof. Dr. Luiz Alberto Amador Pereira – Universidade Católica de Santos

Prot. Dr. Dercy Jose de Sá – Universidade Lusíada

Aos meus pais Carmen e Sebastião(*in memoriam*)
Aos meus filhos,
a minha esposa e
ao meu Deus onde se encontra todo o conhecimento.

Agradecimento:

Aos meus pais Sebastião e Carmen que desde cedo mesmo com poucos recursos sempre me apoiaram nos estudos e buscar em primeiro lugar a Deus.

Em todos os momentos se fez presente, Juliene, muito obrigado, como esposa amiga e companheira.

Aos meus filhos Sara e Jonas as minhas inspirações em buscar as coisas impossíveis.

A todos do Laboratório Municipal de Itanhaem pela paciência e por entenderem sempre as minhas ausências como diretor.

Aos funcionários do Centro de Infectologia de Itanhaem (CINI) que acreditaram em mim e contribuíram grandemente com este projeto.

A todos da secretaria municipal de Itanhaem que aguardaram ansiosamente por esta conquista, agradeço a todos em nome da “Cida da vigilância,” muito obrigado.

Aos meus professores orientadores, pelo incentivo e sabedoria ao me acompanhar neste percurso. Muito obrigado Professor Sergio Olavo e Professor Marcos Caseiro.

RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E DIVERSIDADE GENÉTICA DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV-1), EM AMOSTRAS DE PACIENTES QUE INICIARAM TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL (HAART) NO MUNICÍPIO DE ITANHAEM - ESTADO DE SÃO PAULO, 2009 – 2011.

RESUMO

Introdução: A utilização da genotipagem viral como instrumento para o tratamento dos pacientes HIV positivo é relevante para rever as políticas de saúde concernentes a dispensação de antiretrovirais e contribuir para o mapeamento da frequência do subtipo do vírus do HIV na região.

Objetivo: Identificar e caracterizar a diversidade genética e a resistência primária do HIV-1 aos agentes antirretrovirais no município de Itanhaém, em pacientes em início de tratamento.

Método: Estudo Transversal utilizando 50 amostras. Após a extração e transcrição do RNA foi realizada a Reação em Cadeia da Polimerase em primers(K1, K2, DP10, F2) que produziu fragmentos de 1200 pares de bases, identificados no gel de agarose. Após a purificação dos produtos da PCR, os fragmentos foram submetidos à reação de seqüenciamento. A diversidade genética foi analisada no banco de dados HIV drug resistance database (Stanford). As variáveis qualitativas foram apresentadas através de valores absolutos e relativos. As variáveis quantitativas foram apresentadas através dos seus valores de tendência central e de dispersão.

Resultados: Das 50 amostras, 25 foram amplificadas para análise da diversidade genética, 13(52%) feminino e 12(48%) masculino. Sendo 11(44%) identificadas com mutação na transcriptase reversa com alto nível de resistência ao efavirez e 7(28%) apresentando mutações na protease com baixo nível de resistência. Foram encontrados 4(16%) recombinantes do subtipos F/B.

Conclusão: A resistência adquirida no município de Itanhaém foi de 52 % nas amostras analisadas. A resistência primária predominante foi aos ITRNN- 11 (44 %); ITRN -1 (4 %) e aos IP -1 (4 %) e 1 (4 %) caso de resistência a dois grupos ITRNN e ITRN . Em vista disto as políticas de saúde devem considerar que a genotipagem

é um instrumento que deve ser oferecido regionalmente conforme o perfil epidemiológico da doença de cada município, possibilitando o estudo do subtipo do vírus mais freqüente na região afim de utilizar as drogas mais eficientes para a terapia antirretroviral.

Palavras chaves: Resistência primária HIV 1, Antirretrovirais, Genotipagem do HIV.

PRIMARY RESISTANCE AND GENETIC DIVERSITY OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS (HIV-1) IN SAMPLES COLLECTED FROM PATIENTS AT EARLY STAGE OF ANTIRETROVIRAL TREATMENT (HAART) IN THE CITY OF ITANHÉM - STATE OF SÃO PAULO, FROM 2009 TO 2011.

Introduction: The use of viral genotyping as a tool for the treatment of HIV positive patients is relevant to review health policies concerning the dispensing of antiretrovirals and contribute to mapping the frequency of HIV virus subtypes in our region.

Objective: To identify and characterize the genetic diversity and primary resistance to HIV-1 antiretroviral agents in the city of Itanhaem in patients at early stage of treatment .

Methods: Cross-sectional study using 50 samples. After extraction and RNA transcription Polymerase Chain Reaction was performed with primers (K1, K2, DP10, F2) which produced fragments of 1200 bp, identified in agarose gel. After purification of PCR products, the fragments were subjected to sequencing reaction. Genetic diversity was analyzed through the comparison to the Stanford HIV drug resistance database . Qualitative variables were presented as absolute and relative values. Quantitative variables were presented through their values of central tendency and dispersion.

Results: Among the 50 samples, 25 were amplified for analysis of genetic diversity, obtaining results in 13 (52%) female patients and 12 (48%) male patients. Eleven patients (44%) presented mutation in reverse transcriptase with high-level resistance to efavirenz, zidovudine and 7 patients (28%) presented mutations in the protease with low resistance. Four (16%) recombinant subtypes F / B were found.

Conclusion: In the city of Itanhém 52% of the analyzed samples presented acquired resistance. The predominant primary resistance was to NNRTI (11 patients, representing 44%) group; One patient (4%) was found resistant to NRTI group. One patient (4%) was resistant to IP 1 group and one patient (4%) presented resistance to both NRTI and NNRTI groups. We conclude that health policies should be implemented considering genotyping as a tool to be offered regionally, respecting the epidemiologic aspects of the disease in each city. A major

research concerning the most common subtype of the virus should be taken in our region, in order to determine the most effective drugs for antiretroviral therapy

Keywords: Primary Resistance of HIV-1, Anti Retroviral, HIV genotyping.

SUMÁRIO

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES	13
LISTAS DE ABREVIATURA, SIGLAS E SÍMBOLOS	14
1. INTRODUÇÃO	16
1.1. O agente etiológico	16
1.2. Classificação dos retrovírus	18
1.3. Estrutura do HIV	19
1.4. Organização genômica	21
1.5. Origem, evolução e diversidade	23
1.6. Subtipos do HIV-1	25
1.7. Classificação dos subtipos do HIV-1	26
1.8. Transmissão de variantes HIV-1 resistentes a drogas antirretrovirais.	34
1.8.1. Primeiras referências	34
1.8.2. Tendências atuais da prevalência de infecção recente	36
1.8.3. Resistência primária do HIV-1 no Brasil	38
2. OBJETIVOS	41
2.1. Objetivo geral	41
2.2. Objetivo específico	41
3. MATERIAL E MÉTODO	42
3.1. População estudada	42
3.2. Casuística	42
3.3. Critério de inclusão	43
3.4. Critérios de exclusão	43

3.5.1. Análise genética das amostras	44
3.5.2 Extração do RNA	44
3.5.3 Reação em Cadeia da Polimerase	44
3.5.4. Eletroforese em gel de agarose	45
3.5.5. Sequenciamento dos produtos da PCR	45
3.5.6. Análise da diversidade genética	46
3.6. Análise estatística	46
4. RESULTADOS	47
5. DISCUSSÃO	54
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXO 1 – Fluxograma para diagnóstico sorológico do HIV.	64
ANEXO 2 – Resultados das análises do banco de dados <i>HIV drug resistance database (Stanford)</i>.	65

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Estrutura do HIV-1, representação esquemática do HIV.	22
Figura 2	Relação evolucionária entre cepas do HIV-1 não recombinantes de linhagens do HIV-1/SIVcpz,.	28
Figura 3	Representação esquemática das complexas estruturas genômicas em mosaico. Formas Recombinantes Circulantes (CRFs).	32
Figura 4	Distribuição dos Subtipos e CRFs no mundo.	32
Quadro 1	Classificação dos Retrovírus.	18
Quadro 2	Sumário das formas recombinante circulante (CRF) do HIV-1 grupo M.	31
Quadro 3	Distribuição geográfica dos subtipos de HIV-1 mais prevalente nos continentes, europeus, asiáticos e africanos.	34
Quadro 4	Mudanças na prevalência de resistência em indivíduos recentemente infectados pelo HIV.	36
Quadro 5	Prevalência de resistência em pacientes com infecção aguda ou recente pelo HIV.	38
Quadro 6	Estudos sobre resistência primária conduzida no Brasil.	39
Quadro 7	Resistência genotípica primária em indivíduos recém infectados, no município de Santos, SP.	40

LISTA DE ABREVIATURA, SIGLAS E SIMBOLOS

μ l	Microlitros
ABC	Abacavir
Aids	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AIEDRP	Programa de pesquisa de Infecção aguda
ATR	Terapia Antirretroviral
ARV	Antirretrovirais
AZT	Zidovudina
cDNA	DNA complementar
CINI	Centro de Infectologia de Itanhaem
Cpz	Chimpanzés
CRF	Formas Recombinantes
d4T	Estavudina
DNA	Acido Desoxirribonucleico
DST/AIDS	Doença Sexualmente Transmissíveis/ Aids
EFV	Efavirenz
Env	Envelope
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
gp	Glicoproteica
	Terapia Antirretroviral Altamente Ativa
HAART	Terapia Antirretroviral Altamente Ativa
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HIV-1	Vírus da Imunodeficiência Humana tipo I
HIV-2	Vírus da Imunodeficiência Humana tipo II
IC ₅₀	Concentração Inibidora
Kb	Quilo, pares de bases
MA	Matriz
Mm	Milimolar
mm ³	Milímetro Cúbico
MMTV	Vírus de Tumores Mamários de Murídeos
NIH	Vírus de Tumores Mamários de Murídeos
Nm	Nanômetro

NNRTI	Inibidor não nucleosídico da transcriptase reversa
NPV	Nevirapina
NRTI	Inibidor nucleosídico da transcriptase reversa
°C	Graus centígrados
Pb	Pares de Bases
PCR	Reação de Cadeia Polimerase
PI	Inibidor da Protease
PN	Programa Nacional
PR	Protease
Ver	Regulador da expressão da proteína viral
RNA	Acido Ribonucleico
RNAs	Acido Ribonucleico(rRNA,mRNA,tRNA)
RT	Transcriptase Reversa
RTI	Inibidores da Transcriptase Reversa
RT-PCR	Reação de Cadeia mediada pela polimerase precedida de transcriptase reversa
SAE	Serviço de Ambulatorial Especializado
SIV	Vírus da Imunodeficiência de Símios
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSCD	Site Stripping for Clock Detection
TARV	Terapia antirretroviral
Tat	Proteína de Transativação
TBE	Tris, Acido Bórico, EDTA
TR	Transcriptase Reversa
UDI	Usuário de drogas injetáveis
Uk	United Kingdo- Reino Unido
UV	Ultravioleta

I. INTRODUÇÃO

1.1. O agente etiológico

Os retrovírus compreendem uma grande família de vírus, primariamente de vertebrados, mas que eventualmente pode também ser encontrada em insetos e moluscos. Apresentam um genoma variando entre 7 – 12 Kb, contendo RNA como material genético e usam a enzima transcriptase reversa (TR) para sua transcrição para DNA. O DNA é subseqüentemente integrado no genoma da célula hospedeira, através do DNA proviral. Como resultados desta integração, a células permanentes do hospedeiro levam a uma infecção persistente.

Essa família de vírus está associada com uma variedade de doenças, como doenças oncológicas de progressão lenta ou rápida, desordens neurológicas e imunodeficiências que podem estar associadas também à viremia persistente sem doença. Em adição, retrovírus ou partes deles podem ser encontrados como elementos genéticos endógenos em humanos e outros hospedeiros.

Até início de 1980, os retrovírus tinham interesse apenas como modelo para estudo de câncer em animais, não eram até então considerados de interesse como patógenos humanos. A descoberta dos vírus da leucemia de células T humanas (HTLV) em 1980 e 1982 por (POIEZ et al, 1980 e YOSHIDA et al, 1982) e posteriormente o vírus causador da síndrome da imunodeficiência adquirida, (AIDS) por (BARRÉ-SINOUSI et al, 1983), gerou um enorme interesse científico por esta classe de vírus. O retrovírus tem evoluído por prolongados períodos de tempo dentro

de seus hospedeiros e entre lentivírus de primatas. Certamente diversas transferências entre humanos e primatas ocorreram no curso desta evolução e recombinações entre retrovírus relacionados (MYERS et al, 1994; EIGEN et al, 1988; GAO et al, 1994).

Recentemente, foi descrito como um retrovírus repetidamente isolado de um paciente com esclerose múltipla e que tinha homologia a um retrovírus endógeno humano, ERV 9 (PERRON et al, 1997). Ainda que seu papel como agente etiológico nesta doença permaneça por ser provado, é provável que o envolvimento de um retrovírus em outras doenças humanas poderá ainda ser descoberto.

Outro adicional papel de importância no estudo dos retrovírus refere-se à possibilidade de tornar-se uma ferramenta para a transferência gênica (MILLER et al, 1998). Devido ao fato deste vírus ter a capacidade de integrar-se na sua forma proviral dentro do genoma da célula hospedeira, retrovírus são hábeis em transferir genes permanentes para a célula-alvo e desta forma funcionar como vetores de uma variedade de terapia gênica.

Apesar de uma variedade de espécies hospedeiras e manifestações clínicas diferentes, retrovírus são similares em sua estrutura e organização genômica. Os vírions são envelopados, têm aproximadamente 80 a 100 nm de diâmetro e brotam da membrana citoplasmática das células. Uma enzima viral específica, a transcriptase reversa, que transcreve o RNA viral em DNA, deu seu nome a esta família de vírus. Todavia, transcrição reversa é também encontrada em outros vírus

(Ex. vírus da hepatite B) e em transposons celulares e desta forma não é uma propriedade exclusiva dos retrovírus.

1.2. Classificação dos Retrovírus

Retrovírus são classificados em seis distintos grupos de acordo com a relação genética dos genes da transcriptase reversa (DOOLITTLE et al, 1989 e McCLURE, 1993), ver quadro1.

Quadro 1 - Classificação dos Retrovírus.

Gênero	Exemplo	Genoma
1.Grupo viral das leucoses e Sarcoma Aviário – Tipo-C	Vírus do Sarcoma de Rous	Simples
2 Grupo dos vírus de mamíferos Tipo- B	Vírus de tumor mamário de ratos	Simples
3.Grupo dos vírus relacionados à leucemia Murina	Vírus da leucemia murina molone	Simples
4.Grupo da leucemia de células humanas e leucemia bovina	Vírus da leucemia humana das células T	Complexa
5.Grupo Viral tipo-D	Vírus Mason-Pfizer de macaco	Simples
6.Lentivírus	Vírus da imunodeficiência humana	Complexa

Os spumavírus, que se julgavam pertencer à família dos retrovírus, foram demonstrados que seu material genético é DNA e não RNA, além de compartilhar diversas propriedades com os hepadna vírus (ex. vírus da hepatite B). Estes vírus também transcrevem reversamente seu RNA dentro da célula e são liberados como partículas contendo DNA; contudo em termos morfológicos, o spumavírus encaixa-se bem dentro da família dos retrovírus, comporta-se similarmente aos vírus tipo-B e pré-forma seu nucleocapsídeo dentro da célula, que é condensada na forma madura após liberar-se como vírion, isto é, uma partícula completa fora da célula do hospedeiro.

Lentivírus incluindo o vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus da encefalite-artrite caprina (CEAV), vírus da anemia infecciosa equina (EIAV), vírus maedi-visna de ovelha (MMV) e o vírus da imunodeficiência felina (FIV), bem como vírus da imunodeficiência bovina (BIV) mas o vírion maduro tem um nucleocapsídeo em forma de cone.

1.3. Estrutura do HIV

O HIV-1, quando observado através de microscopia eletrônica, tem as características típicas de um lentivírus, estas partículas infecciosas chamadas de (virions) são esféricas, com diâmetro médio de 100 nm e apresenta uma região central ou cerne ou nucleocapsídeo de forma cilíndrica composto de um envelope que o envolve que é o capsídeo viral, que nada mais é, que um envoltório lipoglicoprotéico derivado da membrana celular do hospedeiro. Dentro do nucleocapsídeo, encontra-se o genoma viral, composto por duas moléculas idênticas

de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples, não segmentada e polaridade positiva. A proteína de matriz p17 é ancorada ao interior da membrana lipoproteica viral, que provê a matriz para a estrutura viral e é vital para a integridade do vírion. Esta proteína parece ser requerida para a incorporação das proteínas do Env para dentro do vírion maduro. Associados com o core estão às proteínas *Vif* e *Nef* (CAMAUR et al, 1996 e WELKER et al, 1996). Estima-se que de 7 a 20 moléculas do *vif* são feitas para cada vírion. Também pode ser encontrado dentro do vírion e mais provavelmente fora do core os produtos do gene acessório do vírus *vpr* (*Vpx* no caso do HIV-2); mais recentemente demonstrou-se que o *Tat* deve estar localizado dentro do vírion; todas estas proteínas virais dentro da partícula viral sugerem que elas desempenham importante papel nos eventos iniciais da infecção pelo HIV. Na superfície do vírus observa-se caracteristicamente 72 saliências trímeras ou tetrâmeras das glicoproteínas do envelope. Dados recentes de microscopia eletrônica e de cristalografia do ectodomínio da gp 41 sugerem que as proteínas do envelope são organizadas como um trímero. As estruturas do envelope são derivadas do precursor 160-kDa, gp 160, que é clivada dentro da células, provavelmente dentro do complexo de golgi, em gp 120, que é uma proteína da superfície externa do envelope, e gp 41, que é uma proteína transmembrana. Estas proteínas são então transportadas para a superfície da célula, onde parte da região central e amino-terminal da gp41 são expressas do lado externo do vírion. A região central da proteína transmembrana liga-se à gp 120 externa de uma maneira não covalente, primariamente a duas regiões hidrofóbicas amino e carboxil terminal da gp 120. Estudos sugerem que as saliências que envolvem a região do envelope, e

que outras regiões do envelope, incluindo V1/V2 e os domínios C2 e C3 da gp 120, ajudam estabilizar esta associação.

A gp120 da superfície do vírion, contém os sítios de ligação para os receptores celulares e os domínios principais de neutralização. Contudo, outras porções externas do vírion como a gp41 e partes da p17 também são sensíveis a anticorpos neutralizantes. Estes anticorpos para a p17 podem indicar alguma protrusão desta proteína de core para fora da superfície do vírion na superfície da célula. Estes anticorpos, contudo podem representar reação cruzada com anticorpos anti-gp41 (LEVY J.A, 1998).

1.4. Organização Genômica

O genoma dos retrovírus varia entre 7.000 e 12.300 nucleotídeos, sendo que o tamanho do genoma do HIV-1 é de cerca de 9.8 Kb. É um vírus com genoma diploide possuindo moléculas de RNA idênticas ligadas por uma porção terminal 5'. O genoma de RNA é transcrito reversamente para formar um provírus DNA, que por sua vez, serve como molde para transcrição para RNA por enzimas celulares.

Como todos os outros retrovírus, o HIV-1 possui três genes que codificam as proteínas estruturais (*Gag*, *Pol* e *Env*) e diversos genes regulatórios e acessórios (*Vif*, *Vpr*, *Tat*, *Ver*, *Nef* e *Vpu*) sendo este último presente apenas no HIV-1 e nas cepas encontradas em chimpanzés SIVcpz (Fig. 1). A primeira transcrição do HIV-1 é um RNAm que é traduzido para formar as proteínas *Gag* e *Pol*. Por uma clivagem proteolítica o precursor *Gag* p55 dá origem a pequenas proteínas p24, p17, p9 e p6.

O precursor *Pol* é clivado em produtos que consistem nas enzimas virais transcriptase reversa (TR), protease e Integrase. Os produtos *Gag* e *Gag-Pol* são sintetizados em uma proporção de 20:1.

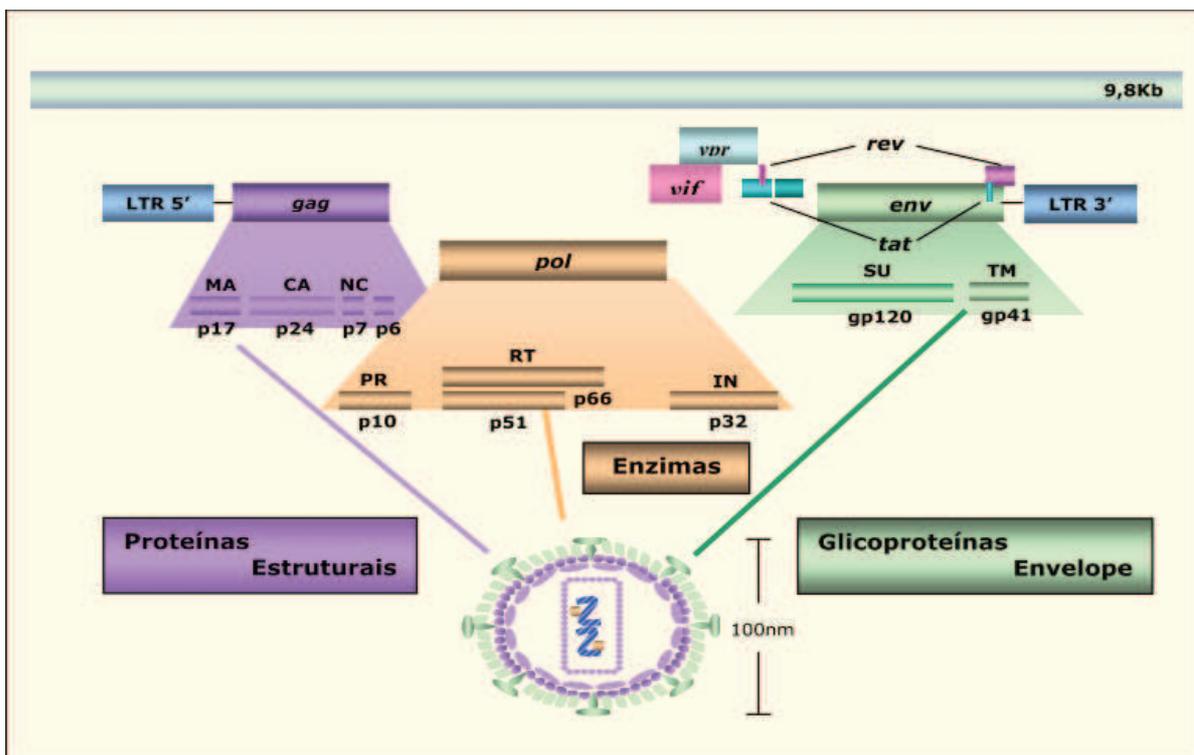


Figura 1 – Estrutura do HIV-1, representação esquemática do HIV(Adaptada de www.stanford.edu/group/virus/retro/2005gongishmail/HIV.html)

Diversas outras características descritas em várias revisões (PETERLIN, 1995) mostram múltiplas inter-relações na regulação da expressão gênica deste vírus levando a uma alta ou baixa replicação do HIV-1 no estabelecimento do estado de latência (HU, 1990). Todo o processo de codificação, baseado em três principais enzimas, transcritas do gene *Pol* que funcionam em diferentes momentos durante o ciclo replicativo do HIV-1. Estas enzimas são desta forma os principais alvos utilizados na terapia antirretroviral; são elas: a DNA polimerase RNA dependente

(que nada mais é que uma ribonuclease H) e a outra conhecida como transcriptase reversa (TR) que é um heterodímero composto por duas subunidades protéicas, a (p66 e a p51). Possui duas atividades catalíticas, a primeira age cedo no processo de replicação para formar uma cópia de DNA de dupla fita (cDNA), ou DNA-proviral, a segunda é atividade de ribonuclease H (Rnase H), que degrada o componente RNA das moléculas híbridas de RNA-DNA. O DNA-proviral ao ser transportado para o interior do núcleo da célula hospedeira será incorporada ao DNA cromossômico, através de outro produto do gene *Pol* que é a integrase (TURNER & SUMMERS, 1999); finalmente uma última enzima chamada protease (p10) age durante a maturação das partículas virais seja na superfície da célula hospedeira ou no vírion liberado, através da clivagem das poliproteínas *Gag* e *Gag-Pol*, transformando-as em proteínas funcionais.

1.5. Origem, evolução e diversidade.

Diversas são as evidências que têm sido usadas para corroborar a transmissão zoonótica entre Lentivírus de outros primatas para o homem, entre elas, primeiro a similaridade na organização genômica viral; segundo a relação filogenética; terceiro a prevalência da infecção no hospedeiro natural; quarto a coincidência geográfica entre primatas e o homem e quinto a plausibilidade das rotas de transmissão. Para o HIV-2, um vírus chamado de Vírus da Imunodeficiência do Símio *Sooty mangabeys* (SIVsm), que é genomicamente indistinguível e rigorosamente relacionado filogeneticamente foi encontrado em grande número de *Sooty mangabeys* cujo habitat natural coincide com o epicentro da epidemia do HIV-2 (GAO et al., 1992).

A evidência definitiva de que a origem da infecção pelo HIV-1 no homem ocorreu por uma transmissão cruzada de chimpanzés, foi descrita por (GAO et al, 1999), onde estes autores demonstram que todas as cepas do HIV-1 são filogeneticamente relacionadas às cepas do SIVcpz, que infectam o chimpanzé *Pantroglodytes*, um primata cujo habitat coincide com as áreas onde os grupos do HIV-1 M,N e O são endêmicos (ZHU et al, 1998). Este autor mostra através da evolução do DNA mitocondrial de espécies de chimpanzé que este é um reservatório natural do SIVcpz, numa data tão antiga que remontaria a divergência entre dois hospedeiros, *Pantroglodytes* e o *Pantroglodytes schweinfurthii* que deve ter ocorrido centenas de anos atrás; mostram também que na África Equatorial Oeste, chimpanzés são capturados para alimentação, representando desta forma uma possibilidade plausível para a transmissão zoonótica do SIVcpz para o homem; já a posição filogenética do HIV-1 subtipos M, N e O dentro da radiação HIV-1/SIVcpz, indicariam que estes três subtipos foram introduzidos por transmissão zoonótica em momentos independentes do SIVcpz do *Pantroglodytes* para o homem, por fim mostram que uma outra possível explicação para a origem dos subtipos M, N e O como resultante de uma diversificação dentro da população humana ou aquisição do vírus de uma outra espécie de primata, seriam inconsistentes com os dados filogenéticos ou implausíveis.

Hooper, 2000 (HOOPER, 2000), após pesquisa intensa publicada em um livro (The River) o autor tentou correlacionar a introdução da infecção pelo HIV-1 ao homem com os testes realizados na África da vacinação da poliomielite, "Chat" que foi testada entre 1957 e 1960 em mais de 1 milhão de africanos, porém várias

afirmações feitas por HOOPER, precisariam ser provadas; 1) mostrar que rins de chimpanzés foram utilizados para produzir a vacina “Chat”; 2) que estes rins estavam contaminados com o vírus SIVcpz; 3) nenhum caso de Aids (HIV-1) tenha ocorrido antes dos testes de vacina; 4) provar que os primeiros casos de HIV-1, grupo M, tenham ocorrido nos locais onde foram testadas as vacinas “Chat”, Congo e Burundi; 5) que os surtos causados pelo subtipos O e N tenham coincidido com os testes de vacinas francesas realizadas no Gabão e Camarões e por fim provar que a epidemia do HIV-2, coincida com as áreas de Guiné-Bissau onde foram realizadas vacinações pelos portugueses na década de 60. Praticamente todas estas evidências foram refutadas; (GAO et al, 1999), e alguns autores (SALEMI et al, 2001 e VANDAMME et al, 2000), demonstraram através de uma nova metodologia de análise molecular temporal, chamada de “site stripping forcClock detection” (SSCD), que permitem a seleção de sítios de nucleotídeos envolvidos em igual taxa de variação em diferentes linhagens, que a origem da radiação do grupo M, ocorreu na década de 30 e que o período de surgimento do ancestral do HIV-1, relacionado ao SIVcpz ocorreu ao redor do século XVII.

1.6. Subtipos do HIV-1

Cepas do Vírus da Imunodeficiência Humana um (HIV-1) que circulam globalmente, exibem um extraordinário grau de diversidade genética, que pode influenciar aspectos de sua biologia como sua infecciosidade, transmissibilidade e imunogenicidade. Sequências provenientes destas cepas de HIV-1 têm historicamente sido classificadas na base de sua relação filogenética em grupos e subtipos. Todavia, o incremento da complexidade de novas sequências derivadas do

HIV-1, tem indicado a necessidade de reavaliar o sistema corrente de nomenclatura. A seguir descreveremos a classificação mais utilizada, segundo (KUIKEN et al, 2000).

1.7. Classificação dos subtipos do HIV-1

A primeira tentativa de classificação de sequências do HIV-1 foi subdividi-los em cepas, Européia/Norte-Americana e Africana, como consequência, isolados da Europa e da América do Norte formavam agrupamentos distintos na árvore filogenética, enquanto cepas procedentes da África foram separadas dentro de diferentes linhagens (LI et al, 1988; Myers et al, 1988). Todavia, quando sequências diferentes procedentes de outras regiões geográficas tornaram-se disponíveis, ficou claro que este sistema de classificação era também limitado. Análises filogenéticas de sequência da região do envelope revelaram a existência de agrupamentos filogenéticos múltiplos (subtipos ou Clades), que eram aproximadamente equidistantes um dos outros. Estes Clades foram denominados subtipos de A até F, com a cepa protótipo Europeia / Norte- Americana inserida no subtipo B (MYERS et al, 1992). Subsequentemente, cinco destes seis subtipos/Clades baseados no envelope (A, B, C, D, F, G, H) foram inferidos e identificados filogeneticamente da região gag (LOUWAGIE et al, 1993). Nos anos subsequentes quatro adicionais subtipos, G até J (excluindo-se o I), foram caracterizados baseando-se em comparações filogenéticas de sequências parciais (JANSSENS et al, 1994; KOSTRIKIS et al, 1995; LEITNER et al, 1995; LOUWAGIE et al, 1995). Mais recentemente, o subtipo F foi reportado ser dividido em sub-subtipos F1, F2 e F3 baseados em comparações filogenéticas na porção gag e env (TRIQUES et al.

1999), mas depois de análises subsequentes do genoma completo, o sub-subtipo F3 foi renomeado de subtipo K (TRIQUES et al, 2000). Coletivamente todos os subtipos do HIV-1 agrupados formam agrupamento chamado de grupo M de (Main), principal, que o distingue do HIV-1 grupo O (outlier), distante (GURTLER et al, 1994), o grupo N (não-M / não-O) “news”, novo (SIMON et al, 1998), e o mais recentemente descrito grupo P(Figura 2).

A grande maioria das cepas do HIV-1 agrupadas em árvores filogenéticas está dentro do mesmo subtipo, independentemente de qual região do seu genoma foi analisado. Todavia foi logo reconhecido, que algumas cepas de HIV-1 exibem discordância na árvore filogenética, inferida de diferentes partes de seu genoma (ROBERTSON et al, 1995).

Este achado, junto com o fato de que todos estes vírus originaram-se de regiões geográficas onde a mesma sequência divergente de subtipos co-circulantes, sugerindo fortemente que estes vírus foram produtos de recombinação.

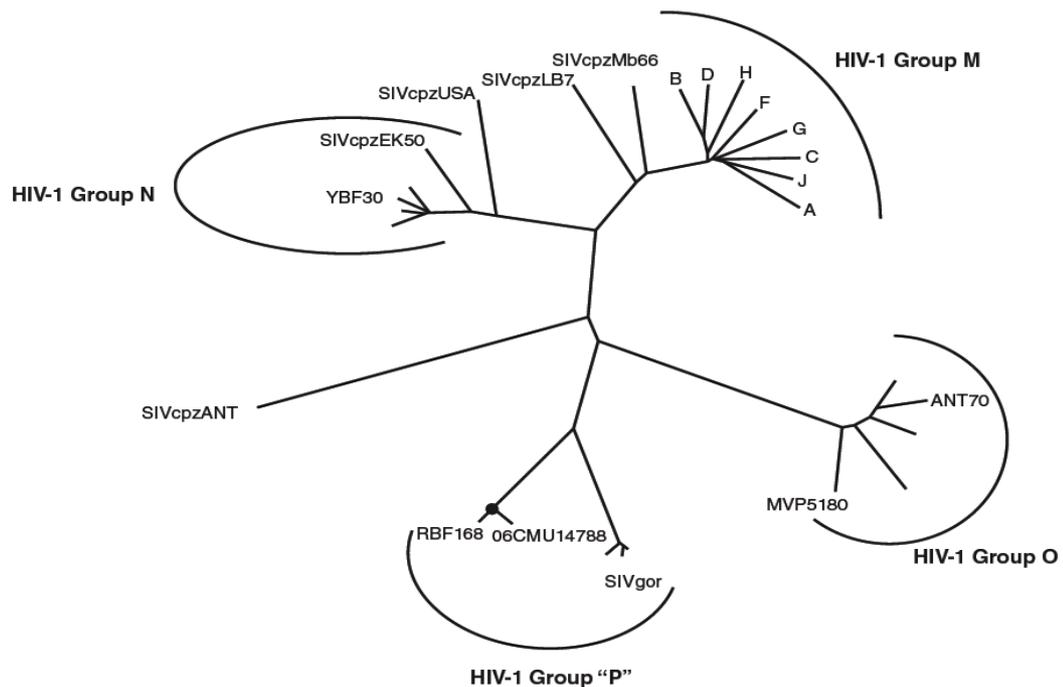


Figura 2 - Relação evolucionaria entre cepas do HIV-1 não recombinantes de linhagens do HIV-1/SIVcpz, baseados no método Neighbor-Joining “agrupamento por vizinhança”, da sequência completa destas cepas.

Esta propensão, para a recombinação para o HIV não foi inesperada, haja vista resultados de pesquisas prévias com retrovírus, (COFFIN 1979; Hu and Temin 1990a; Hu and Temin 1990b), e estudos específicos com HIV (LI et al, 1988; Sabino et al, 1994; Diaz et al, 1995) estabeleceram definitivamente que a recombinação é um evento relativamente comum de ocorrer entre cepas diferentes de HIV (ROBERTSON and Gao 1998; Quininoes-Mateu and Arts 1999). Esta recombinação ocorre mais obviamente entre membros de diferentes subtipos, mas é também provável de ocorrer entre membros do mesmo subtipo, ainda que a metodologia disponível atualmente falhasse em identificar recombinação intra-subtipo. Um das mais interessantes e epidemiologicamente importantes exemplos de cepas recombinantes é a chamada de subtipo E, que é mais prevalente na Tailândia e países vizinhos do Sudeste Asiático. Evidências de que o subtipo E possa

representar recombinações, foi inferida inicialmente de estudos filogenéticos do *gag* e *env* (MCCUTCHAN et al, 1992; Louwagie et al, 1993), e posteriormente da análise completa do genoma do subtipo E (CARR et al, 1996; Gao et al, 1996). Na porção extracelular da gp120 e gp41, subtipo E é conhecido como um agrupamento de um grupo distinto, achado este que levou a sua classificação inicial como um subtipo independente (MYERS et al, 1992). Em contraste, em regiões como *gag* e *pol*, todos os subtipos E caem dentro de uma radiação do subtipo A. Desta forma, subtipo E parece compreender uma linhagem recombinante entre subtipo A e, ainda que uma linhagem do subtipo E (não recombinante) não ter sido encontrada levando a algum debate sobre o estado recombinante do subtipo E.

Recentes avanços na tecnologia do PCR tornaram possível gerar sequências genômicas completas do RNA total do HIV-1, rotineiramente (SALMINEN et al. 1995a; 1995b; 1996). Este fato tem influenciado a nomenclatura do HIV-1, é agora claro que a recombinação frequentemente ocorre através do genoma do HIV. Também se tornou aparente que a tarefa de subtipar na região dos genes acessórios pode ser difícil. Por exemplo, todas as cepas conhecidas do subtipo G são relativamente mais relacionadas com o subtipo A na região *vif/vpr*. Enquanto isto pode indicar uma anomalia ou um ancestral recombinante do subtipo G, permanecem por serem resolvidos (CARR et al. 1998a; Gao et al. 1998b). Estudos recentes têm também mostrado que novos subtipos não podem ser determinados com base apenas em sequências subgenômicas. Por exemplo, um isolado do HIV previamente classificado como subtipo I com base em sua sequência do seguimento C2V3 (KOSTRIKIS et al, 1995) mostrou-se ser um recombinante complexo entre os

subtipos A e G e regiões que não se encontram em nenhum subtipo descrito atualmente (GAO et al, 1998a; Nasioulas et al, 1999). Todavia, diferentes regiões não contíguas de um subtipo de origem desconhecida, inicialmente chamado de “subtipo I”, forma posteriormente mostrando ser proximamente relacionado ao subtipo H ou K (SALMINEN, 1999). Este caso exemplifica a necessidade de um sequenciamento genômico completo para designação de um novo subtipo. Finalmente, alguns recombinantes intersubtipos do HIV-1 estão se disseminando epidemicamente (MCCUTCHAN et al, 1999; Montavon et al, 1999; Nasioulas et al, 1999). Estas variantes do HIV-1 são denominadas formas recombinantes circulantes (**CRFs**) (CARR et al, 1998a) para indicar estas cepas representantes que estão contribuindo para a epidemia global.

Resumidamente quatro categorias devem ser usadas para se referir às linhagens do grupo HIV-1 Maior (Major, M): grupos, subtipos, sub-subtipos e CRFs.

Grupos: referem-se às distintas linhagens do HIV-1, M, N, O e P; o grupo M foi inicialmente denominado M de “Main”, principal, O de “Outlier”, distante e N “News”- novo não-M e não-O (DeLEYS et al, 1990; CHARNEAU et al, 1994 e SIMON et al, 1998).

Subtipos: refere-se às divisões dos “Clades”, dentro do grupo M, atualmente identifica-se 9 subtipos (A, A2, B, C, D, F1, F2, G, H, J e K) ver Figura 2.

Sub-subtipo: refere-se a distintas linhagens que são proximamente relacionadas, a um subtipo particular, porém não geneticamente distante o suficiente para determinar um novo subtipo.

CRF - (formas recombinantes circulantes): descrevem uma linhagem recombinante, que desempenha importante papel da pandemia pelo HIV-1. Os membros das CRF devem compartilhar estrutura em mosaico idêntica, isto é, serem descendentes de um mesmo evento de recombinação. (Quadro 2 e Figura 4).

Quadro 2 - Sumário das formas recombinante circulante (CRF) do HIV-1 grupo M.

Nome	Subtipos envolvidos	Distribuição geográfica
CRF01-AE (Antigo subtipo E)	A, E	Tailândia, China, USA
CRF02-AG (Cepa IbNG)	A, G	Dijiboti, Ivore Cost, Cameras e USA
CRF03-AB	A, B	Rússia (Kalingrado)
CRF04-cpx (Antigo subtipo I)	A, G, H, K,	Chipre e Grécia
CRF07-BC	B, C	Noroeste da China
CRF08-BC	B, C	Sudeste da China
CRF09-cpx	Não Publicado	Senegal, USA
CRF10-CD	C, D	Tanzânia
CRF11-cpx	A, E, G, J	África Central (Camarões, República Centro Africana e Gabão)

Montana e colaboradores, 2005, assim como Rios e colaboradores, 2005 e posteriormente Geretti (2006), descreveram os subtipos B e F do HIV-1 como sendo os mais prevalentes na América do Sul.

Já em 1995, Robertson e colaboradores relataram ser a recombinação um dos maiores mecanismos que mais contribui para a viriabilidade dos retrovírus, incluindo o HIV-1, e que sua diversidade pode ser um obstáculo potencial para o desenvolvimento para a vacina para a Aids. A recombinação ocorre durante a transcrição reversa pela troca alternada de nucleotídeos de ambas as partes das fitas de RNA genômico compactada em cada partícula infectante (COFFIN, 1979; Hu e Temin, 1990).

Na América do Sul, a CRF 12_BF, composta de fragmentos dos subtipos B e F, foi detectada na Argentina e Uruguai, e representou, o primeiro registro de CRF nas Américas (THOMSON et al., 2002a). Outro estudo na Argentina detectou a tripla recombinação entre os três subtipos mais circulantes na América do Sul: B, C e F (PANDO et al, 2006). (Quadro 3)

Quadro 3 – Distribuição geográfica dos subtipos de HIV-1 mais prevalentes nos continentes, europeus, asiáticos e africanos.

Local	Subtipos mais prevalentes	Referência
• África Subsaariana	C	- Novitsky <i>et al.</i> , 1999; - Robbins <i>et al.</i> , 1999.
• Índia • China	C	- YU <i>et al.</i> , 1998; - Shankarappa <i>et al.</i> , 2001.
• Europa Ocidental; • Estados Unidos	B	- Wainberg, 2004.
• América do Sul	B, F, C, CRF12_BF*, CRF02_AG*, CRF28_BF*, CRF29_BF*, CRF39_BF*	- Thomson <i>et al.</i> , 2002a ; - Montano <i>et al.</i> , 2005; - Rios <i>et al.</i> , 2005; - Geretti, 2006; - Pando <i>et al.</i> , 2006; - Pires <i>et al.</i> , 2004; - Couto-Fernandez <i>et al.</i> , 2005; - Sa Filho <i>et al.</i> , 2006; - De Souza <i>et al.</i> , 2008.

Nota: * Circulantes no Brasil

1.8. TRANSMISSÃO DE VARIANTES HIV-1 RESISTENTES A DROGAS ANTIRRETROVIRAIS

1.8.1. Primeiras referências

A transmissão de cepas HIV-1 resistentes tem sido reportadas na literatura há mais de 35 anos (Erice, 1993; Cox et al 1992; Masquelier et al 1993 e Conlon, et al 1994) . As primeiras referências reportadas na literatura foram relacionadas a Zidovudina (AZT), como era de se esperar devido a ter sido o primeiro análogo nucleotídeo utilizado na pratica clínica. Transmissão de resistência foi descrita tanto por via horizontal como vertical, sendo bastante elevadas as taxas descritas nestes

primeiros estudos (KAMKAMIDZE, 2001). À medida que outros antirretrovirais foram tornando-se disponíveis, mutações relacionadas começaram a ser descritas, as estes novos agentes associados ou não a zidovudina.

A transmissão de resistência às drogas antirretrovirais passou a ganhar atenção da comunidade científica mundial a partir dos trabalhos do grupo de Susan e Little que realizou estudo retrospectivo analisando indivíduos recém infectados que faziam parte de uma coorte do Programa de pesquisa de Infecção aguda (AIEDRP) financiado pelo (NIH). Neste estudo, foram abalizados dados de 377 pacientes com infecção recente identificados durante um período de 5 anos, de maio de 1995 até junho de 2000. Estes pacientes eram fundamentalmente homossexuais, e a resistência foi identificada por um teste de fenotipagem; os pacientes que apresentavam variantes virais que tinha um incremento de 10 vezes na concentração inibitória 50% (IC_{50}) para um ou mais agentes, comparado com IC_{50} do vírus selvagem, foram considerados como tendo variantes resistentes, adquiridas. Durante o primeiro período do estudo (1995-1998), transmissão de vírus resistente ocorreu em 3,4% dos indivíduos, comparado com 12,4% no segundo período (1999-2000) (Quadro 4). Observa-se aumento de resistência em todas as classes de ATR, além de um aumento importante de resistência em dois ou mais ATR, de 1,1 no primeiro período para 6,2 no segundo período. Teste de genotipagem também foi realizado, para caracterizar resistência de acordo com o consenso na época (HIRSCH, et al. 2000) e mostrou um incremento de 8,0% para 22,7% no segundo período (Quadro 4).

Quadro 4 - Mudanças na prevalência de resistência em indivíduos recentemente infectados pelo HIV.(Little, et al. 2002).

Resistência Presente (Classe)	Incremento de 1995 – 1998		1999 – 2000	
	Genotípica		Fenotípica	
Qualquer droga	8,0%	22,7%	3,4%	12,4%
Inibidor nucleosidico da transcriptase reversa (ITRN)	8,5%	15,9%	2,3%	6,2%
Inibidor não nucleosidico da trancriptase reversa (ITRNN)	1,7%	7,3%	1,9%	7,1%
Inibidor da Protease (IP)	0,9%	9,1%	0,4%	8,0%
Diferentes classes	3,8%	10,2%	1,1%	6,2%

1.8.2. Tendências atuais da prevalência de infecção recente

Os dados observados pelo grupo de Little mostraram claramente um incremento na prevalência de resistência em indivíduos recentemente infectados. Porém, estudos subsequentes não têm demonstrado claramente esta tendência, e algumas considerações merecem discussão para melhor compreensão dos fatores que podem influenciar estes resultados.

Estudos sequências de Little, não mostrou um contínuo incremento desta tendência. Transmissão de resistência a drogas decresceu de 12,4% no período de 1999 a junho de 2000, para 6,7% no período de junho de 2000 a março de 2002.

Em 2001, investigadores da coorte Suíça (SWISS HIV Cohort Study), observaram que a frequência de resistência primária estava decrescendo nos últimos anos (YERLY, 2001). Resistência genotípica foi detectada em 8,6% dos pacientes em 1996, 14,6% em 1997, 8,8% em 1998 e 5,0% em 1999. Contudo, estes autores observam que a população destas amostras mudaram; por exemplo, a resistência foi observada em 10,4% dos homens, contra 2,6% das mulheres; indivíduos infectados por via heterossexual tiveram muito menor probabilidade de ter vírus resistentes do que, usuários de droga endovenosa ou homossexuais, (6,1% versus 13% e 11,3% respectivamente); além de um aumento da proporção de indivíduos infectados com HIV não subtipo B, representando provavelmente pacientes provenientes de países subdesenvolvidos sem acesso a terapia ATR.

Outro fator que deve ser levado em conta, e que pode estar contribuindo para o declínio da transmissão de cepas resistentes, pode estar relacionado a disponibilidade de regimes ATR mais potentes. Indivíduos tratados com regimes ATR potentes e que alcançaram negatificação do HIV-RNA no plasma são menos prováveis de eliminar HIV via sêmen, e por consequência menos provável de transmitir o HIV (resistente ou não) (VERNAZZA, 2000). Na coorte Suíça a proporção de pacientes com carga viral do HIV indetectável, incrementou de menos de 10% em 1996 para mais de 50% em 1999; este fator provavelmente seja de grande importância, e reflete a introdução da terapia antirretroviral de Alta Potencia (HAART) a partir de 1996; dados não publicados do Centro de Referência em Aids de Santos (CRAIDS), mostram esta mesma tendência; a proporção de indivíduos

com carga viral indetectável aumentou de 3,9% em 1996 até 1997 para 32,4% após 2003.

Dados de diversos estudos reportando pacientes com infecção primária pelo HIV, podem ser observados na (Quadro 5).

Quadro 5 - Prevalência de resistência em pacientes com infecção aguda ou recente pelo HIV.

Estudo	N	Definição	Período	Prevalência
CATCH	596	Clínica	1996-2002	10%
CDC	182	STARHS*	1997-2001	12%
São Francisco	180	< 1 ano	2000-2002	26%
Carolina do Norte (EUA)	30	< 30 dias	1998-2003	13%
Canadá	144	STARHS*	1997-2001	10%
Montreal	170	< 1 ano	1996-2003	12%
França	296	< 6 meses	2001-2002	11%
UK	157	< 18 meses	1996-2003	17%
Madri (Espanha)	74	< 1 ano	1997-2002	19%
Suíça	453	< 1 ano	1996-2002	11%

* STARHS: Algoritmo de teste sorológico para detecção de infecção recente pelo HIV

1.8.3. Resistência primária do HIV-1 no Brasil

Existem poucos estudos abordando a questão da resistência primária do HIV-1 em nosso país, sendo a maioria deles de pacientes originários da região sudeste, limitando o alcance e a possibilidade de generalização dos achados para o restante do país. Outra característica comum a esses estudos é o baixo número de pacientes envolvidos: excetuando-se um grande estudo nacional, conduzido em 2001, que incluiu 406 pacientes, e outro estudos que avaliou 535 pacientes cronicamente infectados, sob acompanhamento em 13 centros distribuídos por todo o país, os demais se caracterizavam por avaliar menos que 60 indivíduos por estudo. Os dados obtidos a partir dessa casuística revelam um quadro relativamente

confortável, com taxas de resistência às drogas antirretrovirais inferiores a 5%, e ausência de pacientes albergando cepas virais resistentes a mais que uma classe de drogas. O quadro 6 sumariza as características dos principais estudos sobre resistência primária no Brasil.

Quadro 6 - Estudos sobre resistência primária conduzidos no Brasil.

Região	Período	População	Nº de casos	NRTI (%)	NNRTI ((%)	PR (%)	Total (%)
Nacional (Brasil)	1996	Doadores de sangue	32	0,9	0	ND	0,9
Rio Janeiro	1998	Doadores de sangue	49	0	0	0	0
Nacional (Brasil)	2001	Mista	406	2,0	2,2	3,2	6,6
Rio de Janeiro	2000-2	Mista	56	14,0	0	0	14

Adaptado de Soares et al. AIDS, 2004, 18 (suppl 3):S9-S13.

Entretanto, esse quadro pode refletir apenas as características das amostras estudadas. Em 1998, um estudo piloto na Bahia, avaliando 104 indivíduos submetidos à TARV detectou mutações associadas à resistência ao AZT em 18% das amostras avaliadas. Entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000, foram estudados em Santos, SP 346 indivíduos HIV positivos e submetidos ao algoritmo STARHS, para detecção de infecção recente (aproximadamente 170 dias com IC95% de 145-200 dias) (KOTHE, et al. 2003); do total 43 foram identificados como recentemente infectados e 303 infectados cronicamente, a frequência de resistência genotípica no primeiro grupo foi de 32% e 29,2% no segundo grupo, no Quadro 7, pode-se observar com mais detalhes a resistência aos diferentes grupos de ATR. Estes dados são bastante significativos, porém é importante observarmos ao longo do tempo se esta tendência esta

se mantendo. Dados ainda não publicados de 2005 mostram que esta tendência esta se mantendo, porém necessitam ainda de melhor análise para conclusões mais acertadas.

Quadro 7 - Resistência genotípica primária em indivíduos recém infectados, no município de Santos, SP.

	Infecção recente	Infecção crônica
Inibidor nucleosidico da transcriptase reversa (NRTIs)	22.7%	21.1%
T215Y/F	9.1%	1.7%
M184V	9.1%	3.5%
M41L	4.5%	3.5%
Inibidor não nucleosidico da transcriptase reversa (NNRTIs)	0%	15.7%
Inibidor da Protease (IPs)	13.6%	8.1%
Cumulativa	32%	29.2%

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Identificar e caracterizar a diversidade genética e a resistência primária do HIV-1 aos agentes antirretrovirais, no município de Itanhaém, em pacientes em início de tratamento.

2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

Conhecer qual a realidade atual na transmissão da doença em nossa cidade, bem como a possibilidade de transmissão de vírus já resistentes a ATR. Em termos de Saúde Pública é de grande relevância.

Identificar a prevalência das mutações do gene *pol* do HIV-1 nas regiões das enzimas transcriptase reversa (RT) e protease (PR), relacionadas com drogas Antirretrovirais das classes (ITRN, ITRNN, IP).

Identificar a frequência de resistência relacionada as diferentes classes de Antirretrovirais para apresentar como Políticas de Saúde a necessidade de realizar exames diagnóstico de genotipagem viral antes do início do tratamento com drogas ofertada pelo sistema de saúde.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. População Estudada

Este trabalho caracteriza-se por ser um estudo transversal, retrospectivo, com amostras de sangue de pacientes atendidos no SAE Itanhaém e ingressados no setor de infectologia CINI, no período de 2009 a 2011, colhidas previamente, aliquotadas e estocadas apropriadamente a temperatura de -70 C conforme preconizado pelo PN-DST/Aids.

Toda amostra positiva para HIV, (sorologia anti-HIV positiva deve ser guardada em condições apropriadas para possíveis re-testes ou estudos por um período de 5 anos conforme determinação do PN-DST/Aids do ministério da Saúde); estas amostras são numeradas de acordo com uma numeração específica que sem identificação de nome do paciente o que resguarda o seu anonimato, para o presente estudo nos interessa unicamente o encontro ou não de mutações relacionadas a resistência aos antirretrovirais, além de dados sócio-demográficos que serão coletados posteriormente no prontuário dos pacientes.

3.2. Casuística

O SAE Itanhaém, diagnosticou, no período do estudo e segundo dados de notificação do DATASUS, 27 amostras em 2009, 15 amostras em 2010 e 8 amostras em 2011; o que totaliza 50 casos novos no serviço. Todas as amostras foram utilizadas para o presente trabalho. Destas amostras após procedimentos laboratoriais para extração de RNA viral do HIV, conseguimos um total de 25 amostras, em condições de serem analisadas para o objetivo deste trabalho. A

casuística para o presente estudo será de 25 amostras caracterizando uma amostra de conveniência.

3.3. Critério de Inclusão

Para o presente estudo foram analisados todos os pacientes soropositivos comprovadamente com duas amostras de Elisa reagente e uma amostra comprobatória de Western Blot reagente (conforme protocolo do PN/DST/Aids – MS, anexo 1).

Estar matriculado no serviço de tratamento do SAE-ITANHAÉM após o diagnóstico pelo HIV – 1. Ambos os sexos e que foram recém diagnosticados pelo HIV – 1.

Coletado amostra de sangue antes do uso de medicamentos antirretrovirais.

Realizado exames de quantificação da carga viral, para o acompanhamento da viremia e a evolução da doença.

Realizado exames de contagem da subpopulações dos linfócitos TCD4+/CD8+, para o acompanhamento da evolução do sistema imunológico.

3.4. Critérios de exclusão

Ter menos de 18 anos

Não ter realizado nenhum exame de quantificação da carga viral;

Não ter realizado nenhum exame de contagem da subpopulação de linfócitos TCD4+/TCD8+.

3.5.1. Análises Genéticas das amostras

Todos estes procedimentos Genotipagem por PCR e o Sequenciamento Genômico do RNA do vírus descritos a seguir, foram realizados nas dependências da UNILUS no Centro de Biologia Molecular.

3.5.2. Extração do RNA

Todas as amostras os RNAs foram extraídos através do plasma usando-se o QIAquick Kit (Qiagen, Valencia, CA, E.U.A.) e usado nested como alvo em PCR (Reação em Cadeia da Polymerase) em uma região do HIV-1: *pol* (protease e transcriptase reversa). A amplificação de cada fragmento foi realizada em duas fases: a primeira contendo uma solução de 0.5 µl de Taq DNA Polymerase, 4mM de dNTP, 2.5 mM de MgCl₂, 5mM de KCl, 10mM de Tris-HCl, 0.4 µl de cada um dos “primers” exteriores. Foram adicionados a esta solução 5 µl do RNA extraído, completando um volume final de 50 µl.

3.5.3. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A região do genoma do HIV-1 utilizada para o estudo foi o gene *pol*, onde estão localizados os genes das enzimas protease e transcriptase reversa viral. Para a amplificação foi utilizada a PCR em duas etapas (*Nested* PCR). Na primeira etapa foi utilizado o conjunto de primers K1 e K2. Este produto foi utilizado para a segunda etapa e nesta reação foram utilizados os primers: DP10 e F2 que produziu um fragmento de aproximadamente 1200 pares de bases (pb).

As condições de ciclagem foram 94°C por 10min seguido de 35 ciclos a 94°C por 30s, 55°C por 30s, 72°C por 1min30s e uma extensão final de 72°C por 5min. Todas as reações de amplificação foram realizadas em um termociclador Applied Biosystems. As reações de amplificação por PCR utilizaram para cada 1mL de mistura final de mix as seguintes quantidades de reagentes: 100µL buffer (10x), 16µL dNTP (25mM), 50µL MgCl₂ (50mM), 6µL de cada primer (200pmoles/µL), 5µL Taq DNA Polimerase (Invitrogen, EUA) completando com água ultra pura suficiente para 1mL. Adaptado de SA FILHO, D. et al., 2006.

3.5.4. Eletroforese em gel de agarose

Os produtos de amplificação foram analisados em gel de agarose 1% e em TBE 0,5% (89M Tris-borato e 2mM EDTA pH 8,0). A corrida foi realizada a 110v no tempo médio de 40min. Para comparação do peso molecular do DNA amplificado foi utilizado um padrão 100pb (Invitrogen) aplicado junto às amostras no gel. Este foi corado com brometo de etídeo para visualização dos fragmentos sob iluminação ultravioleta.

3.5.5. Sequenciamento dos produtos da PCR

Os produtos da PCR foram purificados usando-se o kit QIAquick PCR (Qiagen). Após a purificação, os fragmentos foram submetidos à reação de sequenciamento utilizando-se o kit ABI PRISM DyeTerminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit – with Ampli Taq DNA Polymerase (ABI). Os produtos desta reação foram analisados por um sequenciador automático modelo ABI 3100 (Applied Biosystems).

3.5.6. Análise da diversidade genética

Os subtipos e a amostra recombinante, bem como as mutações de resistência aos antirretrovirais foram analisados utilizando o banco de dados *HIV drug resistance database (Stanford)*.

3.6. Análise Estatística

Inicialmente será criado um banco de dados com todas as variáveis descritas, através do Programa EpiInfo Versão 3.5.1, de 13 de agosto de 2006. Posteriormente para a análise dos dados será utilizado o programa, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS versão 18 para Windows). Será realizada inicialmente análise estatística descritiva para todas as variáveis de interesse do estudo. As variáveis qualitativas serão apresentadas através de valores absolutos e relativos. As variáveis quantitativas serão apresentadas através dos seus valores de tendência central e de dispersão. No que se referem à estatística analítica as variáveis quantitativas serão inicialmente testadas para verificar se estão normalmente distribuídas baseando-se nos valores absolutos da diferença máxima entre a distribuição cumulativa observada e a distribuição cumulativa esperada, assumindo o pressuposto de normalidade, através dos testes de Kolmogorov-Smirnov (com correção de Lillifors) e Shapiro-Wilk. Quando tratar-se de amostras paramétricas (isto é, com distribuição normal), será utilizado o teste t e análise de variância (ANOVA), quando de amostras não paramétricas utilizou-se o teste U de Mann-Whitney e o teste de Kruskal-Wallis além do teste Qui-quadrado para tabelas extensas e ou teste exato de Fisher. Será utilizado também o Coeficiente de correlação de Person (r). Considerou-se o nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS

Foram estudadas 25 amostras de pacientes recém diagnosticados no município de Itanhaém, no período de 2009 a 2011, considerando as características sócio demográficas, bem como algumas características laboratoriais. Os resultados estão expressos na tabela 1. Treze indivíduos (52%) eram do sexo masculino e 12 (48%) do sexo feminino. Dezenove indivíduos (76%) declararam-se heterossexuais, 4 (16%) homossexuais e 2 (8%) não informado. Quatorze (56%) são brancos, 9 (36%) pardos, 2 (8%) não informaram e negros não foram identificados. O grau de instrução, classificados pela escolaridade, mostrou que em 19 (44%) tinham ensino fundamental incompleto, 1 (4%) tinha ensino médio incompleto, 10 (40%) com ensino médio completo e 3 (12%) não informado.

Através dos resultados laboratoriais dos 25 pacientes foi avaliada a viremia inicial e 16 (64%) pacientes a carga viral era inferior a 10.000 cópias/ml, 6 (24%) dos pacientes com resultado da carga viral entre 10.000 a 100.000 cópias/ml e 3 (12%) com o resultado da carga viral superior a 100.000 cópias/ml. A contagem dos linfócitos CD4, em 8 (32%) pacientes antes do início do tratamento foi inferior a 200 células/ μ l, e de 17 (68%) pacientes foi superior a 200 células/ μ l. A carga viral também foi avaliada em pacientes que já tinham realizado a terapia com ARV e foi encontrado 1 (4%) paciente com a carga viral inferior a 10.000 cópias/ml, 1 (4%) paciente com a carga entre 10.000 a 1000.0000 cópias/ml e 1 (4%) com a carga viral superior a 100.000 cópias/ml.

Tabela 1. Distribuição dos casos, segundo características sócio demográficas: sexo, raça, escolaridade e categoria de exposição e laboratoriais, contagem de células CD4 e carga viral inicial. (n=25)

Variável	N	%
Sexo		
Masculino	13	52
Feminino	12	48
Raça		
Branco	14	56
Pardo	9	36
Não Informado	2	8
Opção Sexual		
Heterossexual	19	76
Homossexual	4	16
Não Informado	2	8
Escolaridade		
Ensino fundamental Incompleto	11	44
Ensino médio incompleto	1	4
Ensino médio Completo	10	40
Não Informado	3	12
CD4 inicial		
< a 200 células/ μ l	8	32
\geq a 200 células/ μ l	17	68
Carga Viral Inicial		
< 10.000 cópias/ml	16	64
De 10.000 a 100.000 cópias/ml	6	24
>a 100.000 cópias/ml	3	12
Total	25	100

O perfil sócio-demográfico dos pacientes estudados que apresentaram resistência adquirida ou não, estão distribuídos na tabela 2, sendo masculino 6 (50%) e feminino 8 (61,5%) e dos que não apresentam resistência, 6 (50%) do sexo masculino e 5 (38,5%) do sexo feminino. Em relação a raça/etnia os resultados encontrados dos pacientes que apresentaram resistência foram, 8 (57,1%) de brancos, 5 (35,7%) de pardos e 1 (7,1%) não identificados, dos que não apresentaram resistências 6 (54,5%) eram brancos, 4 (36,4%) eram pardos e 1 (9,1%) não foi identificado. Para a escolaridade foram encontrados a resistência adquirida em 7 (50%) pacientes com ensino fundamental incompleto e 6 (42,8%) com ensino médio, e os que não apresentaram resistência adquirida foram 4(36,4%) com ensino fundamental incompleto e 5 (45,5%) com ensino médio. E a categoria de

exposição, foi baseada na opção sexual dos pacientes e apresentou resistência adquirida 7 (85,7%) pacientes heterossexuais 1 (7,1%) paciente homossexual e usuário de drogas injetáveis não foram cadastrados (NC). Os pacientes que não apresentaram resistência adquirida na categoria de exposição foram 7 (63,6%) heterossexual e 3 (27,3%) homossexual.

Tabela 2 - Distribuição dos casos segundo características sócio demográficas: sexo, raça, escolaridade e categoria de exposição e presença ou não de resistência adquirida, (n=25)

VARIÁVEL	RESISTÊNCIA PRIMÁRIA		TOTAL
	SIM	NÃO	
SEXO	n (%)	n (%)	n (%)
Masculino	6 (50)	6 (50)	12
Feminino	8 (61,5)	5 (38,5)	13
RAÇA/ETNIA			
Branco	8 (57,1)	6 (42,9)	14
Pardo	5 (55,5)	4 (44,6)	9
Não respondeu	1 (50,0)	1 (50,0)	2
ESCOLARIDADE			
Fundamental	7 (63,6)	4 (36,4)	11
Médio	6 (54,5)	5 (45,5)	11
ND	1	2	3
CATEGORIA DE EXPOSIÇÃO			
Heterossexuais	12 (63,1)	7 (36,9)	19
Homossexuais	1 (25,0)	3 (75,0)	4
UDI	NC	NC	0
ND	1	1	

Considerando a media da idade dos 25 pacientes estudas foram observado uma distribuição equitativa tanto para os que apresentaram a resistência primaria

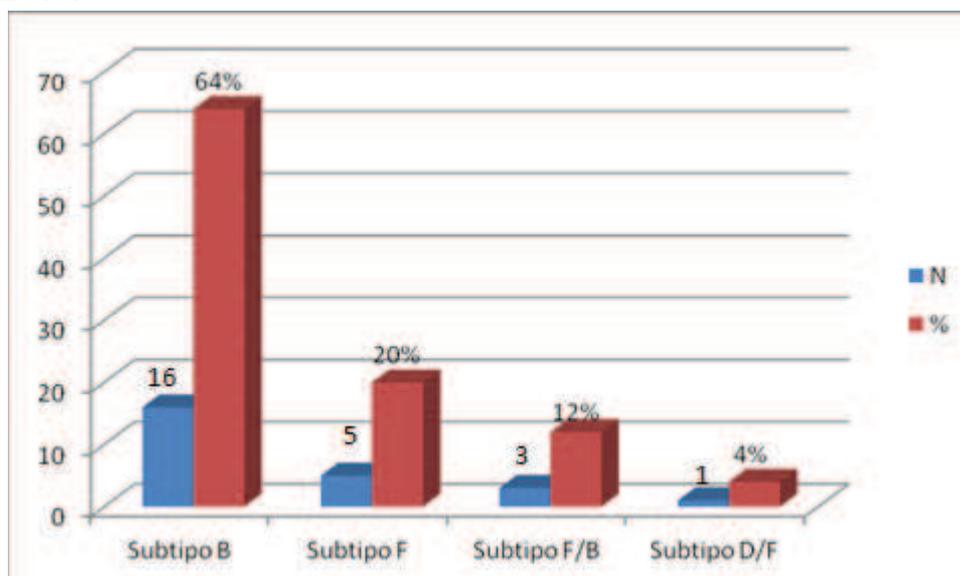
39,8 (média da idade) como para os que não apresentaram resistência 38,4 (média da idade). (Tabela 3).

Tabela 3 – Distribuição da idade dos casos segundo a presença da resistência Primária (n=25).

	RESISTENCIA PRIMÁRIA	
	SIM	NÃO
n(%)	13(52)	11(48)
Média	39,8	38,4
Mediana	38,5	41

No análise do RNA viral através da genotipagem foram obtidas a classificação do vírus do grupo M e os seus sorotipos, sendo 64% do grupo B e 20% do grupo F . Os vírus com formas recombinantes foram de 12% subtipo F/B e 4% do subtipo D/F. (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Distribuição do HIV-1 segundo o genótipo e formas recombinantes encontradas em pacientes recém diagnosticados no município de Itanhaem 2009 -2011.



A concentração de células CD4 e a carga viral medida em números de cópias por mililitros de sangue dos pacientes que apresentaram resistência primária antes do tratamento eram em média de 377 células/ μ l, a relação de CD4/CD8 foi de 0,36 e a média da carga viral foi de 53.059 cópias/ml e os que não eram resistentes aos ARV apresentou uma média de 443 células/ μ l, a relação de CD4/CD8 de 0,42 com a média da carga viral de 78.041. Após um ano de tratamento foram avaliados os mesmos índices sendo que a média da concentração do CD4 que apresentaram resistência primária foi de uma concentração de 346 células/ μ l, a relação do CD4/CD8 foi de 0,25 e a média da carga viral resultou em 107.448 cópias/ml. E com um ano de tratamento a média da concentração de CD4 para os que não apresentaram resistência foi de 334 células/ μ l, a relação CD4/CD8 foi de 0,45 e a média da carga viral era de 9.472. (Tabela 4).

Tabela 4 - Relação entre a contagem de células CD4 e CV média com resistência primária ou não, inicial e um ano após.

	antes do tratamento		1 ano de tratamento		
	RESISTENCIA PRIMÁRIA				
	SIM	NÃO	SIM	NÃO	<i>p</i>
CD4+					
Média	377	443	346	334	ns
CD8+					
Média	1052	1079	1385	748	ns
Relação CD4/CD8					
Média	0,36	0,42	0,25	0,45	ns
Carga Viral					
Média	53.059	78.041	107.448	9.472	< 0,000

Na tabela 5 estão as análises das genotipagens do HIV-1 onde podemos encontrar as mutações nos gene que codificam a produção das protease e das transcriptase reversa e promovem resistência aos ARVs. Ao estudar as mutações de

resistência relacionada aos códons mais frequentes do HIV-1 do grupo M, os resultados encontrados foram os seguintes: no paciente numero 1 foi encontrada mutações na TR no códon (K103, E138A) com resistência ao (EFV/NVP) do vírus do subtipo B. O paciente 2 a mutações na TR no códon (K103, V1081)) com resistência ao (EFV/NVP) de um vírus recombinante B/F. O paciente 3 foi encontrada mutações na PR no códon (L241) e na TR no códon (K103N) com resistência ao (EFV/NVP) do vírus do subtipo B. O paciente 4 foi encontrada mutações na TR no códon (k103N) com resistência ao (EFV/NVP) de formas recombinante D/F. O paciente 5 foi encontrada mutações na PR no códon (L10I) do vírus do subtipo B e não faz uso de ARV. O paciente 6 foi encontrada mutações na PR no códon (A71T) do vírus do subtipo B e não faz uso de ARV. O paciente 8 foi encontrada mutações na TR no códon (V1061V) com resistência ao (ABC/AZT/D4T/DDI) de um vírus recombinante B/F. O paciente 9 foi encontrada mutações na PR no códon (L10V) e na TR no códon (K103N) com resistência ao (EFV/NVP) do vírus do subtipo B. O paciente 10 foi encontrada mutações na PR no códon (L101e A71T) do vírus do subtipo B não faz uso de ARV. O paciente 11 foi encontrada mutações na PR no códon (L101V) do vírus do subtipo F não faz uso de ARV. O paciente 12 a mutações na TR no códon (K103, P22H)) com resistência ao (EFV/NVP) de um vírus recombinante. O paciente 14, 15, 16 a mutações na TR no códon (K103)) com resistência ao (EFV/NVP) de um vírus do subtipo F. O paciente 21 foi encontrada mutações na PR no códon (L10V) do vírus recombinante B/F e não faz uso de ARV. O paciente 22 a mutações na TR no códon (K103) com resistência ao (EFV/NVP) de um vírus do subtipo B. Nos pacientes numero 7, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25 não foram encontradas mutações nos gene da PR e nem da TR.

Tabela 5 - Perfil de resistência adquirida nos pacientes recém diagnosticados no município de Itanhaem, 2009-2011.

PACIENTE	PROTEASE	TRANSCRIPTASE	NUCLEOSIDIO	NÃO	
				NUCLEOSIDIO	GENOTIPO
1	SM	K103N, E138A	SM	EFV/NVP	B
2	SM	M194V,K103N,V1081	FTC	EFV/NVP	BF
3	L24I	K103N	SM	EFV/NVP	B
4	SM	K103N	SM	EFV/NVP	DF
5	L10I	SM	SM	SM	B
6	A71T	SM	SM	SM	B
7	SM	SM	SM	SM	B
8	SM	V106M/T215S	ABC/AZT/D4T/DDI	NVP/EFV	BF
9	L10V	K103N	SM	EFV/NVP	B
10	L10I/A71T	SM	SM	SM	B
11	L10V	SM	SM	SM	F
12	SM	K103N/P225H	SM	EFV/NVP	B
13	SM	SM	SM	SM	F
14	SM	K103N	SM	EFV/NVP	F
15	SM	K103N	SM	EFV/NVP	F
16	SM	K103N	SM	EFV/NVP	F
17	SM	SM	SM	SM	B
18	SM	SM	SM	SM	B
19	SM	SM	SM	SM	B
20	SM	SM	SM	SM	B
21	L10V	SM	SM	SM	BF
22	SM	K103N	SM	EFV/NVP	B
23	SM	SM	SM	SM	B
24	SM	SM	SM	SM	B
25	SM	SM	SM	SM	B

5. DISCUSSÃO

Desde a inicio da terapia antirretroviral com o AZT em 1987 com a clássica publicação de Margaret Fishel, a inicial euforia foi seguida desalento ao se verificar que pacientes com monoterapia desenvolviam resistência em menos de 2 meses. Sequencialmente observou-se que duas drogas era melhor que uma, porém o problema da resistência precoce permanecia. Somente com a introdução dos ITRNN e posteriormente com os inibidores de protease a partir do início de 1996 em nosso país, e final de 1995 nos Estados Unidos da América, a possibilidade de indetectabilidade da carga viral do HIV tornou-se possível, porém o problema da resistência permanecia, pois dependia de adesão ao tratamento de uma forma absolutamente rigorosa.

Diversos trabalhos passaram a demonstrar o problema da resistência as diferentes classes de antirretrovirais, sendo que na região metropolitana da Baixada Santista, Caseiro (2000), em tese de doutorado mostrava resistência primária global de 38% sendo que 34% aos Inibidores de transcriptase reversa não nucleosídeo, mais recentemente Gagliani (2010) demonstrou em Santos, resistência aos antirretrovirais, de 16.2% aos IRTNN; 20% aos IRTN e 2,5% aos IP. Quanto a resistência de pelo menos duas classes de ARVs (IRTNN e IRTN) foram 5% e não foi observado nenhum paciente resistente as três classes de ARVs.

Neste estudo observamos uma prevalência global de mutações adquiridas de (13/25) 52%, em outras palavras mais da metade dos pacientes que iniciam terapia antirretroviral já tem resistência a algum dos medicamentos e com comprometimento futuro de seu tratamento. Das 13 mutações encontradas que apresentaram perda de atividade dos ATR, observou-se que a mais prevalente em

10 casos foi a K103N, que implica em perda total para a NVP e ao EFZ, em uma amostra, a de número 8 na Tabela 5 observamos a mutação V106M, que implica resistência total também ao EFZ e NVP, esta mutação interessante não ocorre em vírus subtipo B; e no caso justamente tratasse de um vírus recombinante BF. Na amostra 8 também podemos observar mutação a diversos ITRN; neste caso esta cepa é um exemplo de vírus multirresistente, perda de sensibilidade a dois grupos de ATR. A amostra de número 10 da Tabela 5 podemos observar duas mutações na protease (L10I / A71T) que apesar de ser consideradas mutações menores implicam em diminuição de susceptibilidade ao medicamento IP Nelfinavir, apesar desta droga não ser mais utilizada no arsenal terapêutico de tratamento do HIV, a presença destas duas mutações implica necessariamente em resistência transmitida .

No Brasil, em 2003, pesquisa realizada com 500 pacientes da Rede Nacional de Genotipagem (Renageno) demonstrou que somente 7% não apresentavam resistência a nenhum dos anti-retrovirais. Em outro estudo realizado na Escola Paulista de Medicina com 791 pacientes, a não-resistência foi menor ainda: apenas 1%. O mesmo levantamento revelou que 94,7% eram resistentes aos inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), 58%, aos inibidores da protease (IP), e 48%, aos inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos (ITRNN).

Em relação aos subtipos do HIV, predominam o Subtipo B (64%), F (20%), B/F (12%) e D/F (4%), este dado chama atenção pelo fato de que predomina o subtipo B, porém com valores elevados do F e da CRF B/F caracterizada previamente aqui em Santos, é digno de nota que esta recombinação

parece estar se expandindo na Baixada Santista. Outro dado relevante é que 32% dos pacientes fazem o diagnóstico da infecção pelo HIV já bastante imunodeprimido, isto é, com CD4 menor que 200 células/mm³, muitas vezes iniciam tratamento ou abrem o diagnóstico com infecção oportunistas, de certa forma estes dados podem explicar pelo menos em parte a elevada mortalidade pelo HIV em nossa região. Por fim pudemos observar que pacientes que iniciaram terapia com HIV com mutação adquirida, que seria mesmo de se esperar tem menos chance de estar com carga viral indetectável após um ano de tratamento, isto é terem sucesso ao tratamento em relação aos pacientes sem mutação primária.

6. CONCLUSÃO

1. A resistência adquirida no município de Itanhaém FOI DE 52 % NA AMOSTRA ANALISADA.

2. A resistência primária predominante foi aos ITRNN- 11 (44 %); ITRN -1 (4 %) e aos IP -1 (4 %) e 1 (4 %) caso de resistência a dois grupos ITRNN e ITRN

2. Em relação a diversidade genética do HIV predominam o Subtipo B (64%), F (20%), B/F (12%) e D/F (4%).

3. Trinta e dois por cento dos pacientes tem CD4 ao inicio do tratamento menor que 200 células por mm³.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8

BARRE-SINOUSI, F. Isolation of a T -lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, 220:668-71, 1983.

CAMAUR, D.; D. TRONO. Characterization of human immunodeficiency virus tipo 1 Vif particle incorporation. *J. Virol.* 70, p. 6106-6111, 1996.

CARR, J. K. Full-length sequence and mosaic structure of a human immunodeficiency virus type 1 isolate from Thailand. *J Virol* 70:5935-43, 1996.

CARR, J. K. Reference sequences representing the principle genetic diversity of HIV-1 in the Pandemic. *Human retroviruses and AIDS: a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences*, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, 1998a.

CHARNEAU, P. Isolation and envelope sequence of a highly divergent HIV-1 isolate: definition of a new HIV-1 group. *Virology* 205(1):247-53, 1994.

COFFIN, J. M. Structure, replication, and recombination of retrovirus genomes: some unifying hypotheses. *J Gen Virol* 42:1-26, 1979.

CONLON, C.P., et al., *Heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1 variants associated with zidovudine resistance*. *J Infect Dis.* 169(2): p. 411-5, 1994.

COX, S.W., et al., *Loss of synergistic response to combinations containing AZT in AZT-resistant HIV-1*. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 8(7): p. 1229-34, 1992.

DE LEYS, R., VANDERBORG, T.H. Isolation and partial characterization of an unusual human immunodeficiency retrovirus from two persons of west-central African origin. *J Virol* 64(3):1207-16, 1990.

DOOLITTLE, R. F. Origins and evolutionary relationships of retroviruses. *Q. Rev. Biol.* 64: 1-30, 1989.

EIGEN, M. and BIEBRICHER, C. K. Sequence space and quasispecies distribution. In *RNA Genetics*, pp. 211, 1988.

ERICE, A., et al., *Brief report: primary infection with zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1*. N Engl J Med. 328(16): p. 1163-5, 1993.

GAGLIANI, Luiz Henrique Primary antiretroviral resistance and HIV – 1 is the major determinant of HAART virologic failure in the city of Santos, Brazil., Wagner Alkmim, Maria Cecília A. Sucupira, Dercy José de Sá Filho, Marcos Montani Caseiro, Ricardo Sobhie Diaz. 7th European HIV Drug Resistance Workshop, 25 – 27 March, Stockholm, Sweden, 2009.

GAO, F., YUE, L., WHITE, A., et al. - “Human infection by genetically diverse SIVSM-related HIV-2 in west Africa”, Nature, v. 358, pp.495-499, 1992.

GAO, F. et al. Genetic diversity of human immunodeficiency virus type 2: evidence for distinct sequence subtypes with differences in virus biology. J. Virol. 68, 7433 ± 7447, 1994.

GAO, F., ROBERTSON, D. L. The heterosexual human immunodeficiency virus type 1 epidemic in Thailand is caused by an intersubtype (A/E) recombinant of African origin. J Virol 70:7013-29, 1996.

GAO, F. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes*. Nature . 397:436–41, 1999.

GAO, Q. The same mutation that encodes low-level human immunodeficiency virus type 1 resistance to 2',3'-dideoxynosine and 2',3'- dideoxycytidine confers high-level resistance to the(-) enantiomer of 2',3'- dideoxy-3'-thiacytidine. Antimicrob. Agents Chemother ., 37, 1390-1392, 1993.

GURTLER, L. G. A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180) from Cameroon. J.; Virol 68:1581-5, 1994.

HOOPER, e. *The River: A Journey to the Source of HIV and AIDS*, Edward Hooper, 2000.

HIRSCH, M.S. Antiretroviral drug resistance testing in adults with HIV infection Implications for clinical management. JAMA, 279 (24): 1984-1991, 1998.

HIRSCH, M.S., et al. *Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: recommendations of an International AIDS Society-USA Panel*. Jama. 283(18): p. 2417-26, 2000.

HIRSCH, M.S., et al., *Antiretroviral drug resistance testing in adults infected with human immunodeficiency virus type 1: 2003 recommendations of an International AIDS Society-USA Panel*. Clin Infect Dis. 37(1): p. 113-28, 2003.

HU, W.-S., and H. M. Temin.. Genetic consequences of packaging two RNA genomes in one retroviral particle: Pseudodiploidy and high rate of genetic recombination. PNAS (USA) 87:1556-60. 1990a.

HU, W. S., and H. M. Temin. Retroviral recombination and reverse transcription. Science 250:1227-33. 1990b.

KAMKAMIDZE, G., SULLIVAN, T., and CHARBONNEAU T. *Occurrence of HIV-1 reverse transcriptase gene mutation at codon 215 in HIV-infected infants.* J Clin Virol. 22(1): p. 143-8, 2001.

KOSTRIKIS, L. G., BAGDADES, E., CAO, Y., ZHANG, L., *et al.* Genetic analysis of human immunodeficiency virus type 1 strains from patients in Cyprus: identification of a new subtype designated subtype I. J Virol 69:6122-30, 1995.

KOTHE, D., *et al.* *Performance characteristics of a new less sensitive HIV-1 enzyme immunoassay for use in estimating HIV seroincidence.* J Acquir Immune Defic Syndr. 33(5): p. 625-34, 2003.

KUIKEN, C. L. Human retroviruses and AIDS 2000: a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, N.Mex. 2000.

JANSSENS, W., HEYNDRICKX, L. Genetic and phylogenetic analysis of env subtypes G and H in central Africa. ARHR 10:877-9. 1994.

LEITNER, T., ALAEUS, A., MARQUINA, S., LILJA, E., *et al.* Yet another subtype of HIV type 1? ARHR 11:995-7. 1995.

LITTLE, S.J., *et al.*, Antiretroviral-drug resistance among patients recently infected With HIV. N Engl J Med. 347(6): p. 385-94, 2002.

LITTLE, S.J., *et al.*, Reduced antiretroviral drug susceptibility among patients with primary HIV infection. Jama, 1999. 282(12): p. 1142-9.

LEVY, J.A., *ed.*, *ed.* -HIV and the pathogenesis of AIDS. 2.ed. Washington, ASM Press, 1998.

LI, W.H., TANIMURA, M., and P. M. Sharp. - Rates and dates of divergence between AIDS virus nucleotide sequences. Molecular Biology and Evolution 5:313-30, 1988.

LOUWAGIE, J., MCCUTCHAN, F. E., PEETERS, M., BRENNAN, *et al.*. Phylogenetic analysis of gag genes from 70 international HIV-1 isolates provides evidence for multiple genotypes. *AIDS* 7:769-80. . 1993.

LOUWAGIE, J., JANSSENS, W., MASCOLA, J., HEYNDRICKX, *et al.* Genetic diversity of the envelope glycoprotein from human immunodeficiency virus type 1 isolates of African origin. *J Virol* 69:263-71. 1995.

MASQUELIER, B., *et al.*, Primary infection with zidovudine-resistant HIV. *N Engl J Med.* 329(15): p. 1123-4, 1993.

MCCUTCHAN, F.. Genetic variants of HIV-1 in Thailand. *ARHR* 8:1887-95, 1992.

MCCUTCHAN, F. E. Subtype G and multiple forms of A/G intersubtype recombinant human immunodeficiency virus type 1 in Nigeria. *Virology* 254:226-34, 1999.

McCLURE, M. A. Evolutionary history of reverse transcriptase. In Salkaka, A. M. and Goff S.P.(eds). *Reverse Trasncriptase*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 425-856, 1993.

MONTAVON, C., Delaporte, and M. Peeters. The identification of a complex A/G/I/J recombinant HIV-1 virus in different West African countries. *ARHR* 15:1707-12, 1999

MULLER, V.; DE BETHUNE, M. P.; KOBER, A.; *et al.* Patterns of resistance and cross-resistance to human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase inhibitors in patients treated with the nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor lorivide. *Antimicrob Agents Chemother* 42, p. 3129-3129, 1998.

MYERS, G. Human retroviruses and AIDS: a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico. 1988.

MYERS, G. The emergence of simian/human immunodeficiency viruses. *ARHR* 8:373-86, 1992.

MYERS, G., WAIN-HOBSON, S., HENDERSON, L., KORBER, B., JEANG, *et al.* Human retrovirus and AIDS 1994: a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences, Eds. Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, NM, 1994.

NASIOULAS, G. Molecular analysis of the full-length genome of HIV type 1 subtype I: evidence of A/G/I recombination. *ARHR* 15:745-58, 1999.

PETERLIN, B.M. Molecular biology of HIV. In: J.A.Levy (ed.), *The Retroviridae*, vol.4 Plenum Press, New York, 1995.

PERRON, H., GARSON J.A., BEDIN F., BESEME F. *et al.* Research Group on Multiple Sclerosis. Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci* 94: 7583-7588, 1997.

POIEZ, B.J., RUSCETTI, F.W., GADZAR, A.F., BUNN, P.A., *et al.* Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 77: 7415, 1980.

QUINONES-MATEU, M. E., and ARTS E. J. Recombination in HIV-1: update and implications. *AIDS Rev* 1:89-100. 1999.

SALEMI, M. Dating the common ancestor of SIVcpz and HIV-1 group M and the origin of HIV-1 subtypes by using a new method to uncover clock-like molecular evolution. *FASEB J.* 15:276-278. 2001.

ROBERTSON, D. L. Recombination in HIV-1. *Nature*.374:124-6. 1995.

ROBERTSON, D. L., and GAO, F. Recombination of HIV Genomes, Saksena, N. ed, vol. *Human Immunodeficiency Viruses*. Medical Systems SpA, Rome, 1998.

SIMON, F. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nat Med* 4:1032-7, 1998.

SALMINEN, M. O., KOCH, C. Recovery of virtually full-length HIV-1 provirus of diverse subtypes from primary virus cultures using the polymerase chain reaction. *Virology* 213:80-6, 1995a.

SALMINEN, M. O. Identification of breakpoints in intergenotypic recombinants of HIV type 1 by bootscanning. *ARHR* 11:1423-25, 1995b.

SUCUPIRA, M.C.; CASEIRO, M. M.; ALVES, K. *et al.* High Levels of Primary Antiretroviral Genotypic Resistance and B/F Recombinants in Santos SP, Brazil. 676, 11th CROI, San Francisco, 2004.

TRIQUES, K. Full-length genome sequencing of divergent African HIV-1 subtype F viruses leads to the identification of a new HIV-1 subtype designated K. *ARHR* 16:139-151, 2000.

WELKER, R., KOTTLER, HR. - Human immunodeficiency virus type 1 Nef protein is incorporated into virus particles and specifically cleaved by the viral proteinase. *Virology* 219:228, 1996.

YERLY, S., et al., Acute HIV infection: impact on the spread of HIV and transmission of drug resistance. *Aids*. 15(17): p. 2287-92, 2001.

YOSHIDA, M., MIYOSHI, I., HINUMA, Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell and its implication in the disease. *Proceeding of the National of Academy Sciences of the USA*, 79: 2031-2035, 1982.

VANDAMME ,A.M. On behalf of the European HIV Drug Resistance Guidelines Panel. HIV drug resistance guidelines. European issues. Program and abstracts of the First European HIV Drug Resistance Workshop: From Basic Science to Clinical Implications; March 6-8. Luxembourg, Luxembourg, 2003

VERNAZZA, P.L. et al., Potent antiretroviral treatment of HIV-infection results in suppression of the seminal shedding of HIV. The Swiss HIV Cohort Study. *Aids*. 14(2): p. 117-21, 2000.

ZHU, T., KORBER, B.T., NAHMIAS, A.J., SHARP, P.M., HO D.D., *et al.* An African HIV sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic. *Nature* ; 391:594-7, 1998.

ANEXO 2 - Resultados das análises do banco de dados *HIV drug resistance database (Stanford)*.

AMOSTRA - 1

STANFORD UNIVERSITY HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
Fastest public database focused on HIV-1 drug resistance. We analyze the original form of data underlying HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RT GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVDB PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 10-May-2012 09:29:16 PDT

Seq ID: W04RPS

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 248
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (96.0%)
2. RT: B (95.8%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts	None
PR	Ambiguous Positions	None
PR	Unusual Readings	None
RT	Stop Codons, Frame Shifts	None
RT	Ambiguous Positions	None
RT	Unusual Readings	None

Blue bars indicate distance from consensus (0-100). Red bars indicate stop codons or RT stop codons. Red boxes indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PR Major Resistance Mutations: None
 PR Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: I15V, M36I, N37D, L63I, H89K

Protease Inhibitors

atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible

Drug Resistance Interpretation: RT

NNRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: K103N, E138A
 Other Mutations: Y95L, A98S, K101R, D121Y, K122E, D125C, I135L, Q207E, R211K, P243S, V245E

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (d4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments:

NNRTI

- K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. By itself it has no effect on ETR susceptibility. However, it may have a synergistic effect with L100I and possibly K101P on ETR susceptibility.
- E138A is a polymorphism that emerges during ETR therapy and weakly reduces ETR and RPV susceptibility in combination with other mutations.

Other

- A98S is a common polymorphism that does not reduce NNRTI susceptibility.
- K101R is an uncommon polymorphism that has not been associated with decreased NNRTI susceptibility.

AMOSTRA-2

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data underlying HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 10-May-2012 05:25:46 PDT

Seq ID: W05CGSS

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
Sequence includes RT: codons: 1 - 248
There are no insertions or deletions
Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: F (94.6%)
2. RT: B (91.9%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue lines indicate differences from consensus; tall blue lines indicate sites associated with drug resistance. Red lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
PI Minor Resistance Mutations: None
Other Mutations: I15V, K20R, E35D, M36I, R41K, R57K, Q61N, I62V, G68E, L89M

Protease Inhibitors	
atazanavir/r (ATV/r)	Susceptible
darunavir/r (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir/r (FPV/r)	Susceptible
indinavir/r (IDV/r)	Susceptible
lopinavir/r (LPV/r)	Susceptible
nefinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir/r (SQV/r)	Susceptible
tipranavir/r (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- K20R/M/V are associated with resistance to multiple PIs when present with other mutations. K20R/M/I are polymorphic; K20T/V are nonpolymorphic. Compared with other PIs, K20I/T/V are more likely to be selected by NFV and to reduce its susceptibility.
- M36I is a highly polymorphic mutation that appears to improve the fitness of viruses with major PI-resistance mutations. M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes.
- I62V is a highly polymorphic mutation that is more common in PI-treated compared with untreated persons.
- L89M is a common polymorphism that is not associated with decreased PI susceptibility.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: M184V
NNRTI Resistance Mutations: K103N, V108I
Other Mutations: K20R, V35T, A98S, K102KQ, I135V, D177G, D218DE, V245Q, E248D

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	High-level resistance	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Potential low-level resistance	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (d4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	High-level resistance		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

NRTI

- M184V/I cause high-level in vitro resistance to 3TC and FTC and low-level in vitro resistance to ddI and ABC. M184V/I increase susceptibility to AZT, TDF, and d4T.

NNRTI

- K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. By itself it has no effect on ETR susceptibility. However, it may have a synergistic effect with L100I and possibly K101P on ETR susceptibility.
- V108I causes ~2-fold reduction in NVP and EFV susceptibility. It strictly an accessory mutation which is minimally polymorphic.

AMOSTRA - 3

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE

HOME
GENOTYPE-RX
GENOTYPE-PHENO
GENOTYPE-CLINICAL
HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Data: 31-May-2012 10:29:26 PDT

Seq ID: W07GS

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 252
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (98.0%)
2. RT: B (95.5%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	224
RT	Unusual Residues:	197

Blue bars indicate differences from consensus B. RT blue bars indicate sites associated with drug resistance. Red bars indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations:	None
PI Minor Resistance Mutations:	L24I
Other Mutations:	K20R/M

atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Potential low-level resistance
lopinavir (LPV/r)	Potential low-level resistance
neftravir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

- PI Minor**
 - L24I is associated with reduced susceptibility to IDV/r and LPV/r and possibly SQV/r, and ATV/r when present with other mutations. It increases TPV/r susceptibility.
- Other**
 - K20R/M/I/T/V are PI-selected mutations. K20R is highly polymorphic and probably makes the least contribution to decreased PI susceptibility. K20V/M/T/V are nonpolymorphic in most subtypes. They appear to be selected most commonly by NFV and to reduce its susceptibility.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations:	None
NNRTI Resistance Mutations:	K103N
Other Mutations:	V35I/T, T39S, V60I, D121Y, K122E, I142V, G196E, Q197T, T200L, E224X, V245K

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
dianosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

- NNRTI**
 - K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. It has no effect on ETR or RPV susceptibility.

AMOSTRA - 4

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to record, store, and analyze the different forms of drug-resistance HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 10-May-2012 05:58:07 PDT

Seq ID: W08RMOS

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 234
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: D (95.9%)
2. RT: F (95.2%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue lines indicate differences from consensus. Red lines indicate sites associated with drug resistance. Green lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: I15V, M36I, R41K, I54V

Protease Inhibitors	
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nelonavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- M36I is a highly polymorphic mutation that appears to improve the fitness of viruses with major PI-resistance mutations. M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: K103N
 Other Mutations: V35A, T39S, S162A, E169D, K173T, Q174K, T200A, Q207E, R211K

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

NNRTI

- K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. By itself it has no effect on ETR susceptibility. However, it may have a synergistic effect with L100I and possibly K101P on ETR susceptibility.

AMOSTRA – 5

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 10-May-2012 05:32:22 PDT

Seq ID: W10LAS

Summary Data

Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence Includes RT: codons: 1 - 248
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (94.9%)
2. RT: B (95.4%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue Bars indicate differences from consensus B. Red Bars indicate also associated with drug resistance. **Red/Blue** indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: L10I
 Other Mutations: I3L, Q18H, L19I, E35D, M36I, L63P, H69Q

	Protease Inhibitors
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nefinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

PI Minor

- L10V/F/R/Y are associated with resistance to most PIs when present with other mutations. L10V occur in 5-10% of untreated persons. L10F is a non-polymorphic mutation which is associated with decreased susceptibility to all PIs except ATV, SQV, and TPV. L10R/Y are rare poorly characterized mutations.

Other

- M36I is a highly polymorphic mutation that appears to improve the fitness of viruses with major PI-resistance mutations. M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes.
- L63P is a common polymorphism that becomes even more common in persons receiving PIs.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: K102Q, I135T, I178L, I202V, R211K, V245M

	Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

AMOSTRA -6

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A central public database designed to represent, store, and assist in the interpretation of data regarding HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

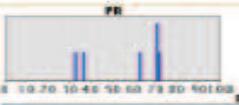
Date: 10-May-2012 05:38:02 PDT

Seq ID: W11JSA

Summary Data
 Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 248.
 There are no insertions or deletions.
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:
 1. PR: B (95.0%)
 2. RT: B (95.7%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None



Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None



Blue lines indicate differences from consensus B. **RT** and **PR** indicate sites also associated with drug resistance. **StopCodon** indicates QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: A71T
 Other Mutations: L33I, N37S, L63P, I72E

Protease Inhibitors	Susceptibility
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nelinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

- PI Minor**
 - A71T/V are polymorphisms that occur in 2-3% of untreated persons but which increase in frequency in persons receiving PIs. A71V/L are nonpolymorphic mutations that occur in viruses with multiple PI-resistance mutations, it is not known whether these compensatory mutations differentially impact different PIs.
- Other**
 - L33F is selected by FPV/r, DRV/r, LPV/r, ATV/r, and TPV/r, and contributes decreased susceptibility to these PIs. L33I is a less common PI-selected mutation.
 - L63P is a common polymorphism that becomes even more common in persons receiving PIs.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: S48T, K122E, T200E, V245K

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

AMOSTRA - 7

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
Stanford Public Database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data resulting from HIV drug resistance

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 10-May-2012 06:18:17 PDT

Seq ID: W12JCR

Summary Data

Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence Includes RT: codons: 1 - 237
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (96.0%)
2. RT: B (95.3%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue bars indicate difference from consensus. Green bars indicate sites associated with drug resistance. Red bars indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: L19Q, R41K, L63H, H69Y, I72V

	Protease Inhibitors
atazanavir/r (ATV/r)	Susceptible
darunavir/r (DRV/r)	Susceptible

fosamprenavir/r (FPV/r)	Susceptible
indinavir/r (IDV/r)	Susceptible
lopinavir/r (LPV/r)	Susceptible
nefelinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir/r (SQV/r)	Susceptible
tipranavir/r (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: K122E, D123S, I135T, K166R, T200A, F214L

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

AMOSTRA – 8

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
Central public database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data including HIV drug resistance

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 01-Jun-2012 04:24:35 PDT

Seq ID: W16JEMA

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 234
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (92.3%)
2. RT: F (93.9%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	42

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue line indicates difference from consensus B; Blue bars indicate sites associated with drug resistance; Red bars indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: I3L, V11FV, T12IT, I13V, I15V, K20R, E35D, M36L, R41K, W42RW, K45R, R57K, K2V

Protease Inhibitors

atazanavir/r (ATV/r)	Susceptible
darunavir/r (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir/r (FPV/r)	Susceptible
indinavir/r (IDV/r)	Susceptible
lopinavir/r (LPV/r)	Susceptible
nefnavir (NFV)	Susceptible
sagunavir/r (SQV/r)	Susceptible
vpranavir/r (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- K20R/M/I/T/V are PI-selected mutations. K20R is highly polymorphic and probably makes the least contribution to decreased PI susceptibility. K20R/W/T/V are nonpolymorphic in most subtypes. They appear to be selected most commonly by NFV and to reduce its susceptibility.
- M36L is weakly associated with PI resistance in subtype B viruses when present with other mutations. However, M36L is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations at this position of unknown significance.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: T215S
 NNRTI Resistance Mutations: Y188IY
 Other Mutations: V35I, K49R, I135T, I142IT, S162C, E169D, K173A, Q174K, I178M, T200A, Q207D, R211T, F214I

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Potential low-level resistance	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Low-level resistance	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Low-level resistance	rilpivirine (RPV)	Susceptible
dianostine (DDI)	Potential low-level resistance		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

NRTI

- T215Y/F cause AZT and D4T resistance and reduce susceptibility to ABC, ddi, and TDF. T215S/C/D/E/W/W/A/L do not decrease NRTI susceptibility but arise from viruses that once contained T215Y/F.

AMOSTRA - 9

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A world-wide database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data arising from HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 19-May-2012 05:02:06 PDT

Seq ID: W18JCJ

Summary Data

Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence Includes RT: codons: 1 - 232
 There are no insertions or deletions.
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (93.6%)
2. RT: B (96.7%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue bars indicate differences from consensus B. **Red bars** indicate differences associated with drug resistance. **Red lines** indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: L10V
 Other Mutations: I15V, M36I, L63A

Protease Inhibitors	Susceptibility
asazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nefinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

PI Minor

- L10I/V/F/R/Y are associated with resistance to most PIs when present with other mutations. L10V occur in 5-10% of untreated persons. L10F is a non-polymorphic mutation which is associated with decreased susceptibility to all PIs except ATV, SQV, and TPV. L10R/Y are rare poorly characterized mutations.

Other

- M36I is a highly polymorphic mutation that appears to improve the fitness of viruses with major PI-resistance mutations. M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: K103N
 Other Mutations: K11R, K20R, K122E, I195T, Q174R, I202V, Q207E, R211K

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

NNRTI

- K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. By itself it has no effect on ETR susceptibility. However, it may have a synergistic effect with L100I and possibly K101P on ETR susceptibility.

AMOSTRA - 10

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to support clinical and research in the diagnosis and management of HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 21-May-2012 06:19:03 PDT

Seq ID: **W19ER**

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 249
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (97.6%)
2. RT: B (96.1%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	37/79

Blue bars indicate differences from consensus B. Blue bars indicate differences associated with drug resistance. Red bars indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: L10I, A71T
 Other Mutations: T12K, I15V, Q18H, L19L, E35D, M36I, N37E, L63P, V82L, I93L

Protease Inhibitors	Interpretation
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nefinavir (NFV)	Potential low-level resistance
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

PI Minor

- L10I/V/F/Y are associated with resistance to most PIs when present with other mutations. L10I occur in 5-10% of untreated persons. L10F is a non-polymorphic mutation which is associated with decreased susceptibility to all PIs except ATV, SQV, and TPV. L10R are rare poorly characterized mutations.
- A71T/V are polymorphisms that occur in 2-3% of untreated persons but which increase in frequency in persons receiving PIs. A71V are nonpolymorphic mutations that occur in viruses with multiple PI-resistance mutations. It is not known whether these compensatory mutations differentially impact different PIs.

Other

- M36I is a highly polymorphic mutation that appears to improve the fitness of viruses with major PI-resistance mutations. M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes.
- M36L is a highly polymorphic mutation that appears to improve the fitness of viruses with major PI-resistance mutations. M36L is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations of uncertain significance.
- L63P is a common polymorphism that becomes even more common in persons receiving PIs.
- V82I is a polymorphism that is common in some non-B subtypes; it has little if any effect on PI susceptibility.
- I93L is a common polymorphism. It is the consensus residue in most subtypes. In subtype B, it is weakly associated with PI treatment.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: T215A/T
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: V35L, I37N, K73L, K122E, I135T, I178L, L210F, F214L

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

NRTI

- T215Y causes AZT and D4T resistance and reduces susceptibility to ABC, ddi, and TDF particularly when it occurs in combination with M41L and L210W. T215S/C/D/E/F/V are transitions between wild type and the mutations Y and F. Most do not reduce NRTI susceptibility but their presence may suggest that T215Y or F may also be present. T215A is a highly unusual mutation at this position.

AMOSTRA - 11

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A central public database designed to support clinical and public health efforts to reduce HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 17-May-2012 05:59:05 PDT

Seq ID: W20FG

Summary Data

Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence Includes RT: codons: 1 - 243
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: F (90.3%)
2. RT: F (95.5%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	243
RT	Unusual Residues:	None

Blue lines indicate differences from consensus; RT: Blue lines indicate sites associated with drug-resistance; Red lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: L10V
 Other Mutations: I13V, I15V, G17E, M36L, R57K, Q61N, L63LP, I72R, L89M

Protease Inhibitors	Susceptibility
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nefinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

PI Minor

- L10V/W/F/R/Y are associated with resistance to most PIs when present with other mutations. L10V occur in 5-10% of untreated persons. L10F is a non-polymorphic mutation which is associated with decreased susceptibility to all PIs except ATV, SQV, and TPV. L10R/Y are rare poorly characterized mutations.

Other

- I13V is a common polymorphism that is more common in treated than untreated subtype B isolates. In several subtypes, it is the consensus residue.
- M36I is a highly polymorphic mutation that appears to improve the fitness of viruses with major PI-resistance mutations. M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations of uncertain significance.
- L63P is a common polymorphism that becomes even more common in persons receiving PIs.
- L89M is a common polymorphism that is not associated with decreased PI susceptibility.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: V35T, T39L, K122E, I135T, S162C, Q174R, I178M, T200A, Q207E, R211K, T240K

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
seavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments :

AMOSTRA -12

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data underlying HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 17-May-2012 06:39:01 PDT

Seq ID: W22RB

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 238
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (94.9%)
2. RT: B (94.8%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Blue lines indicate differences from consensus. *Red lines* indicate sites associated with drug resistance. *Red lines* indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: N37S, R41K, R57K, I62V, I64V, I93L

Protease Inhibitors	Susceptibility
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nevirapine (NVP)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- I62V is a highly polymorphic mutation that is more common in PI-treated compared with untreated persons.
- I93L is a common polymorphism. It is the consensus residue in most subtypes. In subtype B, it is weakly associated with PI treatment.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: K103N, P225H
 Other Mutations: K11R, D121Y, K122E, I135T, S162C, D177E, T200A, R211K, Y232F

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

NNRTI

- K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. By itself it has no effect on ETR susceptibility. However, it may have a synergistic effect with L100I and possibly K101P on ETR susceptibility.
- P225H increases EFV resistance in combination with K103N.

AMOSTRA - 13

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE

A curated public database designed to retrieve, store, and analyze the drug-resistance of data extending HIV drug resistance

HOME
GENOTYPE-RX
GENOTYPE-PHENO
GENOTYPE-CLINICAL
HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 21-May-2012 06:29:52 PDT

Seq ID: W26LSF

Summary Data
 Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence Includes RT: codons: 1 - 206
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:
 1. PR: F (94.6%)
 2. RT: F (94.7%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue bars indicate differences from consensus B. Red bars indicate sites associated with drug resistance. Red lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: T12S, I13V, I15V, E35D, M36I, R41K, R57K, Q61N, V77I, L89M

Protease Inhibitors	
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nefinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- I13V is a common polymorphism that is more common in treated than untreated subtype B isolates. In several subtypes, it is the consensus residue.
- M36I is a highly polymorphic mutation that appears to improve the fitness of viruses with major PI-resistance mutations. M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes.
- V77I is a common polymorphism that is associated with NCV therapy.
- L89M is a common polymorphism that is not associated with decreased PI susceptibility.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: V35Q, K49R, I135V, S162C, E169D, K173T, Q174K, T200A

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

AMOSTRA - 14

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to help interpret, store, and analyze the drug-resistance data associated with HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 12-Jun-2012 10:42:00 PDT

Seq ID: W365I

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 242
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (94.6%)
2. RT: B (95.3%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	295
RT	Unusual Residues:	None

Blue bars indicate differences from consensus. All blue bars indicate differences associated with drug resistance. Red bars indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: I15V, M36I, N37D, L53V, H59K, K70E

Protease Inhibitors	Susceptibility
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible

fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nevirapine (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

- Other
 - M36I is weakly associated with PI resistance in subtype B viruses when present with other mutations. However, M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations at this position of unknown significance.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: K103N
 Other Mutations: V35L, V60I, A98S, K101R, D121Y, K122E, D123E, I135L, E138A, Q197K, Q207E, R211K, H235K

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

- NNRTI
 - K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. It has no effect on ETR or RPV susceptibility.
- Other
 - A98S is a common polymorphism that does not reduce NNRTI susceptibility.
 - K101R is an uncommon polymorphism that is not associated with decreased NNRTI susceptibility.
 - E138A is a polymorphism that may contribute to reduced ETR and RPV susceptibility in combination with other NNRTI-resistance mutations.

AMOSTRA - 15

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A central public database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data involving HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 01-Jun-2012 04:52:16 PDT

Seq ID: **W29JVA**

Summary Data

Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
Sequence Includes RT: codons: 1 - 248
There are no insertions or deletions.
Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: F (92.6%)
2. RT: F (94.8%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue lines indicate differences from consensus B. Red lines indicate sites associated with drug resistance. Red/Green indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
PI Minor Resistance Mutations: None
Other Mutations: T12S, I15V, K20R, E35D, M36L, R41K, R57K, Q61N, H69Y, I72T, L89M

Protease Inhibitors

atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible

fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nelinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- K20R/M/V/T/V are PI-selected mutations. K20R is highly polymorphic and probably makes the least contribution to decreased PI susceptibility. K20V/M/T/V are nonpolymorphic in most subtypes. They appear to be selected most commonly by NFV and to reduce its susceptibility.
- M36L is weakly associated with PI resistance in subtype B viruses when present with other mutations. However, M36 is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations at this position of unknown significance.
- L89M is a common polymorphism that is not associated with decreased PI susceptibility.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
NNRTI Resistance Mutations: K103N
Other Mutations: EEK, K20R, V35T, T39N, K122E, D123E, S162C, E169D, K173A, Q174K, D192N, T200A, Q207E, R211K, L228F, V245Q, E248D

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
dideoxine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

NNRTI

- K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. It has no effect on ETR or RPV susceptibility.

AMOSTRA - 16

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE

A curated public database designed to report, store, and analyze the divergent forms of data underlying HIV drug resistance.

HOME
GENOTYPE-RX
GENOTYPE-PHENO
GENOTYPE-CLINICAL
HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

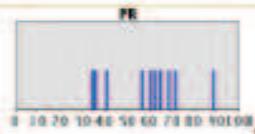
Date: 01-Jun-2012 05:06:14 PDT

Seq ID: W30ARS

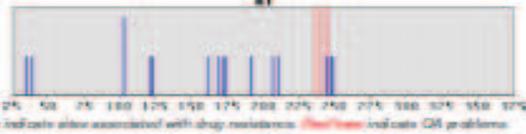
Summary Data
 Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence Includes RT: codons: 1 - 249
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:
 1. PR: F (94.3%)
 2. RT: F (95.4%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None



Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	258, 244
RT	Unusual Residues:	None



Blue lines indicate differences from consensus. **Red lines** indicate those associated with drug resistance. **Red bars** indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations:	None
PI Minor Resistance Mutations:	None
Other Mutations:	E35D, M36I, R41K, R57K, Q61N, L69V, E65D, H69Y, I72T, L89M

Protease Inhibitors	
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible

indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
neftravir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

- Other
- M36I is weakly associated with PI resistance in subtype B viruses when present with other mutations. However, M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations at this position of unknown significance.
- L89M is a common polymorphism that is not associated with decreased PI susceptibility.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations:	None
NNRTI Resistance Mutations:	K103N
Other Mutations:	V35T, T39K, K122E, D123E, S162C, E169D, K173A, Q174K, D192N, Q207E, R211K, K238X, I244X, V245T, E248D, K249R

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (d4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

- NNRTI
- K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. It has no effect on ETR or RPV susceptibility.

AMOSTRA - 17

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
Stanford's public database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data underlying HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 01-Jun-2012 05:45:03 PDT

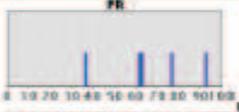
Seq ID: W31JCF

Summary Data
 Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence Includes RT: codons: 1 - 248
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (94.3%)
2. RT: B (95.0%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None



Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None



Blue lines indicate differences from consensus B. Red lines indicate sites also associated with drug resistance. Pink lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: N37C, I52V, L63P, V77L, I93L

	Protease Inhibitors
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
neftravir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- L63P is a common polymorphism that is also selected by PIs.
- V77L is a common polymorphism that is selected by NFV.
- I93L is a common polymorphism. It is the consensus residue in most subtypes. In subtype B, it is weakly associated with PI treatment.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: S48E, D129E, D177G, I202V, R211E, F214L, D218E, L228H

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

AMOSTRA - 18

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to represent, store, and analyze the diverse forms of data underlying HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 04-Jun-2012 10:59:50 PDT

Seq ID: W32ERS

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 248
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (95.3%)
2. RT: B (95.0%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	71

Blue lines indicate differences from consensus. Red bars indicate sites associated with drug resistance. Red lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: I13V, K20KR, M36L, I62V, L63A, I64M

Protease Inhibitors	Susceptibility
atazanavir/r (ATV/r)	Susceptible
darunavir/r (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir/r (FPV/r)	Susceptible
indinavir/r (IDV/r)	Susceptible
lopinavir/r (LPV/r)	Susceptible
neftravir/r (NFV)	Susceptible
saquinavir/r (SQV/r)	Susceptible
tipranavir/r (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- K20R/M/T/V are PI-selected mutations. K20R is highly polymorphic and probably makes the least contribution to decreased PI susceptibility. K20R/M/T/V are nonpolymorphic in most subtypes. They appear to be selected most commonly by NFV and to reduce its susceptibility.
- M36L is weakly associated with PI resistance in subtype B viruses when present with other mutations. However, M36L is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations at this position of unknown significance.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: L12I, V25I/T, M41M/T, K43R, W71F/W, R82K, K101Q, D121H, K122E, I156R, K166R, I178L, V179L, G196E, I202V, V245E

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

Other

- M41L usually occurs with T215Y. This combination of mutations confers high-level resistance to AZT and D4T and low level resistance to ddi, ABC, and TDF. M41T is a highly unusual mutation at this position.
- K101Q is a relatively nonpolymorphic mutation that occurs slightly more commonly in patients receiving NNRTIs. It may contribute to reduced NVP, EFV, and ETR susceptibility when present with other NNRTI-resistance mutations.
- V179L is a common polymorphism is often selected by ETR and RPV salvage therapy. It has not been shown to reduce NNRTI susceptibility.

AMOSTRA - 19

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A publicly accessible database designed to represent, store, and enable the development from of data on drug-resistant HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 04-Jun-2012 16:45:19 PDT

Seq ID: W335A

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 249
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (96.2%)
2. RT: B (95.3%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue lines indicate differences from consensus B. Red lines indicate differences associated with drug resistance. Yellow lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: T12S, N37D, L63H, I72I

Protease Inhibitors

asazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nefinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: K122E, I136T, S162C, T200A, K201T, R211T, V245M, K249R

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

AMOSTRA - 20

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A central public database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data underlying HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 11-Jun-2012 06:15:14 PDT

Seq ID: W94EB

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 246
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (94.6%)
2. RT: B (95.9%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Blue lines indicate differences from consensus B. **OR Blue lines** indicate sites associated with drug resistance. **Red lines** indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: I13V, R41K, D60E, I64V, V77I

Protease Inhibitors	
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nefinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- V77I is a common polymorphism that is selected by NPV.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: E228D, A98S, K102Q, I135R, T155I, D177E, I202V

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
seavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

Other

- A98S is a common polymorphism that does not reduce NNRTI susceptibility.

AMOSTRA - 21

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A central public database designed to improve, disseminate, and analyze the drug-resistance profiles of HIV-1 drug resistance

[HOME](#) [GENOTYPE-RX](#) [GENOTYPE-PHENO](#) [GENOTYPE-CLINICAL](#) [HIVdb PROGRAM](#)

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 11-Jun-2012 06:39:16 PDT

Seq ID: W35GS

Summary Data
 Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 249
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:
 1. PR: F (95.6%)
 2. RT: B (95.6%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

■ Blue bars indicate difference from consensus B ■ Red bars indicate allele associated with drug resistance ■ Orange bars indicate QA problems

Drug Resistance Interpretation: PR
 PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: L10V
 Other Mutations: I15V, E35D, M36L, R41K, R57K, D60E, Q61D

	Protease Inhibitors
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible

fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
neftravir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

PI Minor
 • L10I/V/F/R/Y are associated with resistance to most PIs when present with other mutations. L10I/V occur in 5-10% of untreated persons. L10F is a non-polymorphic mutation which is associated with decreased susceptibility to all PIs except ATV/r, SQV/r, and TPV/r. L10R/Y are rare poorly characterized mutations.

Other
 • M36I is weakly associated with PI resistance in subtype B viruses when present with other mutations. However, M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations at this position of unknown significance.

Drug Resistance Interpretation: RT
 NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: K64R, I135T, V245M

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (d4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

AMOSTRA -22

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to help understand, store, and analyze the drug-resistance of data as well as drug-PII drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 12-Jun-2012 10:42:00 PDT

Seq ID: W365I

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 242
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (94.6%)
2. RT: B (95.3%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	295
RT	Unusual Residues:	None

Blue bars indicate differences from consensus B. All blue bars indicate sites associated with drug resistance. Red lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: I15V, M36I, N37D, L53V, H59K, K70E

Protease Inhibitors	Susceptibility
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
ritonavir (NFV)	Susceptible
saqinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- M36I is weakly associated with PI resistance in subtype B viruses when present with other mutations. However, M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations at this position of unknown significance.

Drug Resistance Interpretation: RT

NNRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: K103N
 Other Mutations: V35L, V60I, A98S, K101R, D121Y, K122E, D123E, I135L, E136A, Q197K, G207E, R211K, H295K

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

NNRTI

- K103N causes high-level resistance to NVP, and EFV. It has no effect on ETR or RPV susceptibility.

Other

- A98S is a common polymorphism that does not reduce NNRTI susceptibility.
- K101R is an uncommon polymorphism that is not associated with decreased NNRTI susceptibility.
- E136A is a polymorphism that may contribute to reduced ETR and RPV susceptibility in combination with other NNRTI-resistance mutations.

AMOSTRA - 23

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE

A central multi-database designed to improve drug use and reduce the drug resistance of data producing HIV drug resistance.

HOME
GENOTYPE-RX
GENOTYPE-PHENO
GENOTYPE-CLINICAL
HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 12-Jun-2012 11:05:48 PDT

Seq ID: W37RCS

Summary Data:
 Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence Includes RT: codons: 1 - 239
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:
 1. PR: B (91.2%)
 2. RT: B (94.7%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problems	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problems	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

Blue Bars indicate differences from consensus B. Red Bars indicate differences associated with drug resistance. Red Bars indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: K14KT, I15V, L19LQ, K20KM, E35DE, M36I, R57K, Q61N, K70R, I72V

	Protease Inhibitors
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
nefinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- K20R/M/V/T/V are PI-selected mutations. K20R is highly polymorphic and probably makes the least contribution to decreased PI susceptibility. K20Y/M/T/V are nonpolymorphic in most subtypes. They appear to be selected most commonly by NFV and to reduce its susceptibility.
- M36I is weakly associated with PI resistance in subtype B viruses when present with other mutations. However, M36I is the consensus amino acid in most non-B subtypes. M36L/V/T are uncommon mutations at this position of unknown significance.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: K11Q, S68G, D122E, I135T, S162CS, E169DE, K173EK, Q174KQ, V179I, I195IT, E202DE

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

Other

- V179I is a common polymorphism; is often selected by ETR and RPV salvage therapy. It has not been shown to reduce NNRTI susceptibility.

AMOSTRA - 24

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
Centralized, public database designed to support, store, and analyze the development of data on drug-resistant HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 20-Jun-2012 11:29:35 PDT

Seq ID: W39EMS

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 214
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

- PR: B (94.9%)
- RT: B (95.3%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	211, 213
RT	Apobec GQF:	G219R

Blue bars indicate differences from consensus B. Red bars indicate differences associated with drug resistance. Red lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None
 PI Minor Resistance Mutations: None
 Other Mutations: T12S, N37S, L38M, R41K, Q61H, I62V, H69Q, V77I

Protease Inhibitors	Susceptibility
atazanavir (ATV/r)	Susceptible
darunavir (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir (FPV/r)	Susceptible
indinavir (IDV/r)	Susceptible
lopinavir (LPV/r)	Susceptible
neftravir (NFV)	Susceptible
saquinavir (SQV/r)	Susceptible
tipranavir (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- V77I is a common polymorphism that is selected by NFV.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: None
 NNRTI Resistance Mutations: None
 Other Mutations: K49R, T200E, E204T, Q207E, R211W, G213R

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments

AMOSTRA - 25

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to represent, store, and analyze the diverse forms of data underlying HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

Date: 19-Jun-2012 11:51:27 PDT

Seq ID: W44NCRL

Summary Data

Sequence Includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence Includes RT: codons: 1 - 241
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate:

1. PR: B (93.3%)
2. RT: B (94.9%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	None
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons, Frame Shifts:	None
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	None

*Blue bars indicate differences from consensus B. All blue bars indicate also associated with drug resistance. **Red** indicates QA problems.*

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations:	None
PI Minor Resistance Mutations:	None
Other Mutations:	N37C, K43R, I62V, L53P, V77I, I93L

Protease Inhibitors

atazanavir/r (ATV/r)	Susceptible
darunavir/r (DRV/r)	Susceptible

fosamprenavir/r (FPV/r)	Susceptible
indinavir/r (IDV/r)	Susceptible
lopinavir/r (LPV/r)	Susceptible
nelinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir/r (SQV/r)	Susceptible
tipranavir/r (TPV/r)	Susceptible

PR Comments

Other

- L63P is a common polymorphism that is also selected by PIs.
- V77I is a common polymorphism that is selected by NFV.
- I93L is a common polymorphism. It is the consensus residue in most subtypes. In subtype B, it is weakly associated with PI treatment.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations:	None
NNRTI Resistance Mutations:	None
Other Mutations:	S48E, D123E, D177G, I202V, R211K, F214L, D218E, L228H

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	Susceptible	efavirenz (EFV)	Susceptible
abacavir (ABC)	Susceptible	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	Susceptible
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Susceptible
didanosine (DDI)	Susceptible		
emtricitabine (FTC)	Susceptible		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

RT Comments