

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

SANDRA APARECIDA MANENTI

EPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO HIV-1 EM
GESTANTES DO SUL DE SANTA CATARINA NO PERÍODO DE
JANEIRO A DEZEMBRO DE 2007

CRICIÚMA (SC), FEVEREIRO DE 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**EPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO HIV-1 EM
GESTANTES DO SUL DE SANTA CATARINA NO PERÍODO DE
JANEIRO A DEZEMBRO DE 2007**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense, para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Dr. Pedro Roosevelt Torres Romão.

CRICIÚMA (SC), FEVEREIRO DE 2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

M274e Manenti, Sandra Aparecida.

Epidemiologia e caracterização molecular do HIV-1 em gestantes do sul de Santa Catarina no período de janeiro a dezembro de 2007 / Sandra Aparecida Manenti; orientador : Pedro Roosevelt Torres Romão. – Criciúma : Ed. do autor, 2008.

134f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Extremo Sul Catarinense. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2008.

1. AIDS (Doença) na gravidez - Epidemiologia. 2. HIV (Vírus). 3. Doenças transmissíveis na gravidez. I. Título.

CDD. 21ª ed. 614.599392

Bibliotecária: Flávia C. Cardoso – CRB 14/840
Biblioteca Central Prof. Eurico Back – UNESC



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão
Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado apresentada pela candidata **SANDRA APARECIDA MENENTI**, sob o título: “Epidemiologia e caracterização molecular do HIV-1 em gestantes do sul de Santa Catarina no período de janeiro a dezembro de 2007” para obtenção do grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE** do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata, os membros são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação, com conceito A.

Criciúma, SC, 29 de fevereiro de 2008.


Prof. Dr. Emilio Luiz Streck

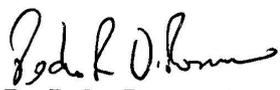
Membro Relator


Profa. Dra. Sandra Helena Penha de Oliveira

Membro Externo


Prof. Dr. João Luciano de Quevedo

Membro Interno


Prof. Dr. Pedro Roosevelt Torres Romão
Orientador


Prof. Dr. João Luciano de Quevedo
Coordenador do PPGCS

*Dedico a todas as pessoas que estiveram
comigo neste projeto, mais do que
colaboradores grandes amigos!*

AGRADECIMENTOS

As pacientes com as quais compartilhei não apenas suas histórias, mas lágrimas, risos e esperanças e me receberam em suas vidas, casas e famílias.

Aos profissionais do AME de Criciúma, SAE de Içara e Araranguá. Pela acolhida, interesse e participação.

A Silena parceira de aventuras!

Aos bolsistas e estagiários do LABIM - Laboratório de Imunologia e Mutagênese da UNESC - Criciúma e amigos de todas as horas: João, Elizangêla, Jeverson, Renata e Celine.

A Priscila. Como agradecer por trabalhar nas análises e tabelas em uma noite de sábado de carnaval?

A Daiane mesmo em cima da hora, sempre a segurança da melhor formatação.

Aos funcionários do Laboratório de Retrovírus - Genotipagem do HIV do Instituto Adolfo Lutz:

Dr. Luis Fernando de Macedo Brígido e Dra Rosângela Rodrigues pelo apoio e incentivo.

João pelo obsessivo trabalho no seqüenciamento e sempre com uma palavra de carinho.

João Paulo, Antonio Flávio, Adriane e Cristina obrigada pelo apoio.

Ao Dr. Pedro Roosevelt Torres Romão. Eu não poderia ter melhor orientador.

Ao Dr. Nilton Lucchiari, in memória, um sonhador!

RESUMO

Amostras de plasma e sangue de 36 gestantes infectadas pelo HIV, que realizaram pré-natal no período de janeiro a dezembro de 2007, nos serviços de atendimento especializado DST/AIDS dos municípios de Araranguá, Criciúma e Içara, em Santa Catarina no Sul do Brasil foram seqüenciadas no Laboratório de Retrovirologia – Genotipagem do HIV do Instituto Adolfo Lutz-SP para avaliação do subtipo viral e resistência a TARV. Características sócio-demográficas e de comportamento de risco foram obtidas através de entrevistas e aplicação do questionário previamente definido pela Área de Vacinas da Unidade de Desenvolvimento tecnológico do Programa Nacional de DST/AIDS - Ministério da Saúde. O perfil reprodutivo e clínico foi avaliado através da análise dos prontuários dos pacientes. Das 18 amostras de HIV-1 seqüenciadas até o momento, 89% foram identificadas como subtipo C, o que difere das demais regiões do país onde o subtipo B é predominante e corrobora os dados do sul do país onde se observou um aumento da incidência por este subtipo viral. Quatro pacientes (22%) apresentaram mutações de resistência principais. Os códons de mutações encontrados foram: IP (L10V, A71T), ITRN (A62V, M184V), ITRNN (G190A, K103N, V108IV). A idade das participantes do estudo variou de 17 a 37 anos. A maioria casada ou com parceiro estável (83,3%), com menos de 8 anos de educação formal (61,1%), sem emprego (83,4%), sendo 47,2% donas de casa e 5,6% mulheres que trabalham com sexo. O número de gestações variou de 1 a 7 com média de 2,81 ($\pm 1,64$). Relacionando HIV e as gestações observou-se que 7 pacientes possuíam história prévia de filhos HIV+, 20 (55,5%) das pacientes haviam gestado anteriormente, mesmo após ter conhecimento do diagnóstico de HIV. O diagnóstico foi realizado durante a gestação em 24 (66,6%) mulheres, sendo 15 destes diagnósticos na gestação atual e 9 em gestações anteriores. Chama atenção uma porcentagem significativa das pacientes HIV+ (41,7%) que relataram não usar preservativo com o parceiro fixo no último mês e se considerarmos o uso de preservativo durante a vida toda 91,6% referem nunca ou ocasionalmente usá-los.

Palavras-chaves: Gestação; HIV-1; Subtipo Viral; Santa Catarina.

ABSTRACT

Blood and plasma samples from 36 pregnant and HIV infected women which have passed by the prenatal care; during the period from January to December 2007 in the specialized care services for Sexually Transmitted Diseases (STDs) and AIDS at the cities of Araranguá, Criciúma and Içara, all located in Santa Catarina state, in the south of Brazil; were submitted to viral sequencing in the Laboratório de Retrovirologia – Genotipagem do HIV at Instituto Adolfo Lutz – SP to identify viral subtype and evaluate the prevalence of ARV resistance. Sociodemographic and behavior risks characteristics were obtained through personal interviews and the application of a questionnaire previously defined by the Área de Vacinas of the Unidade de Desenvolvimento Tecnológico do Programa Nacional de STDs/AIDS – Ministério da Saúde. Reproductive and clinical profile were evaluated through the analysis of patients records. Among 18 HIV-1 samples sequenced until the present moment, 89% were identified as being C subtype, showing a divergence from other country regions, where B subtype is predominant, corroborating the data from the south of the country where it was observed an increase at incidence of C viral subtype. Four patients (22%) have showed main resistance mutations. The mutations codons found were IP (L10V, A71T), ITRN (A62V, M184V), ITRNN (G190A, K103N, V108IV). Participants' age has varied from 17 to 37 years old. The majority has related as being married or living with a stable partner (83.3%), having less than 8 years of education (61.1%), unemployed (83.4%), 47.2% as being housewives and 5.6% as being sex workers. The number of pregnancies has varied from 1 to 7 with the mean of 2.81 (\pm 1.64). When HIV was linked to the pregnancy it was observed that 7 patients had a previous history of HIV positive children, 20 patients (55.5%) had been pregnant previously, even after be in the know of their HIV diagnosis. Diagnosis was carried out during the pregnancy in 24 women (66.6%), and with 15 from this diagnosis as being at the current pregnancy and 9 at previous gestations. It is relevant the fact that a significant percentage of the HIV positive patients (41.7%) have related to did not use condoms with their stable partner during the last month, and if we consider the condom use during all lifetime, 91.6% refer to never have used or use them occasionally.

Keywords: Pregnancy; HIV-1; Viral Subtype; Santa Catarina.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática do vírus HIV, evidenciando sua organização estrutural.....	16
Figura 2: Estrutura genômica do HIV-1 ilustrando os genes estruturais, acessórios e regulatórios.....	17
Figura 3 : Representação esquemática do estudo.....	45
Figura 4: Freqüência e tipo de TARV nas 36 pacientes da amostra.....	47
Figura 5: Distribuição das pacientes de acordo com a classificação clínica adotada pelo CDC para indivíduos com HIV/AIDS.....	49
Figura 6: Distribuição dos subtipos de HIV-1 em 18 amostras de gestantes no sul de Santa Catarina no ano de 2007.....	51
Figura 7: Distribuição dos subtipos de HIV-1 em 18 gestantes do ano de 2007 segundo ano de diagnóstico.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição das pacientes em relação ao início ou adequação da TARV.....	46
Tabela 2: Distribuição das pacientes em relação ao esquema anti-retroviral utilizado de acordo com o mecanismo de ação dos fármacos.....	47
Tabela 3: Distribuição das reações adversas relacionadas a TARV.....	48
Tabela 4: Distribuição dos casos de acordo com a adesão ao tratamento.....	48
Tabela 5: Distribuição das gestantes de acordo com o número de células TCD4+ disponível no momento da coleta de dados.....	50
Tabela 6: Diversidade viral, perfil de resistência aos anti-retrovirais, características imunológicas e terapêuticas nas 18 pacientes seqüenciadas.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ARVs - Anti-retrovirais

AZT ou ZDV - Zidovudina

CCR5 - Receptor Natural de Quimiocinas do tipo CC; Co-receptor para HIV-1

CDC - Centro de Controle e Prevenção de Doenças (*Center Disease Control*)

DNA - Ácido Desoxirribonucléico

dNTP - Desoxinucleotídeos trifosfatos

ETV - Entecavir

FTC - Emtricitabina

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HSH - Homem que faz Sexo com Homem

IP - Inibidores da Protease -

LACEN - Laboratório Central de Saúde Pública

LTRs - Repetições Longas de Terminais (long terminal repeat).

NASBA - Método de quantificação para Carga Viral

NFV - Nelfinavir

ITRNN - Inibidor da Transcriptase Reversa Não Análogo Nucleosídeo

ITRN - Inibidor da Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeo

NVP - Nevirapina

OMS - Organização Mundial de Saúde

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PR - Protease

RNA - Ácido Ribonucleico

RT - Transcriptase Reversa

SUS - Sistema Único de Saúde

TARV -Terapia Anti-retroviral

TMI - Transmissão Materno-Infantil

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Aspectos Biológicos e Moleculares do HIV.....	15
1.2 Epidemiologia da Infecção pelos Subtipos de HIV no Mundo.....	19
1.3 AIDS no Brasil.....	20
1.4 Distribuição dos Subtipos Virais no Brasil.....	22
1.5 Epidemiologia da Infecção em Santa Catarina.....	23
1.6 Importância do Reconhecimento dos Subtipos Virais no Contexto da Epidemia.....	24
1.7 HIV na Gestação.....	25
1.8 HIV e Gestação no Brasil.....	27
1.9 Anti-retrovirais.....	29
1.9.1 Resistência Viral aos Anti-retrovirais.....	30
2 OBJETIVOS.....	31
2.1 Objetivo Geral.....	31
2.2 Objetivos Específicos.....	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
3.1 Desenho do Estudo.....	32
3.2 Amostra.....	32
3.3 Características Sócio-Comportamentais.....	33
3.4 Avaliação Clínica.....	33
3.5 Viremia Total (Carga Viral).....	33
3.6 Quantificação de subpopulações de Células T CD4.....	34
3.7 Isolamento e Seqüenciamento Viral.....	34

3.7.1 Extração do RNA viral.....	35
3.7.2 Extração do DNA de <i>Buffy Coat</i> (proviral).....	36
3.8 Reação de Transcrição Reversa (RT) para a obtenção do DNA complementar (cDNA).....	37
3.9 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).....	37
3.10 Amplificação da Polimerase do HIV-1 (<i>pol</i>).....	38
3.11 Detecção, Quantificação e Purificação do Produto de PCR.....	39
3.12 Reação de Seqüenciamento.....	40
3.13 Reação de Seqüenciamento por <i>Cycle Sequencing</i>	40
3.14 Purificação da Reação de Seqüenciamento.....	41
3.15 Análise Molecular.....	41
3.16 Resistência.....	41
3.17 Análise dos Subtipos do HIV-1.....	42
3.18 Análise de Recombinante.....	42
3.19 Análise Estatística.....	42
5 RESULTADOS.....	44
5.1 Análise da Idade Gestacional no Início da TARV Entre as 36 Gestantes do Estudo.....	45
5.2 Características Relacionadas ao Uso da TARV Durante a Gestação.....	46
5.3 Distribuição dos Casos de AIDS Segundo Critérios do CDC Adaptado.....	49
5.4 Diversidade do HIV-1 Entre as Gestantes do Sul de Santa Catarina no Ano de 2007.....	50
5.5 Análise dos Perfis de Mutações nos Isolados Virais de Gestantes do Sul de Santa Catarina no Ano de 2007.....	52
6 DISCUSSÃO.....	55

REFERÊNCIAS.....69

ANEXOS.....83

1 INTRODUÇÃO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), descrita em 1980, é caracterizada por profunda imunossupressão com diversos aspectos clínicos, incluindo infecções oportunistas, neoplasias e neurodegeneração. A AIDS é causada pelo retrovírus denominado vírus da imunodeficiência humana (HIV) que primariamente infecta macrófagos e células T CD4+ (Linfócitos T auxiliares).

O relatório da UNAIDS de dezembro de 2007 estima que 33,3 milhões de pessoas no mundo estão contaminados com o vírus da AIDs, sendo 15.4 milhões de mulheres e 2,5 milhões de pacientes abaixo de 15 anos. O total de novos casos para o ano de 2007 foi estimado em 2,5 milhões (UNAIDS, 2007).

A porcentagem de mulheres soropositivas para o HIV na América Latina, Ásia Europa Ocidental esta aumentando já que o HIV se transmite as parceiras de homens que provavelmente o contraíram através do consumo de drogas injetáveis, relações sexuais remuneradas ou homem que faz sexo com homem sem proteção (UNAIDS, 2007).

1.1 Aspectos Biológicos e Moleculares do HIV

O HIV-1 é um vírus de RNA da família dos retrovírus que possui duas fitas de RNA de polaridade positiva (Figura 1). A estrutura básica do vírus compreende repetições longas de terminais (LTRs) em cada extremidade do genoma, que são importantes para integração do vírus, genes *gag* que codificam proteínas estruturais básicas como p17 e p24, genes *pol* codificando a polimerase, transcriptase reversa e

integrase e genes *env* responsáveis pela síntese do envelope viral (gp120 e gp41). Genes adicionais como *tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpu* e *nef* regulam a transcrição e síntese de proteínas virais, virulência, liberação de partículas virais entre outras funções (Barré-Sinoussi, 1996) (Figura 2).

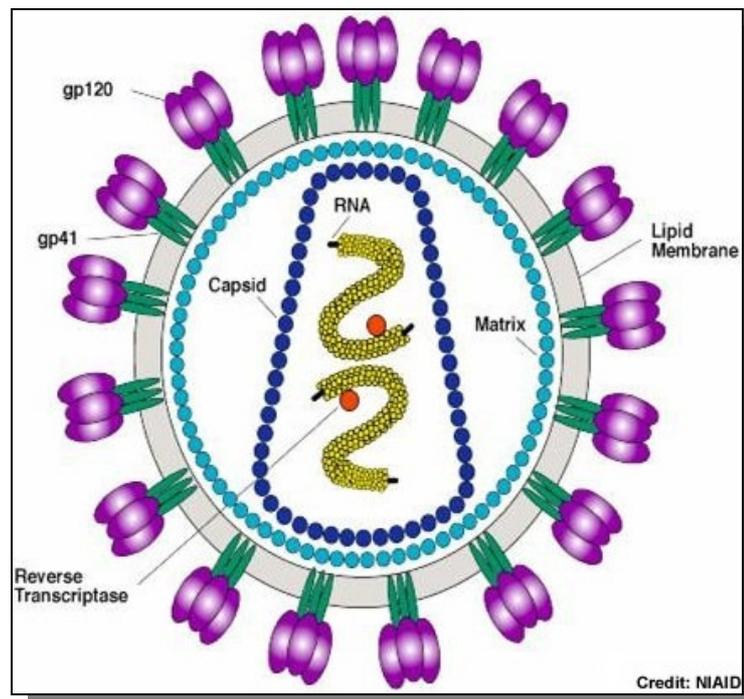


Figura 1: Representação esquemática do vírus HIV, evidenciando sua organização estrutural.

Fonte Stanford (2008).

A identificação dos subtipos virais tem sido um poderoso marcador molecular epidemiológico para traçar o curso da pandemia do HIV.

A diversidade do HIV-1 é em torno de 6% num mesmo indivíduo podendo chegar a 50% entre indivíduos de diferentes regiões geográficas. Isto resulta em populações geneticamente diversas do vírus em cada pessoa infectada. Para descrever esta alta variabilidade do HIV foi utilizado o conceito de quase-espécies (“quasispecies”) no qual o HIV é visto como uma população de vírus e não como um genoma único. Mutações incluindo mutação pontual, deleções e inserções podem ser introduzidas no genoma viral durante a síntese de DNA pela transcriptase reversa que não possui mecanismo de correção na incorporação de nucleotídeos. Contribui para isso o alto nível de produção viral (10^{10} virions/dia) e taxa de replicação. Variações genéticas entre um subtipo podem ser na ordem de 15-20%, entretanto a variação entre subtipos pode chegar a 25-35% dependendo do subtipo e região do genoma analisada (Hemelaar et al., 2006).

Análise de múltiplas regiões do genoma tem revelado recombinação entre diferentes subtipos, originando híbridos, com seqüências de genes de dois originais distintos, chamados recombinantes. Estes recombinantes são produzidos em células de indivíduos infectados com dois diferentes subtipos.

Essa grande diversidade genética dada pelos diferentes subtipos e recombinantes pode contribuir para disseminação do vírus, virulência, resistência aos anti-retrovirais (ARVs), capacidade de infectar e atingir regiões diferentes e apresentar comportamento diferente relacionado à transmissão vertical. Além disso, já se começa a admitir a hipótese de que cada subtipo viral pode impor uma evolução clínica diferente (Kaleebu et al., 2001).

1.2 Epidemiologia da Infecção pelos Subtipos de HIV no Mundo

HIV-1 subtipo C é o subtipo viral mais prevalente em países com altas taxas de infecção entre heterossexuais como a Índia, China e África Subsaariana, sendo responsável por mais de 50% dos casos de infecção no mundo (Sengupta et al., 2005). Todos os subtipos podem ser encontrados na África (Mboudjeka et al., 1999; Papathanasopoulos et al., 2003), tornando este país o epicentro da epidemia mundial (Salemi et al., 2005). Na Índia, onde 13% dos indivíduos estão infectados, 97% das infecções se devem ao subtipo C, sendo a transmissão heterossexual a via mais comum de contaminação pelo vírus (Hussein et al 2000; Akulwar et al., 2005). Neste país e no sul da África uma em cada quatro mulheres grávidas está infectada.

Os subtipos A, B, D e G são responsáveis por 12, 10, 3 e 6% respectivamente das infecções mundiais, enquanto que os subtipos F, H, J e K juntos causam 0,94% das infecções. Os dois recombinantes mais comuns: CRF-AE e CRF02-AG são responsáveis por 5% das infecções cada um, enquanto que CRF03-AB é responsável por apenas 0,1% da epidemia global. Juntos as formas recombinantes do HIV-1 são responsáveis por 18% das infecções mundiais (Hemelaar et al., 2006).

O subtipo B prevalece em países da América Latina (Russel et al., 2000; Cuevas et al., 2002). Na Europa e nos EUA o subtipo B tem sido predominante, seguido pelo subtipo F e formas recombinantes (Poljak et al., 2000; Snoek et al., 2004; Soares et al., 2005).

Em 2006, Pando et al. genotiparam 10 amostras de HSH, em Buenos Aires, encontraram 6 portadores do subtipos B, 3 recombinantes BF e reportaram o primeiro HIV triplo recombinante na argentina BCF (Pando et al., 2006). No Brasil, o

subtipo predominante é o B, podendo-se encontrar o subtipo F e recombinantes B-F e nos últimos anos o subtipo C nas infecções do sul do país (Montano et al., 2005; Salemi et al., 2005; Santos et al., 2006).

1.3 AIDS no Brasil

Cerca de um terço de todas as pessoas que vivem com HIV na América Latina residem no Brasil e estima-se que em 2005 havia 620.000 (370 000-1 milhão) de pessoas portadoras do vírus HIV (UNAIDS, 2007).

Segundo parâmetros da Organização Mundial de Saúde (OMS), o Brasil mantém sua posição, entre os países com epidemia, concentrada (quando o número de casos, novos ou antigos, em qualquer população de risco é maior que 5%, mas menor que 5% nas populações que não apresentam condutas de risco), com prevalência da infecção pelo HIV de 0,61% entre a população de 15 a 49 anos, sendo 0,42% entre as mulheres e 0,80% entre os homens. Do número total de casos identificados de AIDS, 140 mil são mulheres (Brasil, 2007).

Em países desenvolvidos mulheres HIV positivas se contaminam mais através do uso de drogas endovenosas, por serem parceiras de homens bissexuais ou que usam drogas injetáveis ou são mulheres que trabalham com sexo. A situação é muito diferente em países em desenvolvimento onde a transmissão heterossexual é a forma predominante de expansão. A taxa de transmissão do HIV do homem para mulher é cerca de três vezes maior que da mulher para o homem. As células de Langerhans da cérvix podem propiciar uma porta de entrada para o vírus. Neste sentido, foi sugerido que alguns sorotipos virais podem ter maior afinidade por

aquelas células e, portanto serem mais eficientes na transmissão heterossexual (Moodley & Wennberg, 2005).

A AIDS no Brasil tem sido descrita como uma epidemia multifacetada, não possuindo um perfil único em todo território brasileiro, mas sim um mosaico de subepidemias regionais motivadas por desigualdades socioeconômicas. A partir de 1990 constatou-se uma transição do perfil epidemiológico resultando em heterossexualização, feminização, pauperização e interiorização da epidemia (Fonseca et al., 2002). Assim sendo, faz-se necessário o estudo das características sócio-demográficas e comportamentais relevantes para o melhor entendimento da epidemia de diferentes regiões do país. Esse conhecimento poderá nortear o estabelecimento de políticas de saúde pública, bem como identificar possíveis futuros sítios para o estudo de vacinas e antimicrobianos.

Aproximadamente 80% das mulheres infectadas pelo HIV se encontram em idade reprodutiva, ou seja, dos 13 aos 39 anos, o que refletirá num aumento dos casos de transmissão vertical (David & Salomão, 2006).

Desigualdade de gênero, pobreza e menor acesso a educação forçam muitas mulheres a trabalharem com sexo para garantir a sobrevivência e assim se tornam um grupo de alto risco para contaminarem-se com DSTs, soma-se a isso as precárias condições de vida e saúde exigindo que a vulnerabilidade social passe a ser permanentemente consideradas no planejamento de ações e nas políticas de saúde (Brasil, 2006).

1.4 Distribuição dos Subtipos Virais no Brasil

Dos 100 municípios com maior número de casos de AIDS, mais de 80 deles localizam-se nas regiões Sul e Sudeste, sendo que na região Sul as taxas de incidência são as mais elevadas do país (Brasil, 2006).

Diferenças no padrão e distribuição dos diferentes subtipos virais têm sido observadas em diferentes áreas geográficas do Brasil (Soares et al., 2003; Eyer-Silva & Morgado, 2006). Em 2001, 65% das infecções no Brasil foram causadas pelo subtipo B, seguida pelo subtipo C (30%) e recombinantes (15%). Apesar do subtipo B ser o de maior prevalência em nosso país, outros subtipos como F1, C, D, A e formas recombinantes B/F têm sido encontrados (Sabino et al., 1996; Proietti et al., 1999; Bongertz et al., 2000; Barreto et al., 2006). A análise do genoma viral de 547 pacientes do Rio de Janeiro apresentando falência do tratamento relacionada à resistência secundária mostrou uma prevalência de 92,1% do HIV-1B seguido de 4,9% de HIV-1F, 3,3% de HIV-1CRFBF, 0,4% HIV-1C e um CRF02_AG. (Couto-Fernandez et al., 2005). Em estudo de resistência e diversidade genética do HIV em Brasília, o HIV-1B foi responsável por 96% das infecções e o HIV-1F por 4% dos casos (Cerqueira et al., 2004).

O surgimento do subtipo C no Brasil foi reportado em um paciente do Estado Rio Grande do Sul diagnosticado em 1990 (Soares et al., 2003). A epidemia de HIV-1 subtipo C está expandindo duas vezes mais rápido que aquela pelo subtipo B no Brasil, ou do que a epidemia pelo subtipo C na África do Sul, podendo refletir diferenças na eficiência de rotas de transmissão em diferentes áreas geográficas.

Seguindo essa tendência, sugere-se que no futuro o subtipo C pode ser o mais prevalente em todo o país. Inferências filogenéticas obtidas através da análise

da protease e transcriptase reversa dos subtipos C e B mostram que o HIV-1B da epidemia brasileira surgiu nos meados das décadas de 50 e 60 e o HIV-1C originou-se no início dos anos 80 (Martinez et al., 2002; Salemi et al., 2005; Monteiro et al., 2007).

1.5 Epidemiologia da Infecção em Santa Catarina

Uma vez que Santa Catarina é um dos estados brasileiros com maior incidência de AIDS (25,9 casos/100 mil habitantes), torna-se necessário o conhecimento dos subtipos virais circulantes neste estado, permitindo assim uma melhor compreensão da epidemia em Santa Catarina, bem como na região Sul (Brasil, 2007a).

Em 2003, sete cidades do estado de Santa Catarina constavam entre os 100 municípios com maior número de caso de AIDS. O município de Criciúma ocupava o 4º lugar em incidência no estado. (Brasil, 2004). Não se conhece a taxa de incidência dos diferentes subtipos na região, bem como o perfil sócio-econômico e clínico dos portadores do HIV.

Até o junho de 2006, 77.639 casos de AIDS (17,9% do total do país) foram notificados na região Sul, sendo 19.495 casos em Santa Catarina. As maiores taxas de incidência ainda estão na região sul, porém com uma provável desaceleração do crescimento nos anos mais recentes. Em 2006 o total de gestantes soropositivas para HIV notificadas no Brasil foi de 31921, destas 2316 foram notificadas em Santa Catarina. Em relação à transmissão vertical em 2006 foram notificados 14 casos em contraste com os 115 notificados em 2005 (Brasil, 2006).

Diferentemente do que está acontecendo na maior parte do Brasil, na região Sul parece que o subtipo C encontra-se em ascensão. Neste sentido, verificou-se que o Paraná apresenta atualmente 30% das infecções pelo subtipo C e o Rio Grande do Sul 45% (Santos et al., 2006).

Estudos recentes demonstram uma alta prevalência de infecção pelo subtipo C do HIV-1 em Santa Catarina. Em 100 amostras seqüenciadas na cidade de Florianópolis, SC a análise filogenética revelou que 48% das amostras analisadas pertenciam ao subtipo C. Estes resultados identificaram o HIV-1 subtipo C como o principal subtipo circulante em SC (Locatelli et al., 2007).

1.6 Importância do Reconhecimento dos Subtipos Virais no Contexto da Epidemia

Diferenças genéticas entre as variantes de HIV-1 podem influenciar as propriedades biológicas do vírus, suscetibilidade, resposta imune e resistência às terapias anti-retrovirais (Soares et al., 2003; Gereti, 2006).

Alguns estudos têm demonstrado diferenças nas taxas de progressão da AIDS pelos diferentes subtipos. Cada variação relatada pode ser causada por fatores virais, do hospedeiro, ambientais e por diferenças no desenho dos estudos e das amostras, (Hemelaar et al., 2006). Em adição, vários estudos têm sugerido que diferentes subtipos de HIV maternos podem desempenhar um papel importante na probabilidade de transmissão vertical (Tscherning-Casper et al., 2000).

A distribuição geográfica dos subtipos está sujeita a mudança constante, nosso conhecimento decorrente da distribuição do HIV está incompleto e representa

inadequadamente a diversidade do vírus. Esta claro que a diversidade do HIV-1 pode ter importante implicação para muitos aspectos da pandemia do HIV e seu controle, por isso é importante monitorar a distribuição global e regional dos subtipos e recombinantes do HIV. As implicações práticas da variabilidade abrangem desde a eficácia dos testes diagnósticos e resposta aos agentes quimioterápicos até o desenvolvimento de vacinas (Papathanasopoulos et al., 2003). Estudos relacionados a vacina envolvem múltiplos subtipos e componentes virais de várias regiões do mundo (Khurana et al., 2006). Desse modo, o reconhecimento dos sorotipos do HIV envolvidos na epidemia de AIDS e suas características étnicas, sócio-comportamentais e genóticas é de fundamental importância para o planejamento estratégico das ações e avaliação dos resultados, bem como o desenvolvimento futuro de vacinas.

1.7 HIV na Gestação

A prevalência mundial de HIV entre mulheres grávidas foi de 27,9% em 2003, 26,5% em 2002 e 25% em 2001. Exceto em gestantes acima de 40 anos, os níveis de prevalência estão aumentando em todos os grupos etários (UNAIDS, 2004).

No Quênia, Malai, Namíbia, Ruanda, África do Sul, Tanzânia, Zâmbia e Zimbábue mais de 10% das mulheres atendidas nas clínicas de pré-natal das áreas urbanas são HIV+, no entanto, em alguns destes serviços as taxas podem chegar a 60%. Em epidemias generalizadas, as gestantes atendidas em serviços de pré-natal,

constituem um grupo populacional de fácil acesso, representativo da população geral e que já esta incluída no sistema de vigilância do HIV (Hemelaar et al., 2006).

A transmissão mãe-filho é uma importante conseqüência do dramático aumento da transmissão heterossexual do HIV. Ela pode ocorrer intra-útero, durante o trabalho de parto e nascimento ou pós-parto através do leite materno (Mcgowan & Shah, 2000; Cavalcante et al., 2004). Em todo o mundo, cerca de 40% das mulheres soropositivas só são diagnosticadas após o parto (Al-Khant et al., 2004). A maioria da transmissão vertical ocorre mais tardiamente na gestação e durante o trabalho de parto sendo responsável por 90% das infecções entre crianças (Ramos et al., 2002).

Fatores associados com aumento do risco de transmissão incluem: fatores virais como a carga viral, genótipo e fenótipo, diversidade de linhagens e resistência viral; fatores maternos incluindo estágio clínico e imunológico, estado nutricional e comportamento de risco como uso de drogas e práticas sexuais; fatores obstétricos como tempo de ruprema, modo de parto e hemorragia intraparto e fatores relacionados ao recém-nascido principalmente a amamentação que em países em desenvolvimento muitas vezes é a única fonte de alimento disponível construindo uma escolha cruel entre morrer de fome no presente ou de AIDS mais tarde (Favia et al., 2004).

Os resultados de uma metanálise de 15 estudos de coorte prospectiva da Europa e EUA sugerem que o risco de transmissão vertical foi significativamente menor nas gestantes soropositivas que realizaram cesarianas antes do início do trabalho de parto ou da rutura prematura das membranas ovulares (ruprema) e esta associação permanece mesmo após ajuste de co-variáveis como o uso de TARV. (Read et al., 1999).

Na ausência de intervenções preventivas como o tratamento anti-retroviral, durante a gestação e parto e da substituição da amamentação para os recém-nascidos as taxas de transmissão vertical chegam a 32,5%. Destas 15-20% ocorrem durante a gestação, cerca de 50% durante o trabalho de parto e parto e mais de 29% ocorrem durante a amamentação (Ramos et al., 2002).

O uso de TARV profilática inicial empregava a monoterapia com AZT. Em países em desenvolvimento foi proposto um esquema alternativo com uso de nevirapina (NVP), no entanto após 6 meses de utilização da NVP 32% das 1844 participantes de um estudo Tailandês apresentavam um vírus na população majoritária com pelo menos uma mutação de resistência aos ITRNN (Plipat et al., 2007).

Em países em desenvolvimento a taxa de transmissão vertical varia de 14 a 25%. Intervenções recomendadas como terapia anti-retroviral combinada, cesariana e substituição da amamentação estão associadas com taxa de transmissão vertical de 1 a 2% (Chou et al., 2005).

1.8 HIV e Gestação no Brasil

Em setembro/outubro de 2000, Ministério da Saúde¹, buscando conhecer a prevalência do HIV em gestantes e crianças expostas, tornou obrigatória a notificação das gestantes em que fosse detectada a infecção pelo HIV. Da mesma forma, tornou obrigatória a notificação de crianças nascidas de mães soropositivas ou que tenham sido amamentadas por mulheres soropositivas.

¹ Lei 6259 de 30/10/1975 e Portaria nº 05 de 21/02/2006 e publicada no D.O.U. de 22/02/2006, Seção 1 no site <http://www.aids.gov>

A realização do aconselhamento e da oferta do teste anti-HIV no pré-natal se revestem de fundamental importância: asseguram à mulher o direito à informação e a receber profilaxia anti-retroviral, evitando a transmissão do vírus para o bebê na maioria dos casos (Câmara & Oliveira, 2004).

Anualmente três milhões de mulheres/ano dão à luz no Brasil. Segundo estudo realizado em 2004, numa amostra representativa de parturientes de 15 a 49 anos de idade, de todas as regiões do país, a taxa de prevalência de mulheres portadoras do HIV no momento do parto é de 0,42%, o que corresponde a uma estimativa de cerca de 12.644 mil parturientes infectadas (Brasil, 2004). No Brasil as taxas de soropositividade em gestantes variam de 0,2% no Mato Grosso (Figueró-Filho et al., 2006) 0,42% em maternidades do SUS em Sergipe (Lemos et al., 2005) e 0,4% no Paraná (Sbalgueiro, 2001).

Diante desta situação epidemiológica e da existência de esquema profilático altamente eficaz contra a transmissão materno-infantil do HIV (transmissão vertical), torna-se de grande importância o conhecimento, o mais precocemente possível, do estado sorológico das gestantes, a fim de iniciar a terapêutica da doença e/ou profilaxia adequada da transmissão vertical do vírus. (Brasil, 2006).

Denomina-se TARV profilática quando se institui a terapia com o objetivo de prevenir a transmissão vertical, sendo suspensa ao término da gestação. A instituição da terapia por comprometimento clínico e/ou imunológico é chamada TARV-tratamento. O ponto de corte de TCD4+, em pacientes assintomáticos, utilizado pelo ministério da saúde, programa de Aids do governo brasileiro e de 200 ou menos células/mm³ para indicação de TARV tratamento. Nos casos de gestantes com TCD4+ entre 200 a 350 células/mm³ a instituição da TARV - tratamento fica a

critério do médico assistente. Em relação a idade gestacional, considera-se que pacientes candidatas a TARV profilática devam iniciar a medicação preferencialmente a partir da 14^ª semana de gestação. Porém em pacientes com indicação de TARV-tratamento o início da terapia independe da idade gestacional. A monoterapia com AZT pode ser empregada em um cenário específico em mulheres virgens de tratamento, com carga viral abaixo de 1000 cópias/ml e assegurar a realização de cesárea eletiva. Pacientes em uso prévio de TARV - tratamento devem ser reavaliados e a medicação adequada à gestação. O risco/benefício do uso das medicações anti-retrovirais na gestação e os possíveis efeitos deletérios para o binômio mãe-feto devem ser avaliados caso a caso (Brasil, 2007b).

1.9 Anti-retrovirais

O uso de terapia anti-retroviral pode promover a supressão viral, permitir o controle clínico com redução da morbi-mortalidade. Seis classes farmacológicas distintas estão disponíveis atualmente: Inibidores da Protease (IP) que mimetizam a estrutura dos substratos naturais da protease e inibem a atividade catalítica da enzima. Inibidores da Transcriptase reversa Análogos de nucleosídeos (ITRN) que competindo com o dNTP fisiológico impedem a extensão da fita; Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de nucleosídeos (ITRNN) que bloqueiam alostericamente a atividade da enzima; Inibidores de Fusão que impede a fusão do HIV com a célula; Inibidor da Integrase que impossibilita a inserção do DNA viral do HIV no DNA do genoma humano e Inibidores de co-receptor CCR5 também um inibidor de entrada.

1.9.1 Resistência Viral aos Anti-retrovirais

A resistência viral é definida pela presença de mutações no genoma viral que reduzem a suscetibilidade à droga quando comparada ao vírus selvagem. As mutações que conferem resistência aos anti-retrovirais são selecionadas pela terapia.

As mutações podem ser classificadas como: principais - quando sozinhas conferem resistência, acessórias - que podem alterar a capacidade replicativa do vírus na presença de mutações principais, primárias - quando surgem em pacientes virgem de tratamento e secundárias – que aparecem nos pacientes em uso de anti-retrovirais.

Em relação aos ITRN têm-se dois mecanismos de resistência descritos até o momento: mutações que promovem a capacidade ao vírus de distinguir entre dNTP fisiológico e o ITRN, como por exemplo, M184V, Q151M e K65R e mutações que promovem a excisão hidrolítica do ITRN incorporado a fita de cDNA , são denominadas TAMs e ocorrem nos códons 41, 67, 70, 210, 215 e 219 da transcriptase reversa. As mutações que conferem resistência aos ITRNNs reduzem a afinidade pelo medicamento, por exemplo, G190A. As mutações de resistência aos IP modificam a quantidade e natureza dos pontos de ligação entre os inibidores e a enzima (Clavel & Hance, 2004).

Testes como fenotipagem, genotipagem e fenótipagem virtual podem identificar cepas resistentes. O seqüenciamento genético do gene *pol* (PT e RT), a partir do PCR direto permite detectar mutações associadas a resistência genética na população viral majoritária.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar o perfil clínico e epidemiológico de gestantes HIV positivas que foram atendidas no serviço de pré-natal dos programas municipais de DST/AIDS de Araranguá, Criciúma e Içara, no ano de 2007 e identificar os subtipos virais prevalentes nas gestantes.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Caracterizar o perfil sócio-demográfico, comportamental, reprodutivo e clínico das gestantes soropositivas para HIV no ano de 2007;
- ✓ Identificar os subtipos de HIV prevalentes nas gestantes soropositivas no ano de 2007;
- ✓ Identificar possíveis mutações relacionadas a resistência à terapia anti-retroviral nos isolados virais das gestantes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do Estudo

Estudo descritivo de corte transversal, realizado com gestantes HIV positivas recrutadas e acompanhadas nos Programas de Atenção Municipal as DST/HIV/AIDS do sul de Santa Catarina. O estudo envolveu a avaliação de características sócio-comportamentais, epidemiológicas, clínicas, imunológicas e ainda características moleculares do vírus HIV-1 de gestantes HIV positivas que compareceram ao serviço e concordaram por escrito, através de consentimento livre e esclarecido (Anexo IX).

Este estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de ética da UNESC, tendo sido protocolado com número 540/2007, conduzido de acordo com os princípios éticos e legais, de modo a resguardar o sigilo dos pacientes e garantir que todos os procedimentos realizados seguissem padrões de segurança com o menor desconforto e exposição possível.

3.2 Amostra

A amostra consistiu-se de 36 gestantes HIV + em acompanhamento pré-natal nos programas da atenção municipal as DSTs/AIDS dos municípios de Criciúma, Içara e Araranguá, que estiveram grávidas ou gestaram no período de janeiro a dezembro de 2007 e consentiram participar do estudo.

3.3 Características Sócio-Comportamentais

As características sócio-comportamentais relevantes para o melhor entendimento da epidemia local foram levantadas através de aplicação de questionário já validado em outros estudos. O questionário utilizado (Anexo I) foi elaborado pelo Ministério da Saúde, no programa nacional de DST/ AIDS - Área de Vacinas - Unidade de Desenvolvimento tecnológico.

3.4 Avaliação Clínica

Todas as gestantes com diagnóstico confirmado foram monitoradas clínicas e laboratorialmente, pelos médicos infectologistas colaboradores deste estudo, durante todo o pré-natal conforme recomendação do programa de DST/AIDS do Ministério da Saúde. A história clínica foi investigada e as pacientes estadiadas através da análise dos sinais e sintomas relacionados a infecção de acordo com a classificação do CDC (CDC,1994) e classificação imunológica (Brasil, 2007b). A avaliação laboratorial foi realizada no LACEN-SC através da contagem de células T CD4+ e carga viral. Os dados clínicos e reprodutivos foram obtidos a partir das anotações do nos prontuários das gestantes (Anexos II e III).

3.5 Viremia Total (Carga Viral)

A carga viral das pacientes HIV+ que iniciaram o pré-natal em 2006 foi quantificada pelo método NASBA (Holguin et al., 1999; Bürgisser et al., 2000),

Organon Tecknika, a partir de amostras de plasma obtidas em tempo inferior a 6 horas da coleta. Amostras abaixo do limite de detectabilidade de 80 cópias/ml foram definidas por testes negativos. Em 2007 o LACEN trocou o método para cDNA abaixo do limite de detectabilidade de 50 cópias/ml. Em gestantes com carga viral indetectável o seqüenciamento viral foi realizado a partir do *Buffy Coat*. Para efeito de análise final considerou-se indetectável pacientes abaixo do limite de 80 cópias/ml.

3.6 Quantificação de Subpopulações de Células T CD4

A imunofenotipagem de linfócitos T foi realizada por meio da marcação de células sanguíneas periféricas das pacientes com anticorpos monoclonais Tritest™ (Becton-Dickinson, San Jose, CA, USA) conforme instruções do fabricante. A leitura foi realizada em citômetro de fluxo de três cores FACSCount™ (Becton-Dickinson, San Jose, CA, USA). A imunofenotipagem de LT CD4+ foi realizada no laboratório LACEN, conforme rotina estabelecida pelo Serviço.

3.7 Isolamento e Seqüenciamento Viral

Realizado através de extração do RNA viral de amostras do plasma e do DNA pró-viral de amostras de células a partir do *Buffy Coat*.

3.7.1 Extração do RNA viral

A extração do RNA viral a partir do plasma foi realizada utilizando o Qiamp® viral RNA Mini kit (Quiagen, Germany) segundo instruções do fabricante.

Em um tubo plástico cônico (*Eppendorf*) foram adicionados 560µL do Tampão AVL/RNA carreador e 140µL de amostra de plasma, agitado (vórtex) e incubado a temperatura ambiente (25°C) por 10 minutos. Após este período de incubação foram adicionados 560µL de etanol 96-100% no tubo. A mistura (630µL) foi transferida para uma coluna de sílica acoplada num tubo coletor A e centrifugada a 6.000 x g por 1 minuto. O tubo coletor A foi descartado e novamente (630µL) foram transferidos para o tubo coletor B e novamente centrifugada a 6.000 x g por 1 minuto. O tubo coletor B foi descartado e a coluna de sílica acoplada ao tubo coletor C. Cuidadosamente, foram adicionados (500 µL) de solução de lavagem tampão AW1 e novamente centrifugada a 6.000 x g por 1 minuto. Após esta etapa, o tubo coletor C foi descartado e a coluna de sílica transferida para novo tubo coletor D onde cuidadosamente foram adicionados (500 µL) de solução de lavagem tampão AW2 e novamente centrifugada a 20.000 x g por 3 minutos. Após esta etapa o tubo coletor D foi descartado e a coluna de sílica acoplada em um novo tubo de 1,5 mL para eluição. Cuidadosamente foram adicionados 60 µL de água livre de DNase e RNase (*Invitrogen, USA*) para eluição do RNA viral. A eluição foi finalizada com incubação a temperatura ambiente por 1 minuto, seguida de centrifugação a 6.000 x g por 1 minuto. O RNA viral foi armazenado a -70°C. (Anexo IV)

3.7.2 Extração do DNA de *Buffy Coat* (proviral)

A extração do DNA proviral foi realizada utilizando o Kit Qiamp® *DNA Blood Mini Kit* (Quiagen, Germany) segundo instruções do fabricante. Em um tubo plástico cônico de 1,5 mL (Tubo A/ *ependorf*) foram adicionados 20µL de Protease (20mg/mL), 200µL de amostra (*Buffy Coat*/sangue total) e 200µL de Tampão AL, agitado (vórtex) e incubado a 56°C por 10 minutos. Após o período de incubação foram adicionados 200µL de etanol 96-100% no tubo e, agitado em vórtex novamente.

A mistura foi transferida para uma coluna de sílica acoplada num tubo coletor B e centrifugada a 6.000 x *g* por 1 minuto. Após a centrifugação. O tubo coletor B foi descartado e a coluna de sílica acoplada ao tubo coletor C. Cuidadosamente, foram adicionados (500 µL) de solução de lavagem tampão AW1 e novamente centrifugada a 6.000 x *g* por 1 minuto. O tubo coletor C foi descartado e a coluna de sílica acoplada ao tubo coletor D. Cuidadosamente, foram adicionados (500 µL) de solução de lavagem tampão AW2 e novamente centrifugada a 20.000 x *g* por 3 minutos. Após esta etapa, a coluna foi transferida para novo tubo repositório de 1,5 mL para eluição. Cuidadosamente foram adicionados 200 µL de Tampão AE ou água livre de DNase e RNase (*Invitrogen, USA*) para eluição do DNA viral. A eluição foi finalizada com incubação a temperatura ambiente por 1 minuto, seguida de centrifugação a 6.000 x *g* por 1 minuto. O DNA viral foi armazenado a -20°C. (Anexo V).

3.8 Reação de Transcrição Reversa (RT) para a obtenção do DNA complementar (cDNA)

Dez microlitros (10 µL) do RNA extraído foram retrotranscritos utilizando uma mistura contendo: 300 ng de hexamêros aleatórios (Invitrogen, USA), 10mM de desoxinucleotídeos trifosfatos dNTPs (Invitrogen, USA), 5x Tampão Tris-HCl 50 mM (pH8,3); KCl 75 mM e MgCl₂ 3mM (Invitrogen, USA), 0,1M de dithiothreitol (DTT) (Invitrogen, USA), 10U de inibidor de RNase (Invitrogen, USA) e 200 U de Superscript III (Invitrogen, USA) para um volume final de reação de 20 µL.

A mistura do RNA extraído, água, dNTPs e hexamêros aleatórios foi aquecida a 65°C por 5 minutos e, em seguida, colocada em gelo por 5 minutos. Na etapa posterior, foram adicionados os demais reagentes (enzimas) e a reação incubada a 25°C por 5 minutos. A retrotranscrição foi realizada a 50°C por 1 hora, seguida de inativação a 70°C por 15 minutos. O cDNA gerado foi armazenado a – 20°C. (Anexo VI)

3.9 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Após obtenção do cDNA ou DNA proviral extraído, as amostras foram submetidas à reação de PCR para amplificação das diferentes regiões genômicas do HIV-1. Todos os iniciadores (*primers*) utilizados estão descritos no Anexo VIII.

3.10 Amplificação da Polimerase do HIV-1 (*pol*)

Para a amplificação da região da polimerase do HIV-1 (posição 2147-3338 relativa ao HXB2) foram utilizados 5 μ L do cDNA ou 2,5 μ L do DNA extraído adicionando-se a mistura de PCR contendo: 10x PCR Tampão 200mM Tris-HCL (pH 8,4), 500mM KCL; 50Mm $MgCl_2$; 10Mm de desoxinucleotídeos trifosfatos (dNTP Mix); iniciador codificador 10 μ M (k1); iniciador molde 10 μ M (K2); Taq DNA polimerase (5U/ μ l) e água livre de DNase e RNase (Invitrogen, USA) para volume final de 50 μ L. A ciclagem foi realizada com um ciclo inicial de 94°C por 3 minutos, seguidos de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos, 72°C por 2 minutos e extensão final de 72°C por 10 minutos. Essa reação permitirá a obtenção de um fragmento de 1,2 kb do gene polimerase.

O produto da primeira amplificação (2 μ l) foi submetido à segunda amplificação (Nested PCR) para a obtenção dos genes codificadores da protease (0,4Kb) e parte da transcriptase reversa (0,8Kb).

As reações de PCR para a região da Transcriptase Reversa (RT) e Protease (PT) ocorreram nas seguintes condições: PCR 10x PCR Tampão 200 mM Tris-HCL (pH 8,4), 500mM KCL; 50Mm $MgCl_2$; 10Mm de desoxinucleotídeos trifosfatos (dNTP Mix); iniciador codificador 10 μ M (F1); iniciador molde 10 μ M (F2); Taq DNA polimerase (5U/ μ l); exceto os iniciadores para a região da protease: iniciador codificador 10 μ M (DP10) e molde 10 μ M (DP11) e água livre de DNase e RNase (Invitrogen, USA) para volume final de 50 μ L.

Para a região da Transcriptase Reversa (RT) utilizou-se um ciclo inicial de 94°C por 3 minutos, seguidos de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 55°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto e 30 segundos, e extensão final de 72°C por 10

minutos. Para a região da Protease (PT) foi utilizado um ciclo inicial de 94 °C por 3 minutos, seguidos de 25 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 55 °C por 30 segundos e 72 °C por 1 minuto, e extensão final de 72 °C por 10 minutos.

As amostras que apresentaram resultado negativo para as duas regiões ou discordarem no PCR na região da Protease ou da Transcriptase Reversa foram submetidas a protocolos de resgate usando o Sistema *ViroSeq™ HIV-1 Genotyping Systems* (ABBOTT, USA). Nesse protocolo de recuperação, as duas regiões foram amplificadas em um único amplicon de 1,8 Kb.

Todas as ampliações foram realizadas em termocicladores modelo Eppendorf Master Cycle e GeneAmp PCR System 9600 da Perkin Elmer. (Anexo VII)

3.11 Detecção, Quantificação e Purificação do Produto de PCR

Após a amplificação, a identificação do produto obtido pelo PCR foi realizada por eletroforese em gel de agarose a 1% em Tampão Tris Borato EDTA (TBE 0,5X), corado com 0,5 µg de Brometo de Etídeo.

Os produtos da amplificação e o padrão de peso molecular de 100 pb (*Invitrogen, USA*) foram aplicados em gel de agarose a 1% e submetidos a uma corrente constante de 100 Volts por 40 minutos.

As amostras identificadas como positivas foram submetidas a um processo de purificação utilizando colunas de sílica (*Pure Link™ PCR Purification Kit* *Invitrogen, USA*). O material purificado foi quantificado em gel de agarose a 1% em Tampão TBE 0,5X e corado com 0,5 µg de Brometo de Etídeo, com padrão de massa molecular *Low Mass Ladder* (*Invitrogen, USA*).

3.12 Reação de Seqüenciamento

Para o seqüenciamento, foi utilizada a técnica de seqüenciamento por PCR (*cycle sequencing*), derivada da metodologia de Sanger, 1977, utilizando-se didesoxinucleotídeos (ddNTPs) contendo marcadores fluorescentes do *Kit ABI Prism^R BigDyeTM Terminator (Applied Biosystems)* (Sanger et al., 1977).

3.13 Reação de Seqüenciamento por *Cycle Sequencing*

Para a reação de seqüenciamento foi utilizado *DNA Sequencing Kit –Big DyeTM Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction – ABI Prism® (Applied Biosystems, USA)* e 5 a 10 ng de DNA purificado. Para a região da *protease*, a reação foi realizada utilizando 2 µL de *Big Dye versão 3.1 (Applied Biosystems)*, 2,5x tampão 50mM MgCl₂ Tris-HCl (pH 9), 3.2 picomol/µl dos iniciadores DP16 e DP11 ou DP16 e DP17, para um volume final de reação de 20 µL.

Para a região da *transcriptase reversa*, utilizou-se 4 µL de *Big Dye versão 3.1 (Applied Biosystems)*, 2,5x tampão 50mM MgCl₂ Tris-HCl (pH 9), 3.2 picomol/µl dos iniciadores F1 e F2 , para um volume final de reação de 20 µL.

Todas as reações de incorporação de rodaminas foram realizadas em placas de 96 poços (*Optical 96-well Reaction Plate, Applied Biosystems*), sob as seguintes condições de ciclagem em *Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9600*: 25 ciclos de 96 °C por 10 segundos, 50 °C por 5 segundos e 60 °C por 4 minutos.

3.14 Purificação da Reação de Seqüenciamento

Após a realização da reação de seqüenciamento, procedeu-se uma etapa de purificação na qual 80 µL de isopropanol foram adicionados em cada poço da placa. A placa foi centrifugada a 1.990 x *g* por 45 minutos; o isopropanol foi desprezado por inversão da placa e seguiu-se uma etapa de centrifugação da placa invertida a 150 x *g* por 1 minuto. O depósito seco foi ressuspensão com 20 µL de formamida *Hi-Di* e as amostras foram seqüenciadas em Seqüenciador Automático ABI 3100.

3.15 Análise Molecular

Os cromatogramas foram alinhados e editados manualmente, utilizando o software Sequencher (Gene Codes, USA). A edição automatizada, realizada através do programa Phred (www.ial.sp.gov.br) também foi realizada a partir dos cromatogramas.

3.16 Resistência

Os arquivos consensos gerados pela edição manual em formato fasta foram submetidos ao website da Universidade de Stanford (Stanford HIV Drug Resistance Database, <http://hivdb.stanford.edu/>) para análise do perfil de resistência genética aos anti-retrovirais.

3.17 Análise dos Subtipos do HIV-1

Os arquivos fastas gerados pela edição manual pelo software Sequencher (Gene Codes, USA) foram submetidos ao website do NCBI (National Center for Biotechnology Information – NIH, e *REGA subtyping tool* para análise do subtipo do HIV-1. O programa Genotyping, disponível no website do NCBI, realiza a análise de subtipagem através da comparação por BLAST da seqüência genética da amostra com cada uma das seqüências referência. A ferramenta *REGA subtyping tool* define o subtipo do HIV-1 por meio da combinação de análise filogenética com métodos de *bootscanning*.

3.18 Análise de Recombinante

As amostras consideradas potenciais variantes recombinantes foram analisados por meio do programa SIMPLOT versão 2.5, sob os seguintes parâmetros: *window* 350 bp, *step* 10bp, *GapStrip on*, *Reps* 1000, Kimura (2-parâmetros), *T/t:2,0*, *Neighbor-Joining*.

3.19 Análise Estatística

A referente coleta de dados foi direta e contínua, ocorrendo durante o ano de 2007. Nesse ano foram registrados 3 784 testes de HIV em gestantes, sendo 955

testes realizados no município Araranguá, 1871 realizados no município de Criciúma e 958 realizados no município de Içara. Do total 11 deram positivos (0,3 %).

A coleta de dados foi realizada por meio do *software EpiData* versão 3.1 (Lauritsen, 2004) e após essa etapa os mesmos foram exportados para a realização das análises e organizados em tabelas do Microsoft Office Excel 2003® de acordo com a variável envolvida, e posteriormente foram esboçadas representações gráficas (no caso gráficos de setores e colunas).

A frequência dos itens e respectiva porcentagem foram usadas para descrever as variáveis, e para tornar a análise com caráter exploratório, foram obtidas algumas medidas de tendência central (média e moda), estimando-se também outro parâmetro referente à medida de dispersão (desvio padrão).

5 RESULTADOS

Neste trabalho investigou-se os aspectos sócio-demográficos, comportamentais e reprodutivos relacionados a infecção pelo HIV-1 em gestantes em acompanhamento pré-natal no ano de 2007, no sul do estado de Santa Catarina.

A população de estudo foi composta de 36 gestantes, nas quais observaram-se 38 gestações, pois duas pacientes que pariram no início de 2007 encontravam-se novamente grávidas no final do mesmo ano. O perfil clínico, epidemiológico, reprodutivo e comportamental foi obtido de todas as participantes do estudo. A maioria das pacientes 31 (86.11%) foi atendida nos AME de Criciúma, 3 no serviço de referência de Araranguá e 2 no serviço de atendimento especializado de Içara, três cidades localizadas no extremo sul de Santa Catarina, Brasil.

As características epidemiológicas, clínicas e o perfil reprodutivo das gestantes relacionados a infecção pelo HIV encontram-se apresentados no artigo em anexo (Anexo X) juntamente com os *abstracts* submetidos a XVII Conferência Internacional de AIDS a ser realizada em agosto de 2008 na cidade do México.(anexos XI e XII).

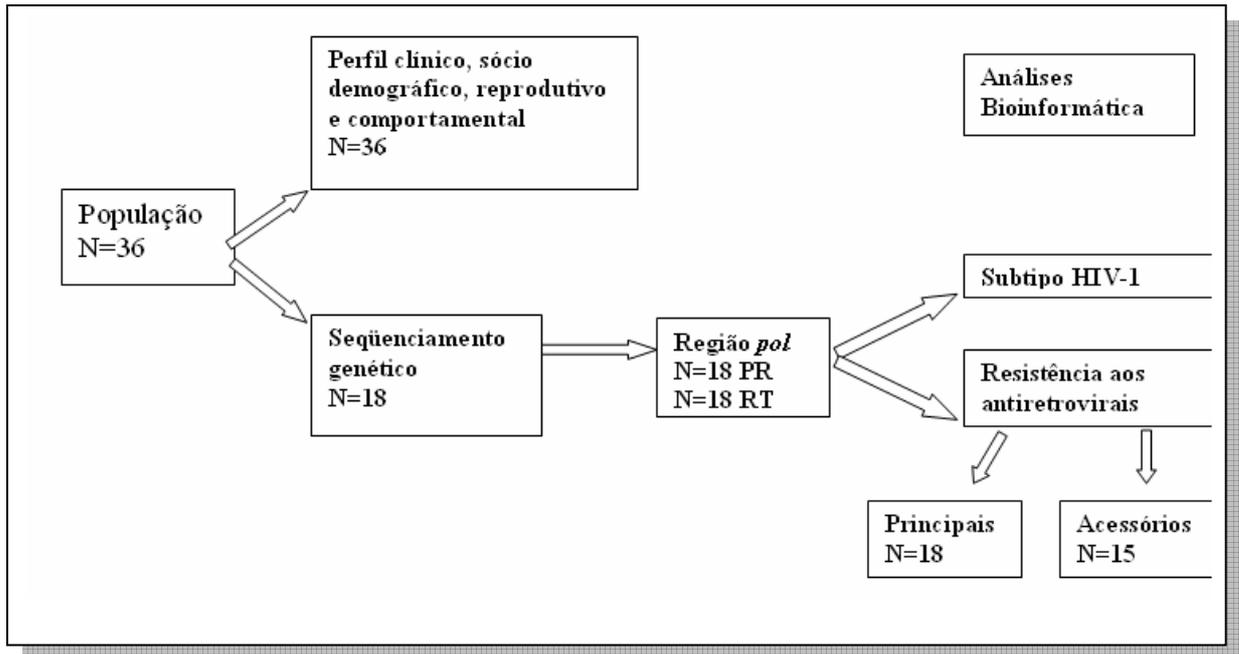


Figura 3: Representação esquemática do estudo.

5.1 Análise da Idade Gestacional no Início da Terapia Anti-retroviral entre as 36 Gestantes do Estudo

Com relação ao início da terapia anti-retroviral observou-se que 33,3% das gestantes iniciaram a terapia até a 14^a semana de gestação e 44% entre a 15^a e 26^a semana. Aproximadamente 20% das gestantes iniciaram tardiamente o tratamento (Tabela 1). Duas pacientes iniciaram o pré-natal e a TARV apenas na 37^a semana de gestação (Tabela 1). Destas uma teve diagnóstico de HIV durante esta gestação e a outra foi diagnosticada em gestação anterior no ano de 2004; possuía história de múltiplos parceiros, sendo o atual pertencente a população prisional e referiu o uso de crack no último mês. Todos estes fatores podem ter contribuído para o não comparecimento ao serviço de referência para o pré-natal. Verificou-se que apenas 1 das pacientes não havia iniciado o tratamento, pois encontrava-se abaixo de 14

semana de gestação no momento da coleta dos dados, sem alterações clínicas e imunológicas.

Tabela 1: Distribuição das pacientes em relação ao início ou adequação da TARV

Descrição	Total	%
07 a 14 sem	12	34,29
15 a 26 sem	16	45,71
28 a 31	5	14,00
37	2	5,71
Sem uso	1	3,00
Total	36	100,00

5.2 Características Relacionadas ao Uso de Anti-retrovirais Durante a Gestação

De acordo com a classificação de TARV em profilática ou terapêutica, observou-se que 23 pacientes faziam uso de TARV profilática e 12 de TARV terapêutica. Nas pacientes que faziam uso de TARV terapêutica anterior a gestação, quando necessário houve adequação do esquema terapêutico durante a gravidez (Figura 4).

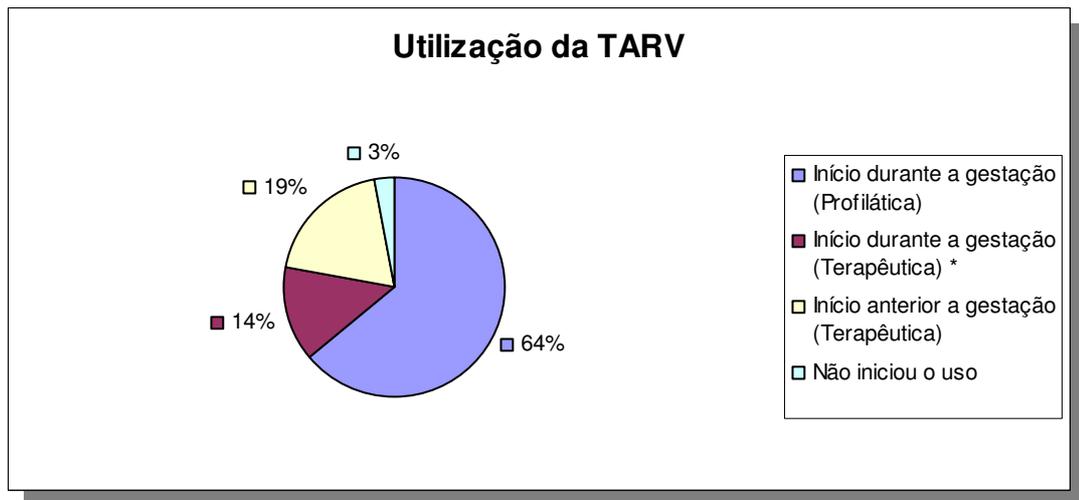


Figura 4: Frequência e tipo de terapia anti-retroviral nas 36 pacientes da amostra

O esquema terapêutico mais empregado nas 35 pacientes em uso de TARV, foi a associação de um inibidor da protease (IP) com dois inibidores da transcriptase reversa análogo do nucleosídeo (ITRNs) em 78% das gestantes. No momento da coleta as pacientes faziam uso de 4 diferentes esquemas terapêuticos (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição das gestantes em relação ao esquema anti-retroviral utilizado de acordo com o mecanismo de ação dos fármacos

Anti-retroviral	Número de gestantes	%
2 ITRN + 1 IP	28	77,8
2 ITRN + 1 ITRNN	3	8,30
1 ITRN + 1 ITRNN + 1IP	3	8,30
ITRN	1	2,80
Sem uso	1	2,80
Total	36	100,00

Avaliando os efeitos colaterais relacionados a TARV observou-se alergia e diarreia em 4 e 3 pacientes respectivamente. Uma das pacientes apresentou os dois sintomas (Tabela 3). Quatro dos casos de efeitos colaterais foram relacionados ao nelfinavir e dois casos de alergia relacionada a nevirapina. Em 8 pacientes houve troca de medicamento com resolução das reações adversas.

Tabela 3: Distribuição das reações adversas relacionadas a TARV

Descrição	Total	%
Alergia	4	11,43
Alergia/Diarreia	1	2,86
Diarreia	3	8,57
Ausência de efeitos colaterais	27	77,14
Total	35	100,00

O sucesso terapêutico depende da boa adesão do paciente ao tratamento. Neste contexto, verificou-se que a adesão foi considerada regular em 23 (66%) das pacientes (Tabela 4). No grupo de pacientes com adesão irregular, concentrou-se metade das pacientes com TARV terapêutica e com maior tempo de diagnóstico.

Tabela 4: Distribuição dos casos de acordo com a adesão ao tratamento

Adesão	Número de gestantes	%
Regular	23	65,71
Irregular	12	34,29
Sem uso	1	2,86
Total	36	100,00

5.3 Distribuição de Casos de AIDS Segundo o Critério CDC Adaptado

Segundo o critério CDC adaptado de classificação de casos de AIDS, que é baseado em teste HIV+, imunodeficiência clínica e/ou contagem de células T CD4⁺ < 350 células/mm³, observou-se que apenas uma das pacientes foi classificada como AIDS (C3), sendo 22 (61%) delas classificadas como A1, 8 (22%) como A2 e 5 (14%) como B2 (Figura 5).

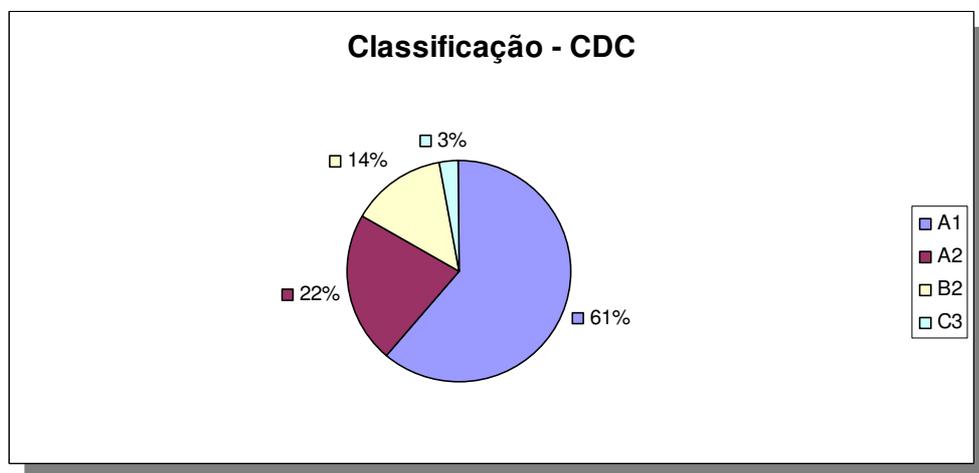


Figura 5: Distribuição das gestantes de acordo com a classificação clínica adotada pelo CDC para indivíduos com HIV/AIDS

No Brasil a notificação de casos de AIDS também se baseia na contagem de células T CD4⁺, devendo esta ser inferior a 350 células/mm³. Na avaliação dos casos de AIDS baseado no número de células T CD4⁺, considerou-se neste estudo os dados da última fenotipagem disponível no prontuário das pacientes no momento da coleta dos dados. A média do número de células T CD4⁺ do grupo de gestantes foi de 650 x 10³ células /ml (desvio padrão, 403 x 10³ células /ml). A distribuição das gestantes de acordo com o número de células T CD4⁺ está apresentado na tabela 5. Conforme pode-se verificar nesta tabela, 7 gestantes foram notificadas como casos de AIDS.

Tabela 5: Distribuição das gestantes de acordo com o número de células T CD4+ disponível no momento da coleta de dados

Descrição	Total	%
≥ 351	28	77,78
201 a 350	3	8,33
< 200	4	11,11
Não informado	1	2,78
Total	36	100,00

5.4 Diversidade do HIV-1 entre Gestantes do Sul de Santa Catarina no Ano de 2007

O seqüenciamento viral foi realizado em 18 gestantes do grupo de 38 pacientes. Analisaram-se as regiões da polimerase, codon 1 a 335 do HIV-1 em todas as amostras amplificadas. Nove amostras foram analisadas a partir do RNA viral plasmático e 9 a partir do DNA proviral de células do *Buffy Coat*. Dezoito amostras foram seqüenciadas para mutações principais em PT e RT e, destas, 15 foram avaliadas quanto a presença de mutações acessórias. Todos os casos foram em mulheres heterossexuais e relacionados à transmissão sexual. As amostras biológicas possibilitaram a avaliação do subtipo viral e das mutações relacionadas a resistência aos anti-retrovirais.

Apesar de dados da literatura apontando para uma elevada prevalência de infecção pelo subtipo C do HIV-1 no Sul do Brasil, até o início do presente estudo nada se conhecia sobre a diversidade do HIV-1 na nossa região. Comparando as seqüências do gene *pol* obtidas das amostras de HIV-1 das gestantes com seqüências representativas dos diferentes subtipos virais, identificou-se a

prevalência do subtipo C em 89% dos casos, seguido do subtipo F em 5.5% e do padrão recombinante CF(pol) em 5.5% (Figura 6).

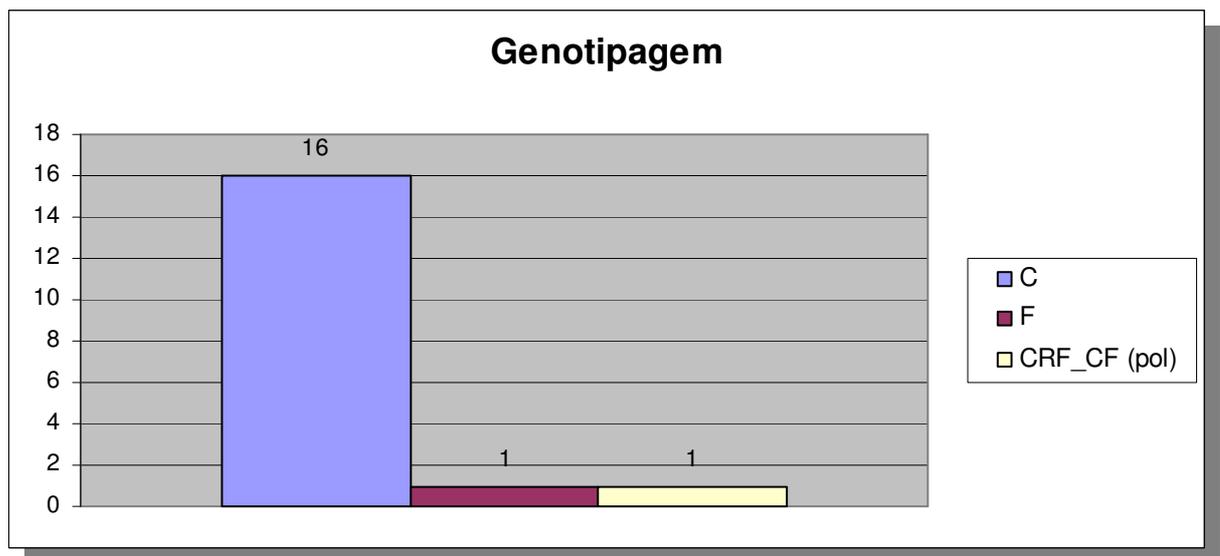


Figura 6: Distribuição dos subtipos de HIV-1 em 18 amostras de gestantes do Sul de Santa Catarina no ano de 2007.

Outra análise realizada foi quanto a distribuição dos diferentes subtipos de HIV-1, identificados pela genotipagem, em relação ao ano de diagnóstico da infecção. Na figura 7, verifica-se que no ano de 2001 já havia casos de infecção pelo subtipo C na região. Vale salientar que foram seqüenciadas até o presente momento apenas 50% dos isolados virais. Em outro estudo do nosso grupo de pesquisa em andamento, onde se estuda a transmissão vertical, verificou-se que o primeiro caso de transmissão vertical diagnosticado no município de Criciúma, há 19 anos atrás, foi decorrente da infecção pelo subtipo C do HIV (dados não mostrados).

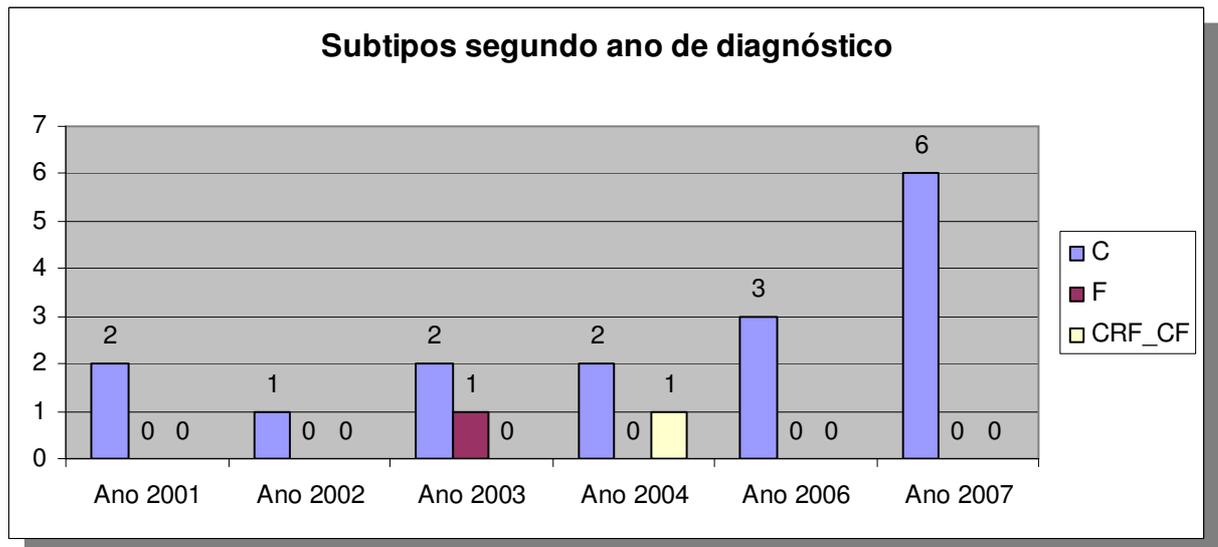


Figura 7: Distribuição dos subtipos de HIV-1 em 18 gestantes do ano de 2007 segundo ano de diagnóstico.

5.5 Análise dos Perfis de Mutações nos Isolados Virais de Gestantes do Sul de Santa Catarina no Ano de 2007

Avaliando a TARV nas 18 pacientes seqüenciadas 7 (39%) faziam uso de TARV terapêutica. Três iniciaram a TARV terapêutica durante o pré-natal atual e 4 já faziam uso antes da atual gestação. Na análise deste grupo observou-se que os ITRN mais freqüentemente utilizados foi a combinação de AZT/3TC, 100% dos casos, em associação com outras classes de anti-retrovirais (Tabela 6). A associação mais utilizada foi AZT/3TC + LPV/RTV (IP) em 72% dos casos.

Entre as pacientes seqüenciadas 4 (22,3%) pacientes apresentaram mutações de resistência. Duas gestantes do subtipo C apresentaram mutações nos códons L10V (paciente CR018) e A71T (paciente CR019) relacionados à resistência aos IP(s), sem apresentar alteração na suscetibilidade a esta classe de anti-retrovirais (Tabela 6). A paciente CR018 também apresentou mutação em códons

relacionados à resistência aos ITRN (A62V e M184V) e aos ITRNN (G190A: confere alta resistência a NVP) (Tabela 6). A paciente ARA003, identificada como subtipo F mostrou códon de mutação aos ITRN (M184V) e ITRNN (K103N e V108IV). A paciente IÇ001, identificada como padrão recombinante CF(pol), apresentou o mesmo perfil de mutação que a paciente ARA003.

Com relação ao perfil de mutações acessórias foram seqüenciadas apenas 15 amostras e 100% delas apresentaram códons de mutação acessórias para IP, ITRN e ITRNN. Vale salientar que a presença isolada destes códons de mutação acessória não confere resistência aos anti-retrovirais. As mutações mais freqüentes relacionadas aos IP foram: R41N, N37K, H69K, I93L I15V, e relacionadas aos ITRN e ITRNN: R211K, S48T, V35T e T39A (Tabela 6).

A paciente que apresentou resistência as 3 classes de anti-retrovirais foi notificada como AIDS em 2003. Esta paciente apresentava no momento da coleta do material para genotipagem carga viral de 3.100 cópias virais/ml de plasma, 486×10^3 células TCD4+/ml e fazia uso de TARV terapêutica baseado em AZT+3TC+RTV+LPV. A mesma apresentava suscetibilidade a todos os IP testados e alta resistência a nevirapina. A segunda paciente apresentou mutação de resistência acessória apenas aos IP, fazia uso de TARV profilática e com diagnóstico de HIV em 2007, sendo suscetível a todos os IP. Nesta amostra de gestantes, as 3 pacientes que apresentaram mutações relacionadas aos ITRN também apresentaram mutações relacionadas à resistência aos ITRNN. Duas em uso de TARV terapêutica notificadas como AIDS em 2003, sendo uma do subtipo C e a outra do subtipo F. A terceira paciente apresentou um padrão de recombinação CF(pol) e estava em uso de TARV profilática porém já havia utilizado anti-retrovirais em gestação anterior (Tabela 6).

Tabela 6: Diversidade viral, perfil de resistência aos anti-retrovirais e características imunológicas e terapêuticas nas 18 pacientes seqüenciadas

Código paciente	CV	CD4	Subtipo viral	Res IP	Res ITRN	res ITRNN	Medicação	Diag.	TARV
CR002	5286	463	C	não	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2006	Profilática
CR009	1303	275	C	não	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2002	Terapêutica
CR010	3650	555	C	não	não	não	AZT+3TC+ NFV	2007	Profilática
CR011	810	404	C	não	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2006	Profilática
CR012	3454	317	C	não	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2004	Terapêutica
CR013	105	516	C	não	não	não	AZT+3 TC+NVP	2007	Profilática
CR016	146.420	368	C	não	não	não	AZT+3TC+ LPV	2006	Profilática
CR017	271	918	C	não	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2007	Profilática
CR018	3.100	436	C	SIM-L10V	SIM-A62V,M184V	SIM-G190A	AZT+3TC+ RTV+LPV	2003	Terapêutica
CR019	2879	456	C	SIM-A71T	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2007	Profilática
CR020	3.944	764	C	não	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2001	Profilática
CR021	9.268	815	C	não	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2001	Profilática
CR022	138.678	168	C	não	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2004	Terapêutica
CR023	13.868	276	C	não	não	não	AZT+3TC+ NFV	2003	Terapêutica
CR024	322	173	C	não	não	não	AZT+3TC+ RTV+LPV	2007	Terapêutica
ARA001	9300	618	C	não	não	não	AZT+3TC+ NFV	2007	Profilática
ARA003	186	491	F	não	SIM-M184V	SIM-k103N e V108IV	AZT+3TC+ RTV+LPV	2003	Terapêutica
IÇ001	17	737	Mosaico CF(pol)	não	SIM- M184V	SI SIM- k103N e V108IV	AZT+3TC+ RTV+LPV	2004	Profilática

6 DISCUSSÃO

Este estudo procurou caracterizar os perfis sócio-demográfico, comportamental, reprodutivo e clínico de gestantes do Sul de Santa Catarina, bem como, caracterizar parcialmente a diversidade genotípica do HIV-1 nesta região do estado.

A amostra estudada foi composta de mulheres com idades que variaram de 17 a 37 anos, 67% com faixa etária de 20 a 27 anos, a idade média foi de 26 anos e a mediana de 25.5 anos. Em relação a etnia a maioria (78%) definiu-se como branca, e 47% com escolaridade de 4 a 7 anos. Deve-se considerar que este estudo foi conduzido no serviço de pré-natal onde são atendidas quase que exclusivamente pacientes de baixa renda, assistidos pelo sistema único de saúde. Estes dados são semelhantes àqueles encontrados na análise do perfil epidemiológico da transmissão vertical em São José do Rio Preto-SP, onde a média de idade das mães era de 28 anos, variando de 20 a 39 e mediana 27,5, e com maioria de pele branca (73%). Neste estudo, 34% não havia completado o ensino fundamental (David & Salomão, 2006). No estudo de Cardoso et al., (2007), realizado com gestantes de 27 municípios do sul do país, a prevalência de infecção pelo HIV foi de 0,5% (40/8002 gestantes) e o nível de instrução foi a única variável relacionada a esta ocorrência, sendo quase 3 vezes menor nas pacientes soropositivas. No Brasil o nível de instrução é considerado o melhor indicador de status social (Cardoso et al., 2007).

Comparado nossos resultados com aqueles do Ministério da Saúde, observou-se uma diferença no perfil racial com incidência de 48% em brancas, 17% negras e 34 % em pardas. (Brasil, 2006). Vale salientar que na nossa região predomina a raça branca.

Com relação a renda mensal da família, obtida através de informações da paciente, verificou-se que a maioria (75%) possui renda familiar inferior a três salários mínimos. A maioria (83%) não possuía emprego formal, 47% eram trabalhadoras do lar e duas delas eram profissionais do sexo. No estudo de Paiva et al (2002), 50% das participantes recebiam menos de 200 reais por mês, com uma renda de menos de 50 reais /mês/pessoa da família (Paiva et al., 2002).

Os resultados deste trabalho mostram o predomínio de HIV/AIDS entre mulheres com baixo nível educacional e piores condições econômicas, confirmando estudos prévios enfatizando a conexão entre vulnerabilidade ao HIV-1 e desigualdade social (Dhalia et al., 2000; Fonseca et al., 2002; Barbosa, 2003; Bates et al., 2004).

Todas as pacientes referiram vida sexual ativa, comprovada pela própria condição da gravidez. A idade do início de atividade sexual variou de 11 a 19 anos com média de 15,2 anos e mediana de 15 anos. O número de parceiros considerando-se a vida toda variou de 1 a 30 com média de 6 e mediana de 3 parceiros sexuais, excetuando-se as duas mulheres que trabalham com sexo. Além de sexo vaginal, 12 (33%) mulheres admitiram praticar sexo anal e 16 sexo oral (44%). Duas mulheres referiram contato sexual com estrangeiros (um europeu e um americano). Uma delas estava morando na Europa e retornou ao país após gestar. No estudo de Paiva et al., (2002), a maioria das mulheres referiu parceiros fixos com média de 4,5 parceiros durante a vida toda, atividade sexual no momento da entrevista e média de idade do início da atividade sexual foi de 15,8 anos, variando de 12 a 21 anos, concordante com os dados deste estudo e comparável a média nacional (Paiva et al., 2002).

Em 35 gestantes desta amostra o comportamento sexual referido foi heterossexual, o modo de contágio foi através de relação sexual em 100% e nenhuma utilizou drogas injetáveis durante a vida ou realizou transfusão de sangue. 30 mulheres (83,3%) se reportam como sendo casadas ou morando com companheiro, 31 referiram parceiro sexual único no último mês e 30 referiram parceiro sexual fixo nos últimos seis meses. Ao avaliar o comportamento de risco dos parceiros da vida toda, observou-se que 50% eram HIV+, 22% UDI, 7 faziam parte da população prisional e 19% eram caminhoneiros. Este achado corrobora estudos anteriores realizados em Criciúma, analisando pacientes HIV+ atendidos no ambulatório de especialidades médicas (AME) do Programa Municipal de DST/AIDS do Município de Criciúma (Oliveira et al., 2007a). Também confirma a tendência atual da epidemia que se caracteriza pela heterossexualização, feminilização, interiorização e pauperização, demonstrando a crescente infecção em pessoas jovens e do sexo feminino em idade reprodutiva. Uma parcela cada vez mais expressiva das pacientes notificadas de AIDS tem parceria sexual única no momento do diagnóstico e um número de parceiros sexuais na vida que não difere muito do relatado pela maioria da população (Brasil, 2006: Galvão et al., 2004). Barrichelo et al (2002), em 355 prontuários de pacientes do Município de Criciúma encontraram uma predominância de casos envolvendo pacientes heterossexuais, com múltiplos parceiros e usuários de drogas injetáveis. (Barrichelo et al., 2002) e um levantamento epidemiológico realizado em pacientes atendidos no AME de 2004 a 2006, concluiu que a exposição mudou para a categoria “heterossexual com parceiro de risco indefinido” tanto para homens quanto mulheres. O uso de drogas injetáveis entre adultos deixou de ser a principal fonte de exposição ao HIV como era no início da epidemia na cidade (Oliveira et al., 2007 a). Como resultado da expansão da

epidemia na população heterossexual, as mulheres têm sido acentuadamente afetadas, acarretando, por sua vez, o aumento dos casos de crianças infectadas por transmissão materno-infantil (TMI).

Em relação ao uso de drogas injetáveis os dados obtidos diferem daqueles publicados pelo *European Collaborative Study*, na Ucrânia onde encontraram alta prevalência em pessoas com história de início precoce do uso de drogas injetáveis e comportamento de alto risco (uso de drogas e sexual) e baixo uso de preventivo. Em 2004, 50% das mulheres do estudo relataram serem UDI ou terem parceiros UDI. Porém dados deste estudo são concordantes quando se avalia a taxa de infecção entre as mulheres que não relatavam nenhum fator de risco e que provavelmente adquiriram HIV através de relação sexual desprotegida com parceiro regular ou casual, incluindo o marido (87% casadas ou com parceiro fixo). (Thorne et al., 2005).

Em relação ao uso de preservativo masculino, na categoria parceiro fixo no último mês somando as respostas não e nem sempre, encontrou-se que 75% das gestantes não faziam uso de preservativos masculino com parceiro fixo. Com relação ao uso ou não uso desde a primeira relação sexual, 91% não utilizava ou usavam apenas ocasionalmente, o que provavelmente explica a forma de contágio. Estes dados preocupantes reforçam os encontrados na literatura justificando a feminização da epidemia em mulheres provavelmente contaminadas por seus parceiros fixos. Nenhuma paciente da amostra utilizava preservativo feminino e 2 pacientes referiram que o parceiro era HIV negativo e recusava-se a usar preservativo. Jarbas Magalhães, 2001 em sua tese de doutorado, pesquisou a aceitabilidade e adesão do preservativo feminino em mulheres HIV+. Após serem treinadas em modelo pélvico para colocação do preservativo, 30 mulheres foram orientadas a preencher um diário sexual por um período de 90 dias. Os resultados

indicaram que houve uma diminuição no número de relações sexuais desprotegidas de 14% para 6% e as vantagens mais citadas pelas mulheres foram o poder de decidir quanto ao uso do preservativo, a não dependência do homem para o uso e a proteção contra DSTs e gravidez (Magalhães et al., 2001). Em Imbituba, cidade portuária de Santa Catarina, um estudo com 90 mulheres que trabalhavam com sexo revelou uma prevalência de infecção por HIV de 6,7%, sendo os fatores de risco associados o número de parceiros, o uso de drogas inaladas pela mulher ou parceiro e o não uso de preservativos (Trevisol & Da Silva, 2005). Estes achados reforçam a necessidade de intensificar as campanhas para o uso de preservativo masculino e incentivo e treinamento para o uso de preservativo feminino na nossa região.

Ao analisar a história obstétrica da nossa amostra, obteve-se um total de 101 gestações que resultaram, até dezembro de 2007, em 90 nascimentos. A média do número de filhos para cada gestante foi de 2,81 e a mediana 2,5 (variação de 0 - 7). Vinte (55.6%) sabiam ser portadoras do vírus HIV-1 antes da gestação e 20 já haviam tido pelo menos uma gestação anterior sendo HIV+. Em relação à transmissão vertical considerando as gestações anteriores 7 mulheres tiveram 8 filhos HIV+. Estes resultados estão em concordância com estudos brasileiros sobre reprodução e sexualidade em mulheres soropositiva para HIV+ (Santos et al., 2002; Silva et al., 2006). Avaliando a perfil reprodutivo e o exercício da sexualidade, Santos et al (2002) não encontraram associação entre pensar em ter filhos com as variáveis como percepção de risco, situação sorológica do parceiro e uso de contraceptivos. Estes concluíram que a intenção de ter filhos não se alterou substancialmente, e que mulheres HIV+ precisam ter seus direitos reprodutivos e

sexuais discutidos e respeitados em todos os serviços de atenção à saúde. (Santos et al., 2002).

Pesquisas com mulheres soropositivas no Brasil indicam que cerca de 30 a 40% delas sabiam do seu diagnóstico de HIV antes de engravidarem. Em relação às informações sobre a transmissão vertical do HIV, aproximadamente 75% das mulheres e 50% dos homens tinham essas informações, embora a vontade de ter filhos não tivesse apresentado qualquer correlação significativa com o nível de informação. Mesmo considerando as restrições relacionadas à transmissão do HIV, as pessoas entrevistadas trouxeram argumentos que justificaram ou justificariam uma gravidez. Dentre eles, destacaram-se a oportunidade de viver/reviver a experiência da maternidade ou de constituir uma família, tão culturalmente enraizada como um traço constitutivo da identidade feminina, numa perspectiva de gênero. As motivações de ter filhos associadas às expectativas de seus parceiros conjugais como uma forma de “retribuição” por gestos/iniciativas se destacou no grupo e podem ser mais diretamente relacionadas a situações conjugais no contexto da infecção pelo HIV (Silva et al., 2006).

Ao considerar o número total de gestações da nossa amostra obtêm-se uma taxa de 8% de transmissão vertical, porém salienta-se que a maioria destes casos de transmissão vertical foi antes da implantação do Programa Municipal de Atenção as DST/AIDS nos municípios estudados.

Neste grupo 9 gestantes faziam uso de TARV terapêutica, 6 estavam com carga viral acima de 1.000 cópia/ml e 5 com CD4 abaixo de 350 no momento da coleta das amostras. Estes dados são contrários àqueles verificados por Bryant et al (2007), estudando os fatores envolvidos na repetição da gestação em gestantes soropositivas. Em uma corte de 2.246 mulheres encontrou-se 492 gestantes (21,9%)

com pelo menos uma gestação HIV+ anterior. Das 492 mulheres que repetiam a gestação, 114 (23,2%) tiveram mais de uma gestação anterior HIV+ e concluiu que são fatores preditivos da repetição de gestação entre mulheres HIV+ o melhor status de saúde, com taxas de carga viral baixa e CD4 alto. E que mulheres que não usam TARV terapêutica estão mais sujeitas a repetir a gestação do que aquelas em uso.

Nesta amostra o pré-natal foi o momento do diagnóstico em 24 mulheres (67%), o que reforça a importância do pré-natal no contexto da epidemia e não houve nenhum diagnóstico realizado durante o trabalho de parto, através do teste rápido.

Na literatura inúmeros trabalhos demonstram alta taxa de diagnóstico de HIV durante o parto. Em estudo Tailandês, conduzido nos anos de 2001 a 2003, verificou-se que o diagnóstico de HIV se deu durante o trabalho de parto em 1.468 gestantes (66,7%), antes da gestação em 351 pacientes (16%) e após o nascimento em 180 mulheres (8,2%) (Plipat et al., 2007). Na Ucrânia, em estudo realizado em 2006 verificou-se que o diagnóstico de HIV ocorreu antes da gestação em 57% dos casos, durante a gestação em 34% e durante o trabalho de parto em 420 mulheres (9%). O maior número de diagnóstico realizado durante o trabalho de parto reflete falha na cobertura e testagem durante o pré-natal e aumenta a possibilidade de transmissão vertical (Thorne et al., 2006)

Vinte e seis pacientes deste estudo terminaram a gestação até dezembro de 2007, 19 (76%) através de cesariana. Este dado coincide com os valores encontrados por Melo et al (2005) quando avaliou 170 gestantes HIV+ durante um período de 10 anos na maternidade do Hospital das Clínicas de Minas Gerais com taxa de cesariana de 79,5% e por Romanelli et al(2006) com taxas de 78,9% de cesarianas. Estas taxas são justificadas pelo fato de que a partir de março de 2001

foi adotado o protocolo específico para realização de cesárea eletiva nas gestantes HIV soropositivas, segundo normas da Coordenação Nacional de DST/AIDS. O Ministério da Saúde preconiza a realização de cesariana eletiva como forma de diminuir a transmissão vertical e o parto normal pode ser considerado em pacientes com carga viral abaixo de 1.000 cópias e bolsa rota a menos de 4 h (Melo et al., 2005; Romanelli et al., 2006).

Com relação ao uso de TARV durante a gestação, no nosso estudo a maioria das pacientes (67%) estava em uso de TARV profilática, e 34,3% faziam uso de TARV terapêutica (baseado em critérios clínicos e imunológicos). No entanto, no estudo conduzido por Romanelli et al (2006) 43,3% das gestantes utilizaram TARV profilática e 56,7% receberam TARV terapêutica, sendo o esquema de terapia altamente efetiva (emprego de pelo menos 3 antiretrovirais) utilizado por 84,5% das pacientes. No estudo realizado por Melo et al (2005), comentado anteriormente, apenas 65,5% das gestantes utilizaram o regime tríplice de terapia antiretroviral, provavelmente porque a população estudada incluía pacientes tratadas antes da atual recomendação de terapia antiretroviral para gestantes do Ministério da Saúde. Estas variações podem ser decorrentes de vários fatores entre os quais, a carga viral e o número de células T CD4⁺ no momento do diagnóstico e o conhecimento do diagnóstico prévio a gestação, ou durante gestação anterior (Melo et al., 2005; Romanelli et al., 2006).

A adesão aos antiretrovirais foi considerada regular em 66% das pacientes. O que está de acordo com os resultados da avaliação das causas de aderência irregular nos pacientes HIV⁺ em acompanhamento clínico no ambulatório de HIV do Programa Municipal de Atenção as DST/AIDS do município de Criciúma-SC. onde verificou-se que o ano de 2006 foram atendidos pela Unidade

Dispensadora de Medicamentos 437 doentes de AIDS, destes 331 retiraram os medicamentos no prazo, conforme agendamento e 106 (24%) não retiraram os ARV no tempo determinado, caracterizando a não adesão ao tratamento. Os fatores relacionados a não adesão foram a banalização da doença, dependência química, reações adversas dos fármacos, atividade profissional (ex. caminhoneiro) outras patologias associadas, interação medicamentosa, transtorno psíquico, negação ao diagnóstico, baixa condição sócio-econômica, baixa escolaridade e pessimismo em relação a doença (Oliveira et al., 2007b).

A análise molecular do HIV-1 de 18 amostras, de um total de 36 gestantes estudadas, revelou uma elevada prevalência de infecção pelo subtipo C. Em estudo realizado na cidade de Florianópolis-SC, com 100 homens e mulheres HIV⁺, Locatelli e colaboradores (2007) identificaram alta prevalência de infecção pelo subtipo C (48%), chegando a 71,25% quando se consideraram as formas recombinantes do vírus. (Locatelli et al., 2007). Este estudo, conduzido no sul de Santa Catarina em gestantes no ano de 2007, revelou uma prevalência de infecção pelo subtipo C do HIV-1 ainda maior que aquela encontrada por Locatelli e colaboradores. Não se descarta a possibilidade de que esta alta prevalência de infecção pelo subtipo C, verificada em gestantes também possa ser identificada no resto da população infectada, em especial aquela heterossexual. Não sabemos se haverá associação preferencial de alguns subtipos do HIV com determinados fatores de riscos da população do sul de Santa Catarina. Além do mais, com o aumento do número de amostras seqüenciadas pode haver um índice maior de formas recombinantes identificadas, uma vez que o subtipo viral B também circula nesta região do país.

Os resultados encontrados nestes dois estudos Catarinenses são diferentes dos obtidos em outras regiões do Brasil, onde o subtipo B é

predominante. A alta prevalência de infecção pelo subtipo C em Santa Catarina parece acompanhar o que vem acontecendo em algumas cidades do Rio Grande do Sul e Paraná, onde o subtipo C está presente em alta proporção (Soares et al., 2005). Como comentado anteriormente o subtipo C é responsável por mais de 56% da infecção pelo HIV-1 no mundo.

Alguns estudos têm sugerido que os subtipos de HIV podem estar associados com diferentes modos de transmissão, isto porque alguns subtipos apresentam menor potencial de transmissão heterossexual em comparação com outros (Soto-Ramirez et al., 1996) e sugerem o subtipo C como um vírus mais infeccioso e que se espalha mais rapidamente que outros subtipos. Isto poderia explicar o aumento das infecções pelo HIV-1 C no Rio Grande do Sul e conseqüentemente a prevalência nos pacientes de Santa Catarina por sua proximidade territorial. Esta hipótese está baseada na presença de células de Langerhans, que apresentam a molécula CD4 em suas membranas e podem representar o alvo primário do HIV, na mucosa genital e sua ausência na mucosa retal (Moodley & Wennberg, 2005).

Ao avaliar o comportamento sexual das gestantes infectadas, observou-se que 97% eram heterossexuais. O contato sexual muito provavelmente foi a via de infecção, devido a vários fatores como o hábito de sexo desprotegido na maioria das vezes, ausência de outros fatores de risco como uso de drogas injetáveis, transfusão sangüínea, acompanhado do relato sobre parceiro com história de DST, HIV+ e usuários de drogas.

Neste estudo, esta correlação entre o subtipo C e a transmissão por via heterossexual também foi observada. No entanto, é necessário avaliar como está a distribuição dos diferentes subtipos na população em geral e em outras grupos

especiais como, por exemplo, homens que fazem sexo com homens e profissionais do sexo masculino e/ou feminino, pois, provavelmente, a disseminação de infecção por diferentes subtipos depende não só de características relacionadas ao modo de transmissão, mas também do “*fitness*” viral, estado imunológico e condições de saúde do indivíduo no momento da infecção.

Apesar de ter sido encontrada uma relação entre a via de transmissão heterossexual com o subtipo C do HIV-1 no Rio Grande do Sul, esta ligação não pôde ser estabelecida para outros subtipos virais (Brindeiro et al., 2003). Além do mais, em estudo realizado com 102 crianças nascidas de mães HIV+, onde a prevalência de infecção pelo subtipo C foi de 70% observou-se que carga viral e o uso do protocolo ACGT 076 (tratamento profilático), mas não o subtipo do HIV e o número de células TCD4+ foram preditivos de risco aumentado de transmissão vertical (Martinez et al., 2006).

As diferenças genéticas entre subtipos HIV-1 podem ser críticas para o manuseio clínico e monitoramento da resistência aos antiretrovirais que está expandindo-se para regiões do mundo onde predominam diversos subtipos não-B. No estudo de colaboração global, avaliando o impacto da TARV sobre o genótipo da protease e transcriptase reversa do subtipo B e subtipos não B (incluindo A, C, D, F, G e recombinantes CRF01_AE, CRF02_AG) encontrou-se que cada uma das 55 mutações conhecidas para o subtipo B ocorreu em pelo menos 1 dos subtipos não-B isolados e 44 (80%) dessas mutações foram significativamente associadas com TARV em pelo menos um de cada subtipos incluindo os recombinantes (Kantor et al., 2005).

O Brasil foi um dos primeiros países em desenvolvimento a garantir o acesso dos doentes de AIDS aos ARV, como forma de controle da epidemia e como

profilaxia da transmissão vertical (Brasil, 2007). A pressão exercida pela TARV seleciona variantes resistentes com mutações nos genes virais. Em 19 amostras seqüenciadas, coletadas em 1998 na região central do Brasil, foram detectadas a presença de 17 subtipos B e 2 subtipos F do HIV-1. Nesta amostra composta de pacientes com falência de TARV encontrou-se mutações de resistência em 84% dos pacientes com um total de 6 mutações da PR: 2 primárias e 4 acessórias; e 8 mutações relacionadas a transprictase reversa (Cerqueira et al., 2004).

Neste estudo observou-se que a maioria (67%) das pacientes estava em uso de TARV profilática e o esquema terapêutico mais utilizado foi AZT+3TC+RTV+LPV (ITRN + IP). Duas pacientes (11%) apresentaram códon de mutação de resistência aos IP: L10V e A71T (mutação *minor*). É importante comentar que a mutação L10V pode favorecer o surgimento de resistência viral a qualquer um dos IP quando associada com outras mutações. A resistência aos IP modifica a quantidade e a natureza dos pontos de ligação entre os inibidores e a protease (Clavel & Hance, 2004). A freqüência de mutação em códons relacionados aos IP foi relativamente baixa comparativamente ao estudo de Oliveira (2007), que estudando o perfil de resistência do HIV em infecções pediátricas na cidade de São Paulo pelos subtipos B (62%), F (8,5%), C(1,4%) e BF (28,2%), obtiveram freqüência de 39,4% e, ao incluir as mutações acessórias este percentual de resistência relacionada aos IP chegou a 98,4%. Em códons relacionados aos ITRN a mutação M184V foi encontrada em 52,5% e a mutação mais freqüente relacionada ao ITRNN foi K103N (55,4%) (Oliveira, 2007).

Com relação às mutações relacionadas aos ITRNs, as mais freqüentes encontradas neste estudo foram: A62V (1 paciente) e M184V (3 pacientes). O mecanismo de resistência aos ITRN é baseado em seu mecanismo de ação. O

mecanismo de resistência mais comum relacionado aos ITRN é a diminuição da incorporação dos ITRN na presença de mutação de resistência. O perfil A62V está associado com resistência na presença de Q151M, porém na sua ausência o efeito é desconhecido. Na presença da mutação M184V a transcriptase reversa passa a incorporar citosina em detrimento ao 3TC (lamivudina), sendo reconhecidamente causa de falência de esquemas terapêuticos. Induz baixa resistência ao ddI (didanosina) e ABC (abacavir), porém proporciona hiper suscetibilidade ao tenofovir e reverte a maioria das resistências proporcionadas por outras mutações. (Meyer et al., 2000). Quando presente, o aparecimento da Q151M ou da inserção 69 mostra resistência múltipla aos ITRN.

As mutações relacionadas aos ITRNNs encontradas nas amostras de gestantes foram: K103N, G190A e V108IV. K103N é a mutação mais conhecida e seu aparecimento está relacionado com alta resistência a nevirapina (NVP), efavirenz (EFZ) e delavirdina (DLV), podendo induzir resistência cruzada entre os ITRNN. Por outro lado, a mutação V108IV esta relacionada a baixo nível de resistência aos ITRNNs. No entanto, G190A favorece alta resistência a NVP, resistência intermediária ao EFV e aumenta a suscetibilidade ao DLV. Em relação à resistência aos ITRNNs, em 2001, para avaliar o surgimento de resistência a NVP, Eslemann e cols examinaram 111 mulheres HIV+ que receberam TARV monoterápica com NVP durante a gestação e 33 crianças HIV+ de Uganda. Em 21 (19%) das mulheres foi detectadas mutações de resistência relacionadas a NVP. O códon K103N que causa alto nível de resistência a NVP foi o mais prevalente. O códon G190A foi encontrado em 1 (1%) mulher e 1 (4,17%) das crianças infectadas (Eslemann et al., 2001).

Embora este estudo tenha sido bastante restrito em relação ao número e a origem das amostras, os resultados obtidos demonstram as diferenças regionais atuais em relação à diversidade genotípica e ao perfil de resistência aos antiretrovirais na infecção pelo HIV no país. Estudos com amostras maiores já estão sendo realizados em parceria com o Laboratório de Retrovírus – Genotipagem do HIV do Instituto Adolfo Lutz-SP.

REFERÊNCIAS

- AKULWAR SL; UKEY PM & POWAR RM. Seroprevalence of human immunodeficiency virus infection in pregnancy in a tertiary care hospital. **Indian J Med Sci.** 59(9). 2005.
- AL-KHAN A; BARDEGUEZ A; CICUTO B & APUZZIO J. Seroprevalence rate of HIV-1 in women in labor with no prenatal care at a community hospital in Newark, New Jersey, using expedited ELISA testing. **Infect Dis Obst Gynecol.** 12(3/4):164. 2004.
- BARBOSA, LM - Profiles of social vulnerability to the infection by HIV of the populations of Northeast Brazilians. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA EM HIV/AIDS.** Rio de Janeiro. pp.33. 2003.
- BARRÉ-SINOUSSE F. HIV as the cause of AIDS. **Lancet.** 348(31-35). 1996.
- BARRETO CC; NISHYIA A; ARAÚJO LV; FERREIRA J; BUSCH MP & SABINO EC. Trends in Anti-retroviral Drug Resistance and Clade Distributions Among HIV-1–Infected Blood Donors in SaoPaulo, Brazil. **J Acquir Immune Defic Syndr.** 41(3):338-341, 2006.
- BARRICHELO T; VELHO JD; PIVA A; MOURA JAB; OENNING RT; AVILA JR S & QUEVEDO J. Epidemiologia do vírus HIV no município de Criciúma, SC, Brasil. **Rev. Bras. Psiquiatr.** 24(2). 2002.
- BATES I, FENTON C, GRUBER J, LALLOO D, LARA AM, SQUIRE SB, THEOBALD S, THOMSON R, TOLHURST R. Vulnerability to malaria, tuberculosis, and

HIV/AIDS infection and disease. Part II: Determinants operating at environmental and institutional level. **Lancet**. 4: 267-277. 2004

BONGERTZ V; BOU-HABIB DC; BRÍGIDO LFM; CASEIRO M; FERREIRA PC; FREITAS CO; GALVÃO-CASTRO B; GRECO D; GUIMARÃES ML; LINHARES DE CARVALHO MI; MORGADO M; OLIVEIRA CAF; OSMANOV S; R CA; ROSSINI M; SABINO E; TANURI A & UEDA M. HIV-1 Diversity in Brazil: genetic, biological and immunological characterization of HIV-1 strains in three potential HIV vaccine evaluation sites. **JAIDS**, 23(2):184-193. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. Boletim epidemiológico - Aids e DST Ano I - nº 1 - 01ª - 26ª de 2004 - semanas epidemiológicas janeiro a junho de 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. Boletim epidemiológico - Aids e DST Ano III - nº 1 - 01ª - 26ª de 2006 - semanas epidemiológicas janeiro a junho de 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. Boletim epidemiológico - Aids e DST Ano IV - nº 1 - 01ª - 26ª de 2007- semanas epidemiológicas janeiro a junho de 2007a.

BRASIL. Recomendações para profilaxia de Transmissão Vertical do HIV e Terapia Anti-retroviral em gestantes. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. Brasília, 2007b.

BRINDEIRO RM; DIAZ RS; SABINO EC; MORGADO MG; PIRES IL; BRIGIDO L; DANTAS MC; BARREIRA D; TEIXEIRA PR; TANURI A. Brazilian Network for HIV

Drug Resistance Surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. **Aids**, 17(7):1063-1069. 2003.

BRYANT AS; LEIGHTY RM; XIANLIN S; READ JS. ; BROUWERS P; TURPIN DB. ; LARUSSA PS. ; PACHECO-ACOSTA E; PAUL ME; VAJARANANT M; TUOMALA RE. Predictors of repeat pregnancy among HIV-1-infected women **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.** vol. 44, nº1, pp. 87-92 .2007

BÜRGISSER P; VERNAZZA P; FLEPP M; BÖNI J; TOMASIK Z; HUMMEL U; PANTALEO G; SHÜPBACH & SWISS HIV COHORT STUDY. Performance of five different assays for the quantification of viral load in persons infected with various subtypes of HIV-1. **JAIDS**, 23:138-144. 2000.

CÂMARA C & OLIVEIRA R. Manual: Implicações Éticas do Diagnóstico e da Triagem Sorológica do HIV / Secretaria Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

CARDOSO AJC; GRIEP RH; CARVALHO HB; BARROS A; SILVA SB; REMIEN HR. Infecções pelo HIV entre gestantes atendida nos centros de testagem e aconselhamento em AIDS. **Rev.Saude Pública**, 41(2):101-108. 2007.

CAVALCANTE MS; R-JUNIOR NA; SILVA TMJ & PONTES LRSK. Transmissão vertical do HIV em Fortaleza: Revelando a situação epidemiológica em uma capital do nordeste. **RBGO**, 26(2):131-138. 2004.

CERQUEIRA DM; AMORIM RMS; SILVA RR; CAMARA GNL; BRIGIDO MM & MARTINS CRF. Anti-retroviral Resistance and Genetic Diversity of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates from de Federal District Central Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 99(8):877-882. 2004.

CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION . Revised classification system for Human Immunodeficiency Virus infection in children less than 13years of age. **MMWR**, 43(12):1-17. 1994.

CHOU R; SMITS AK; HUFFMAN LH & KORTHUIS PT. Screening for human immunodeficiency virus in pregnancy women: evidence synthesis. Rockeville, MD: **Agency for healthcare research and quality(AHRQ)**. p.90, 2005.

CLAVEL F; HANCE AJ. HIV Drug Resistance. The **New England Journal of Medicine**, 350:1023-1035. 2004.

COUTO-FERNANDES JC; SILVA-DE-JESUS C; VELOSO VG; RACHID M; GRACIE RSC; CHEQUER-FERNANDEZ SL; OLIVEIRA SM; ARAKAKI-SANCHEZ D; CHEQUER PJN & MORGADO MG. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active anti-retroviral therapy. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 100(1):73-78, 2005.

CUEVAS MT; RUIBAL I; VILLAHERMOSA ML; DÍAZ H; DELGADO E; VAZQUEZ-DE-PARGA E; PEREZ-ÀLVAREZ L; ARMAS MB; CUEVAS L; MEDRANO L; NOAB E; OSMANOV S; NAJERA R & THOMPSON. M. High HIV-1 genetic diversity in Cuba. **AIDS**, 16:1643-1653. 2002.

DHALIA, C, BARREIRA, D, CASTILHO, EA. A aids no Brasil. Situação atual e tendências. **Bol. Epidem. AIDS**. 2000;17 :3-13.

DAVID PRS; SALOMÃO MLM. Transmissão materno-infantil do HIV em São José do Rio Preto em 2001 e 2002. **Arq Ciênc Saúde**;13(2):59-63. 2006.

- DURAN AS; LOSSO MH; SALOMON H. Drug resistance among HIV-infected pregnant women receiving anti-retrovirals for prophylaxis. **AIDS**, 21:199-205. 2007.
- ESLEMANN SH; MRACNA M; GUAY L. A Selection and fading of resistance mutations in women and infants receiving nevirapine to prevent HIV-1 vertical transmission (HIVNET012) **AIDS**, 15:1951-1957. 2001.
- EYER-SILVA W & MORGADO MG. Molecular Epidemiology of HIV-1 Infection in a Small Brazilian County. **JAIDS**, 41(5):664-670. 2006.
- FAVIA A; FIORE JR & PASTORE G. Newly diagnosed HIV-1 infections in pregnancy: Evidences from a cohort study in south-eastern Italy. **Eur J Epidemiol**, 19:391-393. 2004.
- FIGUERÓ-FILHO EA; SENE FONTE FRA; LOPES HÁ; JÚNIOR VGS; BOTELHO CA & DUARTE G. Perfil epidemiológico da infecção pelo HIV-1 em gestantes do estado de Mato Grosso do Sul Brasil. **J Bras Doenças Sex Transm**. 17(4):281-187. 2006.
- FONSECA MGP; SZWARC WALD CL & BASTOS FI: Análise sociodemográfica da epidemia de Aids no Brasil, 1989-1997. **Rev Saúde Pública**, 36(6):678-685. 2002.
- FONSECA S; COUTINHO-SILVA A; FONSECA LAM; SEGURADO AC; MORAES SL; RODRIGUES H; HAMMER J; KÁLLAS EG; SIDNEY J; SETTE A; KALIL J & CUNHA-NETO E. Identification of novel consensus CD4 T-cell epitopes from clade B HIV-1 whole genome that are frequently recognized by HIV-1 infected patients. **AIDS**. 20:2263-2273. 2006.

GALVÃO MTG; CERQUEIRA ATAR E MARCONDES-MACHADO J. Medidas contraceptivas e de proteção da transmissão do HIV por mulheres com HIV/AIDS. *VER.Saúde Pública*, abr.2004,vol.38,nº 2, p.194-200.

GERETTI AM. HIV-1 subtypes: epidemiology and significance for HIV management. ***Curr Opin Infect Dis***. 19:1-7. 2006.

HEMELAAR J; GOUWS E; GHYS PD & OSMANOV S. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. ***AIDS***, 20:13-23. 2006.

HOLGUÍN A; MENDONZA C & SORIANO V. Comparison of three different commercial methods for measuring plasma viremia in patients infected with Non-B HIV-1 subtypes. ***Eur J Clin Microbial Infect Dis***. 18:256-259. 1999.

HUSSEIN M; ABEBE A; POLLAKIS G; BROUWER M; PETROS B; FONTANET A & RINKE DE WIT TF. Hiv-1 Subtype C in Commercial Sex Workers in Addis Ababa, Ethiopia. ***JAIDS***. 23(2):120-127. 2000.

KALEEBU P; ROSS A; MORGAN D; YIRELLA D; ORAMB J; RUTEMBERWA A; LYAGOBA F; HAMILTON L; BIRYAHWAHO B & WHITWORTH, J. Relationship between HIV-1 Env subtypes A and D and disease progression in a rural Ugandan cohort. ***AIDS***. 15:293-299. 2001.

KANTOR R; KATZENSTEIN DA; EFRON B; CARVALHO AP; WYNHOVEN B; CANE P; CLARKE J; SIRIVICHAYAKUL S; SOARTES MA; SNOEK J; PILLAY C; RUDICH H; RODRIGUES R; HOLGUIN A;ARIYOSHI K; BOUZAS MB; CAHN; SUGIURA W; SORIANO V; BRIGIDO LF; GROSSMAN Z; MORRIS L; VANDAMME A-M, TANURI A;PHANUPHAK P; WEBER J; PILAY D;

- HARRINGAN PR; CAMACHO R; SCHAPIRO JM; SHAFER RW. Impact of HIV-1 subtype and anti-retroviral therapy on protease and reverse transcriptase genotype: Results of a global collaboration. **Plos Med** 2(4):325-337. 2005.
- KHURANA S, NEEDHAM J, PARK S, MATHIESON B, BUSCH MP, NEMO G, NYAMBI P, ZOLLA-PAZNER S, LAAL S, MULENGA J, CHOMBA E, HUNTER E, ALLEN S, MCINTYRE J, HEWLETT I, LEE S, TANG S, COWAN E, BEYRER C, ALTFELD M, YU XG, TOUNKARA A, KOITA O, KAMALI A, NGUYEN N, GRAHAM BS, TODD D, MUGENYI P, ANZALA O, SANDERS E, KETTER N, FAST P, GOLDING HJ. Novel approach for differential diagnosis of hiv infections in the face of vaccine-generated antibodies : Utility for detection of diverse HIV-1 subtypes. **J. acquir. immune defici. syndr.** 2006, vol. 43, nº3, pp. 304-312
- LAURITSEN JM & BRUUS M. EpiData (version 3.1). A comprehensive tool for validated entry and documentation of data. The EpiData Association, Odense Denmark, 2004
- LEMOS LMD; GURGEL RQ & DAL FABBRO AL. Prevalência da infecção por HIV em parturientes de maternidades vinculadas ao SUS, **RBGO.** 27(1):32-36. 2005.
- LOCATELI D; STOCO P; QUEIROZ ATL; ALCÂNTARA LCJ; FERREIRA LGE; ZANETTI A.R; RODRIGUES R; GRISARD E; PINTO AR. Molecular epidemiology of HIV-1 in Santa Catarina State confirms increases of subtype C in Southern Brazil. **J. Med. Virol.** 79:1455-1463. 2007.
- LOS ALAMOS. Disponível <http://hiv-web.lanl.gov> – HIV Laboratório Nacional de Los Alamos acesso fevereiro 2008.

MAGALHÃES J; ROSSI AS; AMARAL E. Uso de condom feminino por mulheres infectadas pelo HIV. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** vol.25 no.6 Rio de Janeiro July 2003

MARTINEZ AMB; BARBOSA ED & FERREIRA PSP. Epidemiologia molecular do Hiv-1 em Rio Grande, Rs, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 35(5):471-176. 2002.

MARTÍNEZ AMB; DA HORA VP; SANTOS, AL; MENDOZA-SASSI R; VON GROLL A; D'ÁVILA N; SILVEIRA J; LEAL RG; SOARES MAHU-FURG1. Determinants of HIV-1 Mother-to-Child transmission in Southern Brazil. **An Acad Bras Cienc** 78(1). 2006.

MELO VH; AGUIAR RALP; LOBATTO ACL; CAVAQLLO IKD; KAKEHASI FM; ROMANELLI RMC; PINTO JA. Resultados Maternos e perinatais de dez anos de assistência obstétrica a portadores do vírus da imunodeficiência humana. **Rev Bras Ginecol Obstet**, 27(11):683-90. 2005.

MEYER PR, MATSUURA SE, SCHINAZI RF, SO AG, SCOTT WA. Differential removal of thymidine nucleotide analogues from blocked DNA chains by HIV reverse transcriptase in the presence of physiological concentrations of 2'-deoxynucleoside triphosphates. **Antimicrob Agents Chemother**, 44:3465-72.2000.

MBOUDJEKA I; BIKANDOU B; ZEKENG L; TAKEHISA J; HARADA Y; YAMAGUCHI-KABATA Y; TANIGUCHI Y; IDO E; KAPTUE L; M'PELLE P;

- PARRA HJ; IKEDA M; HAYAMI M & MIURA T. Genetic diversity of HIV-1 group from Cameroon and Republic of Congo. **Arch Virol.** 144:2291-2311. 1999.
- McGOWAN JP & SHAH SS. Management of HIV infection during pregnancy. **Curr Opin Obstet Gynecol.** 12:357-367. 2000.
- MOODLEY J & WENNBERG JL. HIV in pregnancy. **Curr Opin Obstet Gynecol.** 17:117-121, 2005.
- MONTANO SM, SANCHEZ JL, LAGUNA-TORRES A, CUCHI P, AVILA MM. et al. Prevalence, Genotypes and Risk Factors for HIV Transmission in South America. **JAIDS.** 40:57-64, 2005.
- MONTEIRO JP; FERARO GA; OLIVEIRA T; GOLDANI LZ.; KASHIMA S; ALCANTARA LCJ; MORGADO; BOU-HABIB DC; GALVÃO-CASTRO B. AIDS Genwetic and Biologic Characterization of HIV Type 1 subtype C Isolates from South Brazil. **Research and Human Retroviruses.** 23(1): 135-143. January 1, 2007.
- OLIVEIRA CM. Diversidade genética do HIV em infecções pediátricas, São Paulo, Dissertação Mestrado PPG ciência,da coordenadoria de controle de doenças da secretaria de saúde do estado de SP. 2007.
- OLIVEIRA EAC; BARDINI F; MARQUES G; LEMOS J; ROCHA M; OENNING R; ABDENUR S; MORAES SR; VAZ AS; MANENTI AS; ROMÃO PRT Perfil Sócio-comportamental da Epidemia da AIDS no município de Criciúma. In: III Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2007, Criciúma - SC.

Anais do III Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2007a

OLIVEIRA EAC; BARDINI F; MARQUES G; LEMOS J; ROCHA M; OENNING R; ABDENUR S; MORAES SR; VAZ AS; MANENTI AS; ROMÃO PRT. Adesão ao Tratamento Anti-retroviral de pessoas vivendo com HIV/AIDS no município de Criciúma. In: III Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2007, Criciúma - SC. Anais do III Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2007b.

PAIVA V; LATORRE MR; GRAVAT N; LACERDA R; Enhancing Care Initiative-Brazil. Sexualidade de Mulheres vivendo com HIV:AIDS em São Paulo.Cad.Saúde Pública, Rio de Janeiro,18(6):1609-1620, Nov-Dez.2002

PANDO MA; EYZAGUIRRE LM; SEGURA MI. Retrovirology First report of a HIV-1 Triple recombinant of subtypes B,C and F in Buenos Aires, Argentina. **Short report**, 3:59. 2006.

PAPATHANASOPOULOS MA; HUNT GM & TIEMESSEN CT. Evolution and diversity of HIV-1 in Africa-a Review. **Virus Genes**. 26(2):151-163. 2003.

PLIPAT T; NAIWATANAKULB T; RATTANASUPORNA N ; SANGWANLOYA O; AMORNWICHET P; TEERARATKULB A; UNGCHUSAKA K; MOCKB P; LEVIN W. MCCONNELLB MS; SIMONDS RJ; CULNANE M.Reduction in mother-to-child transmission of HIV in Thailand, 2001–2003: results from population-based surveillance in six provinces. **AIDS**, 21:145–151. 2007

POLJAK M; SEME K; MARI IJ; TOMAZIC J; VIDMAR L; MATICIC M & KASPER P.
Seroprevalence of HIV-1 subtypes A-E among HIV-1 infected individuals from
Slovenia. **Eur J Physiol.** 439:45-46. 2000.

PROIETTI ABFC; BARBOSA EF; SILVA JG; CARVALHO AF; KROON EG &
FERREIRA PCP. Genetic Variability Of Hiv-1 Isolates From Minas Gerais, Brazil.
Rev Microbiol. 30:141-143. 1999.

RAMOS MC; GREGOL LRG; GERMANY C; ALMEIDA MS; SANDER MA;
MALLMAN P & RUTHEFORD GW. Prevention of Mother-to-Child Transmission of
HIV: Compliance with the Recommendations of the Brazilian National STD/AIDS
Control Program for Prenatal and Perinatal HIV Testing in Porto Alegre, Brazil.
Aids and Behavior. 6(3):277-282. 2002.

READ JS & THE INTERNACIONAL PERINATAL HIV GROUP. The mode of delivery
and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1. A
Meta-analysis of 15 prospective cohort studies. **NEJM.** 340(13):977-987. 1999.

RODRIGUES R; VAZQUEZ CMP; COLARES JK; CUSTODIO RM; BONASSER
FILHO F; SOUZA LR; GIANNA MC; MARQUES CCA; BRIGIDO LFM.
Antiretroviral resistance mutations in human immunodeficiency virus type 1
infected patients enrolled in genotype testing at the Central Public Health
Laboratory, São Paulo, Brazil: preliminary results. **Mem Inst Oswaldo Cruz,** Rio
de Janeiro, Vol. 100(1): 97-102, February 2005.

- ROMANELLI RMC; KAKEHASI FM; TAVARES MCT. Perfil das gestantes infectadas pelo HIV atendidas em pré-natal de alto risco de referência em Belo Horizonte. **Ver.Bras.Saúde Matern.Infant.Recife**, 6(3):329-334. jul/set, 2006.
- RUSSELL KL; CARCAMO C; WATTS DM; SANCHEZ J; GOTUZZO E; EULER A; BLANCO JC; GALEANO A; ALAVA A; MULLINS JI; HOLMES KK & CARR JK. Emerging genetic diversity of HIV-1 in South America. **AIDS**. 14:1785-1791. 2000.
- SABINO EC; DIAZ R; BRIGIDO LF; DUARTE AJS; MEYER A & BUSCH M. Distribution of HIV-1 subtypes seen in an AIDS clinic in São Paulo city, Brazil. **AIDS**. 10:1579-1584. 1996.
- SALEMI M; OLIVEIRA T; SOARES MA; PYBUS O; DUMANS AT; VANDAMME A-M; TANURI A; CASSOL S & FITCH WM. Different Epidemic Potentials of the HIV-1B and C Subtype. **J Mol Evol**. 60:598-605. 2005.
- SANGER F; NICKLEN S; COULSON AR. DNA sequence with chain-terminating inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 74:5463. 1977.
- SANTOS AF; SOUSA TM; SOARES EAJM; SANABANI S; MARTINEZ AMB; SPRINZ E; SILVEIRA J; SABINO EC; TANURI A & SOARES M. Characterization of a new circulating recombinant form comprising HIV-1 subtypes C and B in southern Brazil. **AIDS**. 20(16):2011-2019. 2006.
- SANTOS NJS; BUCHALLA CM; FILIPE EV; BUGAMELLI L; GARCIA S; PAIVA V. Mulheres HIV positivas, reprodução e sexualidade. **Rev. Saúde Pública**, 36(4). São Paulo Aug. 2002.

SBALGUEIRO RL. HIV e gestação: Estudo da prevalência e aspectos epidemiológicos entre 436 gestantes atendidas no pré-natal do Hospital de clínica da Universidade Federal do Paraná no período de junho de 1997 a março de 1998. **RBGO**. 23(1):56. 2001.

SENGUPTA S; KHETAWAT D; JANA S; SARKAR K; BHATTACHARY SK & CHAKRABARTI S. Polymorphism of HIV-1 gag (p17) gene from female sex workers in Calcutta, India. **Arch Virol**. 150:2117-2124. 2005.

SILVA NEK; ALVARENGA AT; AYRES JRC. Aids e gravidez: os sentidos do risco e o desafio do cuidado. **Rev Saúde Pública** 2006;40(3):474-81.

SNOEK J; VAN LETHEN K; HERMAN P; VAN WIJNGAERDEN E; DERDELINCK I; SCHROOTEN Y; VAN DE VIJVER DAMC; DE WIT S; CLUMECK N & VANDAMME A-M. Rising Prevalence of HIV-1 Non-B Subtypes in Belgium: 1983–2001. **JAIDS**. 35:279-285. 2004.

SOARES EAJM; SANTOS RP; PELLEGRINI JA; EDUARDO S; TANURI A; SOARES MA. Epidemiologic and molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 in southern Brazil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, 34(5): 520-526. 2003.

SOARES EAJM; MARTINEZ AMB; SOUZA TM; SANTOS AFA; DA HORA V; SILVEIRA J; BASTOS FI; TANURI A & SOARES M. HIV-1 subtype C dissemination in southern Brazil. **AIDS**. 19(4):581-586. 2005.

SOARES MA; DE OLIVEIRA T; BRINDEIRO RM; DIAZ RS; SABINO EC; BRIGIDO L; PIRES IL; MORGADO MG; DANTAS MC; BARREIRA D; TEIXEIRA PR;

CASSOL S; TANURI A. specific subtype C of human immunodeficiency virus type 1 circulates in Brazil. **AIDS**. 3(17):11-21. 2003.

SOTO-RAMIREZ LE; RENJIFO B; MCLANE MF; MARLINK R; O'HARA C; SUTTHENT R; WASI C; VITHAYASAI P; VITHAYASAI V; APICHARTPIYAKUL C; AUEWARAKUL P; PENA CRUZ V; CHUI DS; OSATHANONDH R; MAYER K; LEE TH; ESSEX M. HIV-1 Langerhans' cell tropism associated with heterosexual transmission of HIV. **Science**, 271(5253):1291-1293:1996.

THORNE C; RUSLAN M; SEMENENKO I; PILIPENKO T; PATEL D; BUNDERS M; NEWELL M-L and European Collaborative Study. The mother-to-child HIV transmission epidemic in Europe: evolving in the East and established in the West. **AIDS**,20:1419-1427. 2007

TREVISOL SF & DA SILVA MV. HIV frequency among female sex workers in Imbituba, Santa Catarina, Brazil. **Brazilian J Infec Dis**. 9(6):500-505. 2005.

TSCHERNING-CASPER C; VOROS D; MENU E; APERIA K; FREDRIKSSON R; DOLCINI G; CHOUAT G; BARRÉ-SINOUSI F; ALBERT J; FENYO EM; Coreceptor usage of HIV-1 isolates representing different genetic subtypes obtained from pregnant Cameroonian women. **JAIDS**. 24:1-9. 2000.

UNAIDS/WHO, Joint United Nations Programme on HIV/AIDS/World Health Organization, AIDS, epidemic update: December 2004, Geneva, 2004. Disponível em www.unaids.org/bangkok2004/report.html

UNAIDS/WHO, Joint United Nations Programme on HIV/AIDS/World Health Organization, AIDS, epidemic update: December 2007, Geneva, 2007. Disponível em: www.unaids.org/bangkok2007/report.html

ANEXOS

ANEXO I - Questionário Sócio-Comportamental

Área de Vacinas – Unidade de Desenvolvimento tecnológica

PN de DST/Aids-MS

FICHA SOCIO-COMPORTAMENTAL

1) Data da entrevista: ___/___/___ Hora do início entrevista: ___:___h

2) NRI: _____ 3) tipo Doc _____

4) INICIAIS _____ 5) COD Proj _____

6) Unidade Saúde _____ 7) Núcleo Pesq _____

8) Estado _____ 9) Data de Nascimento ___/___/___

10) Idade _____ (em anos) 11) _____ Município

(Residência) _____

12) Estado (Residência) _____

13) Sexo

[] 1. Masculino

[] 2. Feminino

[] 3. Transgêneros

[] 98. Prefere não responder

[] 99. IGN

[] 15. outros _____

14) Gestante

- 1. Sim
- 2. Não
- 3. Não
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN
- 15. outros_____

15) Estado Marital

- 1. Casado/com companheiro
- 2. Solteiro/sem companheiro/ viúvo
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN
- 15. outros_____

16) Etnia

- 1. Branca
- 2. Negra
- 3. Parda/Morena
- 4. Amarela/Oriental
- 5. Indígena
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN
- 15. outros_____

17) Escolaridade (em anos de estudo)

- 1. Nenhum
- 2. De 1 a 3
- 3. De 4 a 7
- 4. De 8 a 11
- 5. Acima de 12
- 6. Pós- graduação
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN
- 15. outros_____

18) Renda Familiar

- 1. Menos de 1 SM
- 2. De 1 a 2,9 SM
- 3. De 3 a 5,9 SM
- 4. De 6 a 10,9 SM
- 5. Mais de 11 SM
- 6. Não a rendimentos
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN

19) Número pessoas na família_____**20) Situação Profissional**

- 1. Só estuda

- 2. Do lar
- 3. Assalariado
- 4. Autônomo
- 5. Trabalho informal
- 6. Desempregado
- 7. Aposentado/ pensionista
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN
- 15. outros _____

AValiação

21) Vida sexual ativa

- 1. SIM, há _____ [s, m, anos]
- 2. Não, nunca teve relações
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN
- 15. outros _____

22) Comportamento sexual

- 1. Heterossexual
- 2. Homossexual
- 3. Bissexual
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN

- | | | | |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 2. HSH | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. HIV/Aids | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. DST | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. Profissional do sexo | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6. População Prisional | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7. Caminhoneiro | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. Mulheres sem estas caract | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 9. Homens sem estas caract | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 10. Pessoas desconhecidas | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 11. Não, nenhuma | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 98. Prefere não responder | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 99. IGN | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 15. outros _____ | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

27) Número de Relação sexual, por semana

No último mês _____

Nos Últimos 6 meses _____

Na Vida toda _____

- | | | | |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 98. Prefere não responder | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 99. IGN | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 15. outros _____ | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

28) Pratica sexual

	1m	6m	vida toda
--	----	----	-----------

- | | | | |
|------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. Oral | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Vaginal | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

3. Anal ativo [] [] []
4. Anal passivo [] [] []
98. Prefere não responder [] [] []
99. IGN [] [] []
15. outros_____ [] [] []

29) Uso de Preservativo Masculino com parceiros estável/FIXO

- | | 1m | 6m | vida toda |
|----------------------------------------|-----|-----|-----------|
| 1. Usou sempre, durante toda a relação | [] | [] | [] |
| 2. Usou sempre, apenas para ejaculação | [] | [] | [] |
| 3. Usou, mas nem sempre | [] | [] | [] |
| 4. Não uso | [] | [] | [] |
| 5. Não se aplica | [] | [] | [] |
| 98. Prefere não responder | [] | [] | [] |
| 99. IGN | [] | [] | [] |
| 15. outros_____ | [] | [] | [] |

30) Uso de Preservativo feminino com parceiros estável/FIXO

- | | 1m | 6m | vida toda |
|----------------------------------------|-----|-----|-----------|
| 1. Usou sempre, durante toda a relação | [] | [] | [] |
| 2. Usou sempre, apenas para ejaculação | [] | [] | [] |
| 3. Usou, mas nem sempre | [] | [] | [] |
| 4. Não uso | [] | [] | [] |
| 5. Não se aplica | [] | [] | [] |
| 98. Prefere não responder | [] | [] | [] |

- | | | | |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 99. IGN | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 15. outros_____ | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

31) Uso de Preservativo Masculino com parceiros EVENTUAL

- | | 1m | 6m | vida toda |
|----------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. Usou sempre, durante toda a relação | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Usou sempre, apenas para ejaculação | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Usou, mas nem sempre | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. Não uso | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. Não se aplica | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 98. Prefere não responder | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 99. IGN | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 15. outros_____ | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

32) Uso de Preservativo feminino com parceiros EVENTUAL

- | | 1m | 6m | vida toda |
|----------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. Usou sempre, durante toda a relação | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Usou sempre, apenas para ejaculação | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Usou, mas nem sempre | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. Não uso | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. Não se aplica | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 98. Prefere não responder | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 99. IGN | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 15. outros_____ | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

33) Exposição de risco com estrangeiros

1. Sim, continente americano
2. Sim, continente europeu
3. Sim, continente africano
4. Sim, continente asiático
5. Sim Oceania
6. Sim, mas não sabe origem
7. Não sabe.
8. NUNCA
98. Prefere não responder
99. IGN
15. outros_____

34) Uso de Drogas

	1m	6m	vida toda
1. Crack	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Cocaína asp	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Álcool	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Anfetamina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Ecstasy	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Maconha	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Cigarro	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Nunca usou	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
98. Prefere não responder	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
99. IGN	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

15. outros _____ [] [] []

35) amostras Possibilidades de risco

- 1. Estupro/Violência Sexual
- 2. DST
- 3. Rompimento/Desligamento De Preservativo
- 4. Compartilhamento de equipamento para uso de drogas
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN
- 15. outros _____

36) SOROLOGIA anti-HIV, anterior? QUANTOS _____

- 1. SIM, POSITIVO Data da primeira ___/___/___
- 2. SIM, NEGATIVO Data da última ___/___/___
- 3. NÃO
- 4. INDETERMINADO
- 5. NÃO SABE
- 98. Prefere não responder
- 99. IGN

37) SOROLOGIA anti-HIV nesta visita/Entrevista

DATA: ___/___/___

- 1. SIM, POSITIVO
- 2. SIM, NEGATIVO
- 3. NÃO

4. INDETERMINADO

99. IGN

38) Aceitaria participar de estudo ou pesquisa?

1. NÃO

2. SIM

15. outros_____

39)Data de Retorno ___/___/___

40) Entrevistador _____

41) Digitador _____

42) Esta entrevista foi realizada pré-Aconselhamento?

SIM

NÃO

99. IGN

43)HORA DE TERMINO ___:___ H

ANEXO II – Questionário Clínico

Programa Nacional de DST/Aids Ministério da Saúde - Unidade de Pesquisa /Vacinas Estudo Retrospectivo de Pacientes HIV/AIDS em acompanhamento nos Serviços Públicos de Saúde Ficha de Coleta de Dados IDENTIFICAÇÃO DO SÍTIO CLÍNICO			
1. Sítio Clínico <input type="text"/>	2. Núcleo de Pesquisa <input type="text"/>		
3. Serviço de Saúde <input type="text"/>			
IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE			
4. Número de Registro Identificador <input type="text"/>	5. Tipo do documento <input type="text"/>		
6. Nome <input type="text"/>			
7. Município de residência <input type="text"/>			
8. Data de nascimento <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>	9. Idade <input type="text"/>	10. Sexo <input type="text"/>	11. Risco <input type="text"/>
DADOS DE ENTRADA DO PACIENTE NO SERVIÇO			
12. Data de matrícula no Serviço <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>		13. Data última sorologia negativa HIV <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>	
14. Data primeira sorologia positiva HIV <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>		15. Condição na entrada <input type="text"/>	
16. Exposição ARV prévia <input type="text"/>		17. Clínica na entrada <input type="text"/>	
18. Estágio Clínico entrada <input type="text"/>		19. Primeiro CD4 após a entrada <input type="text"/>	
20. Data CD4 entrada <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>		21. Primeira CV após a entrada <input type="text"/>	
22. Data CV entrada <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>			
DADOS DE SEGUIMENTO CLÍNICO (EVOLUÇÃO)			
23. Primeiro tratamento ARV (T1)			
NRTI1 <input type="text"/>	NRTI2 <input type="text"/>	NRTI3 <input type="text"/>	NNRTI1 <input type="text"/> NNRTI2 <input type="text"/> IP1 <input type="text"/> IP2 <input type="text"/> IP3 <input type="text"/>
24. Data início T1 <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>	25. CD4 pré-T1 <input type="text"/>	26. Data CD4 pré-T1 <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>	
27. CV pré-T1 <input type="text"/>	28. Data CV pré-T1 <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>	29. Número de internações <input type="text"/>	
30. Motivos das internações(3 últimas)			
MI1 <input type="text"/>	MI2 <input type="text"/>	MI3 <input type="text"/>	CID1 <input type="text"/> CID2 <input type="text"/> CID3 <input type="text"/>
31. Data de diagnóstico de AIDS <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>			
32. Doenças definidoras de Aids	DDA1 <input type="text"/>	DDA2 <input type="text"/>	DDA3 <input type="text"/> DDA4 <input type="text"/>

DADOS ATUAIS

33. Número total de tratamentos ARVs já realizados <input type="text"/>		34. Exposição ARV <input type="text"/>	
35. Tratamento atual <input type="text"/>			
NRT11A <input type="text"/>	NRT12A <input type="text"/>	NRT13A <input type="text"/>	NNRT11A <input type="text"/>
			NNRT12A <input type="text"/>
			IP1A <input type="text"/>
			IP2A <input type="text"/>
			IP3A <input type="text"/>
36. Data de início tratamento atual <input type="text"/>			
37. Eventos Clínicos durante a evolução			
EC1 <input type="text"/>	Data EC1 <input type="text"/>	EC2 <input type="text"/>	Data EC2 <input type="text"/>
EC3 <input type="text"/>	Data EC3 <input type="text"/>	EC4 <input type="text"/>	Data EC4 <input type="text"/>
EC5 <input type="text"/>	Data EC5 <input type="text"/>		
CID4 <input type="text"/>		Data Cid4 <input type="text"/>	
CID5 <input type="text"/>		Data Cid5 <input type="text"/>	
CID6 <input type="text"/>		Data Cid6 <input type="text"/>	
38. Eventos Clínicos em tratamento atualmente			
ECT1 <input type="text"/>	ECT2 <input type="text"/>	ECT3 <input type="text"/>	ECT4 <input type="text"/>
			ECT5 <input type="text"/>
CID7 <input type="text"/>		CID8 <input type="text"/>	
			CID9 <input type="text"/>
39. Clínica atual <input type="text"/>		40. Estágio Clínico atual <input type="text"/>	
41. CD4 atual <input type="text"/>		42. Data CD4 atual <input type="text"/>	
43. CV atual <input type="text"/>		44. Data CV atual <input type="text"/>	
45. Teste de genotipagem para resistência ARV <input type="text"/>		46. Data da 1ª genotipagem <input type="text"/>	
47. Data última consulta <input type="text"/>		48. Médico atual <input type="text"/>	
49. Preenchido por <input type="text"/>		50. Data da coleta dos dados <input type="text"/>	
51. Digitador <input type="text"/>			

ANEXO III - Perfil Reprodutivo

CÓDIGO
DATA DE NASCIMENTO

DATA DIAGNÓSTICO HIV
DATA DIAGNÓSTICO DE AIDS
CLASSIFICAÇÃO CDC

CV=_____ **CD4=_____** **CD8=_____**

GESTAÇÕES ANTERIORES

CESARIANA=_____

PARTO NORMAL=_____

ABORTO=_____

GESTAÇÃO ANTERIOR HIV +
()SIM QUANTOS _____
()NÃO

FILHO HIV + GESTAÇÃO ANTERIOR
()SIM QUANTOS _____
()NÃO

ÉPOCA DO DIAGNÓSTICO

- () DURANTE A GESTAÇÃO ATUAL
- () DURANTE TRABALHO DE PARTO
- () EM GESTAÇÃO ANTERIOR
- () FORA DO PERÍODO GESTACIONAL

GESTAÇÃO ATUAL

TÉRMINO DA GESTAÇÃO ATUAL
()CESARIANA
()PARTO NORMAL
()ABORTO
()GESTAÇÃO EM CURSO

RN OCORRÊNCIA:

IG NA PRIMEIRA CONSULTA
IG NO INÍCIO OU ADEQUAÇÃO DA TARV

TARV

)PROFILÁTICA

ESQUEMA PROFILÁTICO 1 _____

EFEITOS COLATERAIS _____

ESQUEMA PROFILÁTICO 2 _____

EFEITOS COLATERAIS _____

ADESÃO

)REGULAR

)IRREGULAR

)TERAPÊUTICA

INDICAÇÃO: _____

ESQUEMA TERAPÊUTICO 1 _____

EFEITOS COLATERAIS _____

ESQUEMA TERAPÊUTICO 2 _____

EFEITOS COLATERAIS _____

ADESÃO

)REGULAR

)IRREGULAR

PATOLOGIAS ASSOCIADAS:

OBSERVAÇÃO:

DATA:

RESPONSÁVEL:

ANEXO IV - Extração de RNA de Plasma

Kit QIAGEN RNA Blood Mini Kit

Observações importantes:

- Todos os procedimentos de extração devem ser feitos à temperatura ambiente (T.A.).
- Equilibre as amostras, os reagentes e a centrífuga à T.A.
- Dissolva o precipitado do tampão AVL/RNA carreador por aquecimento a 80 °C por 5 min no máximo, se necessário, e resfriar até T.A. antes de usar. O aquecimento do tampão pode ser feito até 6X porque ele degrada o carreador de RNA.
- Certifique-se se os reagentes foram previamente preparados:
 - Tampão AVL/RNA carreador: Adicionar 1ml de tampão AVL ao tubo de RNA carreador liofilizado, dissolver bem, transferir para o frasco de tampão AVL e homogeneizar bem antes de usá-lo. Fazer alíquotas de 1200µl em *ependorfs* e armazenar a 4 °C por 6 meses.
 - Tampão AW1: Acrescentar 25ml de etanol 96-100% e armazenar à T.A.
 - Tampão AW2: Acrescentar 30ml de etanol 96-100% e armazenar à T.A.
 - Tampão AVE: Já vem pronto para o uso. Armazenar à T.A.

-Procedimento:

1. Esta atividade deve ser realizada em área Pré-PCR
2. Identificar os tubos:
 - 1 tubo de 1,5ml,
 - 1 tubo A coletor que vem com a coluna de sílica,
 - 1 tubo B coletor,
 - 1 tubo C coletor,
 - 1 tubo D coletor e
 - 1 tubo de eluição, 1,5ml para recuperar o RNA extraído.
3. Pipetar 560µl do tampão AVL/RNA carreador no tubo de 1,5ml.
4. Adicionar 140µl de plasma ao tubo.

5. Vortexar por 15 segundos.
6. Incubar à T.A. por 10 min.
7. Dar um “*spin*” nos tubos para remover as gotas da parede e tampa.
8. Adicionar 560µl de etanol 96-100% na amostra
9. Vortexar por 15 segundos.
10. Dar um “*spin*” nos tubos para remover as gotas da parede e tampa.
11. Transfira com cuidado, 630µl da solução para a coluna de sílica acoplada ao tubo coletor A.
12. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) por 1 min.
13. Acoplar a coluna de sílica ao tubo coletor B
14. Descartar o tubo coletor A contendo o filtrado.
15. Transferir novamente 630µl da solução restante para a coluna de sílica acoplada ao tubo coletor B.
16. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) por 1 min. Acoplar a coluna de sílica ao tubo coletor C e descarte o tubo coletor B contendo o filtrado.
17. Cuidadosamente, adicione 500µl do tampão AW1
18. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) por 1 min.
19. Acoplar a coluna de sílica ao tubo coletor D.
20. Descartar o tubo coletor C contendo o filtrado.
21. Com cuidado, adicione 500µl do tampão AW2.
22. Centrifugar a 20000 x g (14000 rpm) por 3 min.
23. Acoplar a coluna de sílica em um novo tubo de eluição 1,5ml .
24. Descartar o tubo coletor D contendo o filtrado.
25. Com cuidado, adicione 60µl do tampão AVE à T.A.
26. Incubar à T.A. por 1 min
27. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) por 1 min.
28. Congelar o RNA extraído a –70 °C ou fazer a reação de cDNA.

ANEXO V - Extração de DNA de *Buffy Coat*

* Kit QIAamp DNA Blood Mini Kit

Observações Importantes:

-Equilibre as amostras e os reagentes a temperatura ambiente (T.A.).

-Aqueça o termobloco a 56°C.

-Certifique se os reagentes foram previamente preparados:

-Protease: Acrescentar 1,2 ml de solvente de Protease contendo 0,04% de azida sódica no tubo contendo a Protease. Fazer alíquotas de 100µl e armazenar a -20 °C. O congelamento e descongelamento da Protease devem ser evitados.

-Tampão AL: já vem pronto para o uso. Armazenar a T.A., se houver precipitados, incubar a 70 °C para dissolver.

-Tampão AW1: Acrescentar 25ml de etanol 96-100% e armazenar a T.A.

-Tampão AW2: Acrescentar 30ml de etanol 96-100% e armazenar a T.A.

-Tampão AE: já vem pronto para o uso. Armazenar a T.A.

-Identificação dos tubos:

1 tubo repositório (1,5ml),

1. 1 tubo A (1,5ml),

2. 1 tubo B coletor que já vem acoplado com a coluna de sílica (2ml),

3. 1 tubo C (2ml),

4. 1 tubo D (2ml),

5. 1 tubo de extraído (0,5ml). Os tubos de 2ml são fornecidos pelo fabricante do Kit.

-Iniciar Isolamento

6. Pipetar 20 µl de PROTEASE no tubo A de 1.5ml.

7. Adicionar 200 µl de amostra (*buffy coat*) e 200µl de tampão AL ao tubo A, vortexar por 15 segundos.

8. Incubar a 56°C por 10minutos e dar um *spin*.

9. Adicionar 200 µl de Etanol 96-100%, vortexar por 15 segundos e dar um *spin*.

10. Transfira cuidadosamente a mistura para a coluna de sílica acoplada ao tubo coletor B,
11. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) por 1 minuto.
12. Descartar o tubo B e reacoplar a coluna de sílica ao tubo coletor C.
13. Acrescentar a coluna 500µl de tampão AW1.
14. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) por 1 min.
15. Descartar o tubo C e reacoplar a coluna de sílica ao tubo coletor D.
16. Acrescentar a coluna 500 µl de tampão AW2.
17. Centrifugar a 20000 x g (14000 rpm) por 3 min e descartar o tubo D.
18. Acople a coluna no tubo repositório de 1,5ml já identificado e acrescentar 200µl de tampão AE ou água Milli Q. Incubar por 1 minuto a T.A.
19. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) por 1 minuto para recuperar o DNA extraído.
20. Guardar o DNA extraído no freezer -20°C da área de Pré-Amplificação

ANEXO VI - RETROTRANSCRIÇÃO – *Superscript III*

1		13	
2		14	
3		15	
4		16	
5		17	
6		18	
7		19	
8		20	
9		21	
10		22	
11		23	
12		24	

1. Utilizar 10,5 µL de RNA extraído
2. Adicionar 2 µL de Hexameros aleatórios 150 ng/µL
3. Adicionar 1 µL de dNTPs à 10 mM
4. Aquecer a 65°C por 5 minutos. Incubar no gelo por 5 minutos. Dar *spin* e voltar no gelo.
5. Pipetar 6,5 µL do Mix
6. Aquecer a 25 °C por 5 minutos
7. Aquecer a 50 °C por 1 hora
8. Inativar a reação por aquecimento a 70 °C por 15 minutos

MIX

	1 Amostra	
Tampão 5x	4 µL	
DTT (0,1M)	1 µL	
Inibidor de RNase (10U/µL)	1 µL	
<i>Superscript III</i> (200U/µL)	0,5 µL	

Volume Final da Reação: 20 µL
 Guardar à - 20°C

ANEXO VII: Protocolo de PCR (RNA)

POL -Protease - RT

1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10		20	

1º PCR - Polimerase (1,2 Kb)			2º PCR - Transcriptase (0,8 Kb)			2º PCR - Protease (0,4 Kb)		
	1 amostra			1 amostra			1 amostra	
Tampão 10X	5		Tampão 10X	5		Tampão 10X	5	
MgCl ₂ 50mM	2,5		MgCl ₂ 50mM	2,5		MgCl ₂ 50mM	2,5	
DNTP 10mM	2		DNTP 10mM	2		DNTP 10mM	2	
Primer K1 10pM	1,5		Primer F1 10pM	1		Primer DP10 10pM	1	
Primer K2 10pM	1,5		Primer F2 10pM	1		Primer DP11 10pM	1	
Taq	0,25		Taq	0,25		Taq	0,25	
H ₂ O	32,25		H ₂ O	36,25		H ₂ O	36,25	
Amostra	5		Amostra	2		Amostra	2	
Total	50			50			50	

Ciclo Duração: 3:26 h (<i>Eppendorf</i>)	6 K1K2	Ciclo	RT	Ciclo	PT
-----------------------------------------------	--------	-------	----	-------	----

**ANEXO VIII - Lista de *primers* Utilizados para Amplificar e Seqüenciar as
Regiões Polimerase do HIV-1.**

Primer	Seqüência (5' 3')	Gene	Localização^a
K1	CAGAGCCAACAGCCCCACCA	POL	2147-2166
K2	TTTCCCCACTAATTCTGTATGTCATTGACA	POL	3338-3308
DP10	TAACTCCCTCTCAGAAGCAGGAGCCG	PT	2198-2223
DP 11	CCATTCCTGGCTTTAATTTTACTGGTA	PT	2598-2572
F1	GTTGACTCAGATTGGTTGCAC	RT	2519-2539
F2	GTATGTCATTGACAGTCCAGC	RT	3321-3301
DP 16	CCTCAAATCACTCTTTGGCAAC	PT	2253-2274
DP17	AAAATTTAAAGTGCAGCCAAT	PT	2549-2529
SCAOSD	GGGACTTTCCGCTGGGGACTTTC	LTR	350-372
SCANSD	CGAGCCCTCAGATGCTGCATATAAGC	LTR	398-433

^a Relativa ao HIV-1 de referência HXB2. Os *primers* K1, K2, F1, F2, DP10, DP11, DP16 e DP17 estão descritos em Rodrigues,2005. Os *primers* SCAOSD e SCANSD estão descritos em Sierra M, 2005.

ANEXO IX - Consentimento Esclarecido

O Lab de Fisiopatologia/imunologia do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UNESC está desenvolvendo uma pesquisa para avaliar aspectos epidemiológicos, clínicos, subtipo e função imunológica de pacientes gestantes portadoras do vírus HIV-1 da região Sul de Santa Catarina. Este estudo tem como objetivo contribuir no estudo da taxa de incidência dos diferentes subtipos na região, incidência de variabilidade do vírus na evolução da doença e avaliar a resposta imunológica das pacientes portadores dos subtipos virais B e C a peptídeos sintéticos do HIV-1 com o intuito de avaliar se estes peptídeos seriam importantes para uma possível formulação vacinal.

Este estudo não tem o objetivo pesquisar apenas pessoas doentes ou pessoas com AIDS, mas também pessoas que convivem com o vírus e não tem doença. Para este estudo é necessária a coleta de 80 ml de sangue no início do estudo e novas coletas (5-10 ml) a cada 3-4 meses como já ocorre normalmente durante o acompanhamento pelo médico. Será necessário ainda submeter-se a uma entrevista com pesquisadores e/ou psicólogos do programa municipal de DST/AIDS. Você não será obrigado a responder ao questionário ou parte dele e, poderá sair do estudo a qualquer momento, sem prejuízo do seu atendimento na unidade de saúde. Sempre que possível a coleta de material e as entrevistas serão obtidos durante uma visita regular ao serviço, como para consultas ou coletas de exames de rotina e testes sorológicos, não se necessitando assim de novas coletas ou visitas. O objetivo é conhecer os aspectos da infecção do HIV na região e aspectos relacionados ao desenvolvimento de Vacinas contra o HIV-AIDS, e para isto estamos aqui pedindo sua autorização.

Você não tem nenhuma obrigação de contribuir para este ou outro estudo, e sua recusa não ocasionarão nenhum prejuízo ao seu atendimento neste serviço ou em outros serviços de saúde.

Se você concordar em participar desta pesquisa acontecerá o seguinte:

As informações que serão úteis para esta pesquisa serão coletadas por um dos pesquisadores, seu médico ou outro profissional da Equipe de Saúde, através de breve entrevista, ou poderá ser obtida a partir de fichas ou questionários que você já tenha preenchido previamente. Esses dados serão analisados de forma confidencial, não identificando você e suas respostas em nenhum momento do estudo. Mesmo participando, você poderá recusar responder algumas ou todas as informações solicitadas. Em nenhum momento este nome será associado à entrevista, em publicações, relatórios, ou em quaisquer outro meio, sendo, portanto o resultado desta pesquisa, se divulgado, anônimo e confidencial.

Outra parte do estudo é a coleta de 80 ml de sangue do seu braço no início do estudo e depois mais 5 a 10 ml de sangue (1-2 tubos pequenos) a cada 3-4 meses (se possível, aproveitar o material coletado para exames de rotina). Nestas, como em qualquer coleta de sangue, pode haver problemas, como desconforto ou dor no local da picada da agulha. As medidas habituais para com a coleta de sangue serão tomadas para que isto não aconteça.

Este estudo não prevê benefícios diretos para você, mas poderá ajudar no desenvolvimento de métodos para o combate a AIDS, melhor conhecimento da doença e resposta do organismo ao vírus. Como alguma das informações obtidas pode ser de utilidade a você faremos todo o possível para repassá-la o mais rápido possível a sua unidade de saúde, ficando disponível em seu prontuário médico. O estudo não prevê o uso de nenhum medicamento novo, mas todos os tratamentos

necessários a sua saúde serão realizados independentes do estudo, a critério seu e do seu médico. O estudo não vai interferir nesta conduta.

Após a realização do estudo aqui proposto, o restante do seu material biológico ficará armazenado pelo tempo regulamentar para realização de eventuais testes para confirmar ou complementar a avaliação laboratorial necessária ao seu adequado seguimento clínico na unidade.

Após leitura do texto acima concordei em participar deste estudo.

Nome:

Assinatura:

Data:

Quaisquer dúvidas favor contatar seu médico em sua unidade de saúde, ou o Dr. Pedro Roosevelt Torres Romão no fone 48-34312539, horário comercial, ou Dra Sandra Aparecida Manenti fone 91613977. Eu, abaixo assinado, me responsabilizo pelo cumprimento das condições aqui expostas.

Dr. Pedro Roosevelt Torres Romão

Coordenador da Pesquisa

Dra Sandra Aparecida Manenti

Médica ginecologista

ANEXO X - Artigo

Epidemiologic and clinical characteristics of pregnant women living with HIV/AIDS in a region of Southern Brazil where the subtype C of HIV-1 infection predominates

Manenti, S. A¹., Junior, J. G¹., Silveira, E. S¹., Oenning, R. T²., Abdenur, S²., Simões, P. W. T. A³., Moreira, J¹., Brígido, L. F⁴., Rodrigues, R⁴. & Romão, P. R. T¹

¹Laboratório de Imunologia e Mutagênese, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Av. Universitária 1105, 88806-000 Criciúma, Brasil.

²Atendimento Multiprofissional Especializado-AME, Programa de Atenção Municipal as DST-HIV/AIDS do Município de Criciúma, Rua São José 144, 88801-520 Criciúma, Brasil.

³Laboratório de Informática Médica, Curso de Medicina, UNESC, Criciúma, Brasil.

⁴Laboratório de Retrovírus, Instituto Adolfo Lutz, Av. Dr. Arnaldo 355, 01246-902 São Paulo, Brasil.

*Corresponding author: Dr. Pedro Roosevelt Torres Romão. Laboratório de Imunologia e Mutagênese, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brazil. Phone: 55-48-3431-2758; E-mail: ptr@unesc.net

Keywords: HIV/AIDS, Pregnancy, Southern Brazil, Epidemiological characteristics

ABSTRACT

From an amount of 46 pregnant women with confirmed diagnosis of HIV-1 infection recruited at three vicinity municipalities of southern of Brazil, 36 pregnant women agreed in participate and were enrolled in this study. Epidemiologic, social, behavioral and clinical data were obtained from the participants through a standardized interview questionnaire and than compiled for statistical analysis. Data analysis revealed that the great majority was white, married or living with a steady partner and with low formal education level. The number of pregnancies ranged from 1 to 7 with the mean of 2.81 (\pm 1.64). Twenty-four (66.7%) women had their HIV-1 diagnosis carried out during the pregnancy and fifteen of this diagnosis occurring in the current pregnancy. The prevalent exposure characteristic cited was heterosexual contact. A high number of lifetime sexual partners were reported presenting at least one of these characteristics: HIV-positive (50%), IDU (22.2%), male inmates (19.4%), with history of STD (11.1%) or MSM (2.8). A significant percentage of the HIV positive patients (41.7%) have related to did not use condoms with their stable partner during the last month, and if we consider the condom use during all lifetime, 91.6% refer to never have used or use them occasionally.

INTRODUCTION

The HIV infection has a worldwide distribution causing a devastating public-health problem, especially in developing countries (Merson, 2006; Greene, 2007). The UNAIDS estimates that at the end of 2006, 39.5 million people had HIV/AIDS in the world (UNAIDS/WHO, 2006). In Brazil, from 1980 to June 2007 were notified 474,273 cases of AIDS (Brasil, 2007), but it is estimated that about 1% (600,000 people) of the adult Brazilian population are living with HIV/AIDS. According to the World Health Organization, the Brazil has a concentrated HIV epidemic with the prevalence of 0.6% in the population with age of 15 to 49 years old. Until June 2007, there have been 22,718 AIDS cases reported in Santa Catarina, Southern Brazil (Brasil, 2007). In 2006, this State has the fifth highest number of cases of AIDS in Brazil and the first highest incidence with 33.0 cases per 100,000 residents (Brasil, 2007). In 2003, seven cities of the Santa Catarina state were among the 100 Brazilian cities with the highest numbers of AIDS cases, and the municipality of Criciúma, located in the south of the state, ranked as fourth in number of AIDS cases (Brasil, 2003). Between 1986 and 2006 were notified in Criciúma a total of 1,045 AIDS cases (Municipal Program of HIV/AIDS Criciúma, 2007).

In fact every local HIV epidemic consists of multiple sub-epidemics, both at a sub-population and geographic level, with significant variation within and between them (Boerma et al., 2003). In Brazil a constant change in its HIV epidemic regarding gender infection ratio, age of infection and risk behavior have been described. Currently, the HIV infection in female population has increased and nowadays women have been infected in the proportion of 1.5 men to 1 women (Brasil, 2007). Brazil's AIDS treatment program guarantees free access to HAART for all people

living with HIV/AIDS in need of treatment, including all pregnant women from 14th week of pregnancy up to delivery and for their newborns (Marins et al., 2003; Matida et al., 2005; Nunn et al., 2007). This program has caused significant impact in terms of lowering mother-to-child HIV transmission, with a decrease from 853 HIV-infected newborns in 2000 to 320 in 2006 (Brasil, 2006).

HIV1-1 subtype C is the most prevalent worldwide, accounting for more than 56% of all infections (Esparza & Bhamarapavati, 2000). One the most important features of the current Brazilian AIDS epidemic seem to be the spread of the HIV-1 subtype C in the Southern of Brazil (Rodrigues et al., 2006; Brigido et al., 2007; Locateli et al., 2007). Despite this increasing incidence of HIV-1C infection in cities of Southern Brazil, and the high risk of mother-to-child transmission during pregnancy, few studies have examined the epidemiologic factors associated with the HIV infection in the pregnant women from Brazilian regions with high proportion of subtype C infection. To investigate this question, a cross-sectional study was carried out to describe the socioeconomic and epidemiological characteristics associated with the HIV-1 infection in a southern Brazilian cohort of pregnant women.

Recently, the sequencing of 18 HIV isolates collected between January to December 2007 from pregnant women in south of Santa Catarina showed that 88% of isolates were subtype C of HIV-1 (data not published, personal communication).

MATERIAL AND METHODS

Population and sample collection:

All pregnant women with confirmed diagnosis of HIV-1 infection based on the algorithm proposed by the Brazilian Ministry of Health (Brasil, 2003), who

received care in the municipal HIV/AIDS Programs of three near cities localized at the extremity south of Santa Catarina, Southern Brazil, between January to December 2007 were invited to participate of this study. This study was approved by Ethics Committees from the Universidade do Extremo Sul Catarinense. The individuals were invited to participate and informed in detail about the research, and voluntary written consent was obtained from the subjects enrolled. After this, epidemiologic, social, behavioral, clinical variables were obtained from the women by means of a standardized interview questionnaire elaborated by the Vaccines Division, a Technology Development Unit from National Program of Sexually Transmitted Disease (STD)/AIDS) of the Brazilian Ministry of Health. Face-to-face interviews were performed during the pregnancy by trained personnel supervised by the research team. Demographic and epidemiologic data were collected, and included number and characteristics of sexual partners, history of prior sexually transmitted infections, use of condoms, and history of sex for money, drugs use, prior history of blood transfusions, marital status, educational level and others. Maternal variables were age, number of pregnancies, including the current one, number and kind of deliveries, age at the first sex intercourse. The medical care variables were age at the first prenatal visit occurred, time of HIV-diagnosis and others. After the interview blood sample were collected for future serological and molecular assays. All participants had their medical records examined for clinical and laboratory data.

STATISTICAL ANALYSIS

We used Epi-info (CDC, Atlanta, GA) for data entry, cleaning, and analysis. A database consisting of socioeconomic and epidemiological characteristics was set

up using EPI INFO software version 6.04d. The data base was compiled using the SPSS package (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA), and data analysis was carried out with Stata 8.0 (STATA Corp., College Station, Texas, USA).

RESULTS

Demographic and epidemiologic data of pregnant women infected with HIV-1

In this study, we analyzed the social, sexual, reproductive and clinical variables of pregnant women living with HIV/AIDS recruited from three small municipalities of Santa Catarina state, Southern Brazil. Of the 46 eligible participants, HIV-positive pregnant women receiving antenatal clinic attendance between January to December 2007, 36 (78.2%) agreed to participate. According to the municipality of residence, 31 (86.1%) were from Criciúma, 3 (8.3%) were from Araranguá and 2 (5.6%) were from Içara (Table 1). The age of the women ranged from 17-37 years (mean of 26.1 years, standard deviation of 5.3 years). Just over 70% identified themselves as white. Most were married or cohabiting with a steady partner (83.3%), had completed less than 8 years of formal education (61.1%), and were not formally employed (83.4%). 47.2% identified themselves as a housewife and two (5.6%) as women who work with commercial sex (female commercial sex workers). The average family income per month was low; 8.3% had no income and 66.7% had an income of less than three minimum wages (approximately US\$ 310) (Table 1).

Sexual and reproductive characteristics

Mean age at first sexual intercourse was 15.2 years (SD 1.75) and mean age at HIV diagnosis was 23.3 years (SD 5.7) (Table 1). The number of pregnancies ranged from 1 to 7 with the mean of 2.81 ± 1.64 . In terms of lifetime pregnancy history, 77.8% (28) of the women indicated have experienced a previous pregnancy. Considering a total of lifetime pregnancies, 88.9% of the women have carried a pregnancy to term (62% delivered vaginally and 37.9% by elective cesarean). We observed that in 2007, 52.8% of pregnancies have been delivered by cesarean section, representing an increasing of almost 15% compared with the oldest pregnancies. It was observed that 7 patients had a previous history of HIV positive children, 20 patients (55.6%) had been pregnant previously, even learning about their HIV diagnosis. Diagnosis was carried out during the pregnancy in 24 women (66.7%), 15 during current pregnancy and 9 at previous gestations

Prevalence of self-reported risk factors to HIV infection

Among HIV-infected pregnant women a prior IDU history, blood transfusion and occupational accidents were not associated with HIV infection. The most important mother's exposure category was heterosexual contact (100% of them) (Table 1). A high number of lifetime sexual partners were reported. Around 58% of women indicated having 3-10 lifetime sexual partners. A higher percentage of women reporting having during all life, a steady sex partner that had at least one of the following characteristics: HIV-positive (50%), IDU (22.2%), male inmates (19.4%), with history of STD (11.1%) or MSM (2.8). A significant percentage of women (41.7%) reported they had never used a condom with steady partner during last month, with only 22.2% reporting consistent use. Considering the lifetime sexual

intercourse with steady partner 91.6% used condoms on an irregular basis (sometimes or never at all). No use and occasional use of condoms with casual partner was reported by 30.5 and 27.8%, respectively.

In relation to use of non-injection drugs, 55.5% had experimented. Cigarette use was self-reported in 18 cases (50%), alcohol abuse in 9 (25%), crack cocaine in 5 (13.9%), marijuana and cocaine in 3 cases (8.3%). Additionally, we observed that almost 20% of pregnant women reported the use of different combination of illicit drugs.

Clinical, immunological and HIV status

The mean of gestational age at first antenatal clinic attendance was 17.8 ± 8.27 weeks, and the mean duration of HIV-1 infection was 3.35 years (SD of 2.9; ranging of 6.5-13 years) (Table 1). However the mean of pregnancy age at the beginning of antiretroviral therapy was 19.2 ± 8 weeks. Considering the most recent counts of CD4 and CD8 T cells and viral load available at time of the interview, the mean viral load was 10,984 copies (ranged from undetectable to 146,420 copies/mL). Around 30.5% of women presented undetectable HIV-1 RNA levels, 30.5% had 1,000 to 10,000 copies/mL, and 13.9% showed viral load between 10,000 and 100,000 copies/mL. 29 (80.6%) participants were classified as HIV infected and 7 (19.4%) as AIDS defining by CD4 T cells $< 350/\text{mm}^3$. Seventy-seven per cent of women had CD4 counts above 350 cells/ mm^3 . CD8 T cell counts ranged from 336 to 2,700 cells/ mm^3 and mean of $1,255 \pm 605$ cells mm^3 . Overall, 97.2% received ARV therapy during pregnancy. 94.4% received HAART, and 1 (2.8%) received AZT

monotherapy. It is important to comment that 33% of patients under therapy showed irregular treatment adherence.

DISCUSSION

In this study we found a high prevalence of HIV infection among pregnant women that in majority were living with a steady partner, with low family income and education level, very younger at the time of the first sexual intercourse, with HIV diagnosed during prenatal care, receiving HAART treatment after 14th weeks of pregnancy, having a steady sexual partner that were HIV-positive, IDU or with history of STD. Hence, the HIV transmission to these women seems to be due to their sexual exposition through unprotected sex with a steady partner whom showed important risk factors. This results confirm previous data reported by the Brazilian Ministry of Health and other researches showing the predominance of the heterosexual route of transmission, mainly with unprotected intercourse, the increased number of HIV/AIDS among younger women with low education levels (Brasil, 2003; Fonseca et al., 2002).

In our study HIV infection was more prevalent in the age group 20-24 years (36.1%), followed by the 25-29 years age group (30.6%). It may be because to the fact that this group is the most sexually active. Literature data showed that heterosexual woman of childbearing ages represents the fastest rising at-risk group for HIV infection. Furthermore, the earlier age at first intercourse places young people into a group exposed to risks of unintended pregnancy and sexually transmitted diseases, including AIDS (Kaestle et al., 2005). Here we found that the mean age of the first sexual contact was at 15.2 years old.

We verified that an important percentage of women have reported drinking and smoking habits. The relationship between alcohol and other drug use and sexual activity is well established. Some studies have shown that prior substance use increases the probability of an adolescent initiating sexual activity (Santelli et al., 2001; French & Dishion, 2003). Furthermore, alcohol and cigarettes are both important to the health of HIV-positive people since they can inhibit the immune response, react adversely with medications (Harrington et al., 1999) and potentially decrease adherence to antiretroviral therapy (Flaks et al., 2003).

In our study 50% of women reported that their partner were HIV-positive, 22% addicted to injecting drug, 11% had given a history of STD. Several studies have established the association of STDs and HIV infection (Ravikumar et al., 1999; Deshmukh et al., 2002; Jacob, 1995). Furthermore, substance use also appears to have a greater effect on sexual risk (Purcell et al., 2001; Seage et al., 1998; Paul et al., 1994). Thus, our data suggested that the sexual behaviors of partners' women were the strongest predictors for HIV infection.

It was observed in this study that 55% of patients had been pregnant previously, even learning about their HIV diagnosis. At this group with repeated pregnancy being HIV positive we found seven cases of mother-to-child transmission. The observed higher pregnancy rates among HIV-infected women during the era post HAART may be the result of a number of factors. Increased survival times for women with AIDS as well as delayed progression to AIDS may result in greatest opportunities to become pregnant. Also, because we observed significantly higher pregnancy rates during the HARRT era, thus more women may be choosing to become pregnant.

In our study the time of diagnosis of HIV infection and the onset of antiretroviral treatment had been retarded in 66.7% of women. This observation emphasizes the importance of HIV-positive women receiving quick and accurate information about pregnancy and neonatal HIV transmission. In addition the time between diagnosis and onset treatment needs to be shorted. We observed that almost 20% of women are diagnosed only in advanced phase of pregnancy, impairing or retarding the adequate treatment intervention. Rise of HIV infection in women may contribute to increase pediatric AIDS cases, which may become a major public health problem in coming years. Hence effective interventions are needed which can interrupt such vertical transmission.

The differences between the sex partner, steady or casual, regarding to the lack of condom use seem to be coincident with some aspects of vulnerability to AIDS previously identified in Brazil and in other developing countries (Bastos, 2000; Parker & Galvão, 1996). A pattern of heterosexual transmission and a trend towards the feminization of the AIDS epidemic, which are emerging in poorly educated or unemployed women with few sexual partners during their lives, plays an important role in the epidemiological profile of HIV infection, as a result of their economic dependency of their sexual partners and the lack of power in negotiating condom use (Bastos, 2000; Parker & Galvão, 1996).

In relation to condom use we observed that the majority of women (91.6%) have reported did not use condoms with their stable partner in all lifetime. However 58.3% reported used condoms on an irregular basis (sometimes or never at all) when the partners were casual. These results are in according to some studies that have found significant differences in condom use according to whether the sexual partner is steady or casual (Paiva et al., 2003; CEBRAP, 1999).

Another aspect to be analyzed regarding to HIV transmission in Brazilian women is the increase of infection rate in populations without an evident risk factor, as heterosexual women with a steady partner. Among women, strong risk factors for HIV infection were primarily related to their partners' behavior, suggesting that the most useful question still should be "what women know about their partners' behavior?" (Sellors, 2002; Katz, 2005).

In the last years, HAART became increasingly available, more combinations became available, and there was a better understanding of when to initiate HAART and when to switch these regimens (Panel on Clinical Practices, 2003). We observed that 94.4% had received HAART regimen during pregnancy, being 86.1% based on two ITRN plus one IP. However, this survey revealed that approximately 30% of treated patients showed irregular treatment adherence. This regimen is in accordance with the medical consensus recommended by the Brazilian Ministry of Health (Brasil, 2006).

Our finding showing higher pregnancy rates in women with count of CD4 T cells above 350 cells/ μ L, compared with women with AIDS is in agreement with findings of others studies (Kline et al., 1995, Hankins et al., 1998; van Benthem et al., 2000).

In conclusion, our data revealed some aspects of epidemiologic HIV infection in pregnant women of Southern of Brazil. In this context, we confirm data of literature showing that the mother-to-child transmission and women vulnerability to HIV infection were associated with low education, worst economic conditions, early sexual contact and mainly with the lack of regular condom use with steady partner (Barbosa, 2003; Bates et al., 2004; Dhalia et al., 2000; Fonseca, 2002). This observed increase in pregnancy rates among HIV-infected women of Santa Catarina

state, a place with predominance of HIV-1 subtype C infection among pregnant women, illustrates the need for continued efforts during the prenatal, perinatal, and neonatal periods to maintain the mother's health, make changes in ART during pregnancy if necessary, and monitor the newborn's HIV status postpartum.

Currently, women present a central role during HIV infection since that are more vulnerable to infection and also responsible for family care and mother-to-child transmission. As prevalence of HIV infection in pregnant women is high and in the absence of protective vaccine, it is important to educate and aware them about HIV infection in order to safeguard our future generations.

Table 1. Sociodemographic, reproductive, clinical and behavioural risk characteristics of pregnant living with HIV/AIDS in Southern Brazil, 2007

Pregnant women (n=36)		
	N	(%)
Age group (years) n=36		
17-19	4	11.1
20-24	13	36.1
25-29	11	30.6
≥ 30	8	22.2
Mean (SD)	26.1 (5.37)	
Mode	24.0	
Marital status		
Cohabiting (whether married or not)	30	83.3
Single	6	16.7
Municipality		
Içara	2	5.6
Araranguá	3	8.3
Criciúma	31	86.1
Race		
White	28	77.8
Black	5	13.9
Mixed (parda)	3	8.3
Education level		
never attended school	1	2.8
1 - 3 years	4	11.1
4 - 7 years	17	47.2
8 - 11 years	13	36.1
≥ 12 years	1	2.8
Family income (SM)^a		
0	3	8.3
< 1 minimum wage	5	13.9
1 - 2.9 minimum wages	19	52.8
3 - 5.9 minimum wages	7	19.4
Not determined	2	5.6
Working status or occupation		
Employment	6	16.7
Unemployed	9	25.0
Pensioner or social assistance	2	5.6
Housewife	17	47.2
Female commercial sex workers	2	5.6
Sexual characteristics		
Age of onset of sexual activity (years)		
11 - 13	4	11.1
14 - 16	25	69.4
17 - 19	6	16.7
Not available	1	2.8
Mean (SD)	15.2 (1.75)	
Mode	15	

Reproductive characteristics (Lifetime)**Total number of lifetime pregnancies (n=101)**

1	8	22.2
2	10	27.8
3	9	25.0
≥ 4	9	25.0
Mean (SD)	2.81 (1.64)	
Mode	2	

Number of deliveries (n=87)

0	5	13.9
1	6	16.7
2	10	27.8
3	9	25.0
≥ 4	6	16.7
Mean (SD)	2.42 (1.79)	
Mode	3	

Number of vaginal delivery (n=54)

0	54	62.1
1	17	47.2
2	4	11.1
3	7	19.4
4-7	3	8.3
4-7	5	13.9
Mean (SD)	1.50 (1.93)	
Mode	0	

Number of cesareans delivery (n=33)

0		37.9
0	14	38.9
1	14	38.9
2	5	13.9
3	3	8.3
Mean (SD)	0.92 (0.94)	
Mode	1	

Number of abortions (n=101)

0	32	88.9
1	4	11.1
Mean (SD)	0.11 (0.32)	
Mode	0	

HIV diagnosis during antenatal care (n=36)

Yes; during previous pregnancy	9	25
Yes; during current pregnancy	15	41.7
No	12	33.3

Characteristics of more recent pregnancies (n=36)

Repeated pregnancy after learned their HIV status	20	55.6
Number of vaginal deliveries	7	19.4
Number of planned cesareans	19	52.8
Number of pregnancy in progress	10	27.8

Time since HIV diagnosis (months)

1 - 20	15	41.7
21 - 60	12	33.3
61 - 120	8	22.2

≥ 121	1	2.8
Mean (SD)	40.1 (34.4)	
Gestational age at first antenatal clinic attendance		
7-14	14	38.9
15-26	15	41.7
28-31	5	13.9
37	2	5.6
Mean (SD)	17.8 (8.27)	
Presently taking antiretrovirals		
Yes	35	97.2
No	1	2.8
Gestational age at initial antiretroviral therapy		
7-14	12	33.3
15-26	17	47.2
27-31	5	13.9
37	2	5.6
Mean (SD)	18.4 (8.4)	
Mode	12 / 18	
Antiretroviral combination used		
2 ITRN + 1 IP	32	88.9
2 ITRN + 1 ITRNN	3	8.3
1 ITRN	1	2.8
Treatment adherence^b		
Regular	24	66.7
Irregular	12	33.3
Do not begining the treatment yet	1	2.8
Laboratorial and Clinical Status		
CD4 cells count x 10³/mL		
> 350	28	77.8
201-350	3	8.3
< 200	4	11.1
Not determined	1	2.8
Mean (SD)	650 (403)	
CD8 cells count x 10³/mL		
Mean (SD)	1,255 (605)	
Mode	1278	
Viral load (copies/mL)^c		
Undetectable	11	30.5
< 1,000	7	19.5
1,000-10,000	11	30.5
> 10,000	3	8.3
> 100,000	2	5.6
Not available	2	5.6
Immunological classification^d		
Non AIDS	29	80.6
AIDS	7	19.4
Exposure category		
Sexual	36	100

IDU	0	0
Blood or blood products	0	0
Occupational accidents	0	0
Tattoo	1	2.8
Not available	1	2.8
Number of lifetime partners		
1 - 2	9	25.0
3 - 5	12	33.3
6 - 10	9	25.0
≥ 11	3	8.3
Not applicable ^e	2	5.6
Not available	1	2.8
Mean (SD)	6.1 (6.16)	
Mode	2	
Sexual partners' characteristics (lifetime)		
IDU	8	22.2
MSM	1	2.8
HIV-positive	18	50.0
History of STD	4	11.1
Sex Worker	0	0
Male inmates	7	19.4
Condom use last month with steady partner		
Always	8	22.2
Sometimes	12	33.3
Never	15	41.7
Not available	1	2.8
Lifetime condom use with steady partner		
Always	2	5.6
Sometimes	14	38.8
Never	19	52.8
Not available	1	2.8
Lifetime condom use with "casual" partner		
Always	2	5.6
Sometimes	11	30.5
Never	10	27.8
Had never sex with unknown men	11	30.5
Not determined	2	5.6
Substance use (lifetime)		
Non-users	15	41.7
Non-injection drug use	20	55.5
Alcohol use	9	25.0
Cigarette	18	50.0
Marijuana	3	8.3
Cocaine	3	8.3
Crack cocaine	5	13.9
Cocaine+ alcohol + cigarette	1	2.8
Crack cocaine + alcohol + cigarette	1	2.8
Crack cocaine + alcohol + marijuana + cigarette	2	5.6

Crack cocaine + cocaine + alcohol + marijuana + cigarette	1	2.8
Crack cocaine + cocaine + alcohol + cigarette	1	2.8
Not available	1	2.8

^aSM, Brazilian minimum monthly wage; approximately 105 dollars

^bAntiretroviral adherence was based on the medical information obtained during antenatal clinic attendance

^cDefined as HIV RNA level less than 80 copies/mL of plasma

^dBased on CD4 cell count < 350 cells x 10³/mL

^eFemale commercial sex workers

MSM, men who have sex with sex men, STD, sexually transmitted disease, intravenous drug use, IDU

REFERENCES

Barbosa, LM - Profiles of social vulnerability to the infection by HIV of the populations of Northeast Brazilians. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA EM HIV/AIDS. Rio de Janeiro. 2003.pg 33.

Bastos FI. Feminization of the AIDS epidemics in Brazil: structural determinants and alternatives to face it. In: Saúde Sexual e Reprodutiva, No. 3. Rio de Janeiro: ABIA/IMS/UERJ, 2000.

Bates I, Fenton C, Gruber J, Laloo D, Lara AM, Squire SB, Theobald S, Thomson R, Tolhurst R. Vulnerability to malaria, tuberculosis, and HIV/AIDS infection and disease. Part II: Determinants operating at environmental and institutional level. Lancet. 2004. 4: 267-277.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. Boletim epidemiológico - Aids Ano XVII nº1 – 1ª a 52ª semanas epidemiológicas janeiro a dezembro de 2003.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. Boletim epidemiológico - Aids Ano III nº1 – 1ª a 26ª semanas epidemiológicas janeiro a junho de 2006.

Brígido LF, Nunes CC, Oliveira CM, Knoll RK, Ferreira JL, Freitas CA, Alves MA, Dias C, Rodrigues R; for the Research Capacity Program. HIV Type 1 Subtype C and CB Pol Recombinants Preval at the Cities with the Highest AIDS Prevalence Rate in Brazil. AIDS Res Hum Retroviruses. 2007. 23:1579-86.

Boerma JT, Gregson S, Nyamukapa C, Urassa M. Understanding the uneven spread of HIV within Africa: comparative study of biologic, behavioral, and contextual factors in rural populations in Tanzania and Zimbabwe. Sex Transm Dis. 2003. 30 :779-87.

CEBRAP. Brazilian sexual behaviour and perceptions on HIV and AIDS. Brasília: Ministério da Saúde/SPS/CN DSTAIDS; 1999.

Deshmukh AB, Damle AS, Anvikar AR. Epidemiology of Human Immunodeficiency Virus infection as a Sexually Transmitted Disease. Milestone, J Director Med Edu Res (DMER).2002. 1:57-3.

Dhalia, C, Barreira, D, Castilho, EA. A aids no Brasil. Situação atual e tendências. Bol. Epidem. AIDS. 2000;17 :3-13.

Esparza J, Bhamarapavati N. Accelerating the development and future availability of HIV-1 vaccines: why, when, where, and how? Lancet. 2000; 355:2061-6.

Flaks RC, Burman WJ, Gourley PJ, Rietmeijer CA, Cohn DL. HIV transmission risk behavior and its relation to antiretroviral treatment adherence. Sex Transm Dis. 2003;30:399-404.

Fonseca MGP, Szwarcwald CL, Bastos FI. Análise sociodemográfica da epidemia de Aids no Brasil, 1989-1997. Rev Saúde Pública. 2002; 36:678-85.

French DC, Dishion TJ. Predictors of early initiation of sexual intercourse among high-risk adolescents. J early Adolesc. 2003; 23:295-315.

Hankins C, Tran T, Lapointe N. Sexual behavior and pregnancy outcome in HIV-infected women. Canadian Women's HIV Study Group. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 1998;18:479-87.

Harrington RD, Woodward JA, Hooton TM, Horn JR. Life-threatening interactions between HIV-1 protease inhibitors and the illicit drugs MDMA and gamma-hydroxybutyrate. Arch Intern Med. 1999;159:2221-4.

Jacob M, John TJ, George S, Rao PS, Babu PG. Increasing prevalence of human immunodeficiency virus infection among patients attending a clinic for sexually

transmitted diseases. *Indian J Med Res.* 1995;101:6-9. *Lancet Infect Dis.* 2004;4:368-75.

Kaestle CE, Halpern CT, Miller WC, Ford CA. Young age at first sexual intercourse and sexually transmitted infections in adolescents and young adults. *Am J Epidemiol.* 2005;161:774-80.

Kallings LO. The first postmodern pandemic: 25 years of HIV/AIDS. *J Intern Med.* 2008; 16

Katz LM, Cumming PD, Wallace EL, Abrams PS.. Audiovisual touch-screen computer-assisted self-interviewing for donor health histories: results from two years experience with the system. *Transfusion.* 2005;45:171-80.

Kline A, Strickler J, Kempf J. Factors associated with pregnancy and pregnancy resolution in HIV seropositive women. *Soc Sci Med.* 1995;40:1539-47.

Locateli D, Stoco PH, de Queiroz AT, Alcântara LC, Ferreira LG, Zanetti CR, Rodrigues R, Grisard EC, Pinto AR. Molecular epidemiology of HIV-1 in Santa Catarina State confirms increases of subtype C in Southern Brazil. *J Med Virol.* 2007;79:1455-63.

Matida LH, da Silva MH, Tayra A, Succi RC, Gianna MC, Gonçalves A, de Carvalho HB, Hearst N. Prevention of mother-to-child transmission of HIV in São Paulo State, Brazil: an update. *AIDS.* 2005. Suppl 4:S37-41.

Nunn AS, Fonseca EM, Bastos FI, Gruskin S, Salomon JA. Evolution of antiretroviral drug costs in Brazil in the context of free and universal access to AIDS treatment. *PLoS Med.* 2007;4:e305.

Paiva V, Venturi G, França-Junior I, Lopes F. 2 - Condom use: a national survey MS/IBOPE, Brazil 2003.

Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV Infection. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-infected adults and adolescents. Bethesda, MD: US Department of Health and Human Services; July 14, 2003.

Parker R, Galvão, J. Breaking the Silence: women and AIDS in Brazil. Rio de Janeiro: Relume-Dumará; 1996.

Paul JP, Stall RD, Crosby GM, Barrett DC, Midanik LT. Correlates of sexual risk-taking among gay male substance abusers. *Addiction*. 1994;89:971-83.

Purcell DW, Parsons JT, Halkitis PN, Mizuno Y, Woods WJ. Substance use and sexual transmission risk behavior of HIV-positive men who have sex with men. *J Subst Abuse*. 2001;13:185-200.

Ravikumar B, Sathiyasekaran BW, Sivaprakam P, Shanmugasundaram V, Solomon S, Shirley C. Prevalence of HIV infection Among Antenatal Mothers in Chennai (Madras) India. *J Obstet Gynecol India*. 1999;49:61-3.

Rodrigues R, Scherer LC, Oliveira CM, Franco HM, Sperhacke RD, Ferreira JL, Castro SM, Stella IM, Brigido LF. Low prevalence of primary antiretroviral resistance mutations and predominance of HIV-1 clade C at polymerase gene in newly diagnosed individuals from south Brazil. *Virus Res*. 2006. 116: 201-7.

Santelli JS, Robin L, Brener ND, Lowry R. Timing of alcohol and other drug use and sexual risk behaviors among unmarried adolescents and young adults. *Fam Plann Perspect*. 2001;33:200-5.

Seage GR 3rd, Mayer KH, Wold C, Lenderking WR, Goldstein R, Cai B, Gross M, Heeren T, Hingson R. The social context of drinking, drug use, and unsafe sex in the Boston Young Men Study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998;17:368-75.

Sellors JW, Hayward R, Swanson G, Ali A, Haynes RB, Bourque R, Moore KA, Lohfeld L, Dalby D, Howard M. Comparison of deferral rates using a computerized

versus written blood donor questionnaire: a randomized, cross-over study. *BMC Public Health*. 2002;2:14.

UNAIDS/WHO, Joint United Nations Programme on HIV/AIDS/World Health Organization, AIDS, epidemic update: December 2006, Geneva, 2006.

Van Benthem BH, de Vincenzi I, Delmas MC, Larsen C, van den Hoek A, Prins M. Pregnancies before and after HIV diagnosis in a european cohort of HIV-infected women. *European Study on the Natural History of HIV Infection in Women*. *AIDS*. 2000;14:2171-8.

**ANEXO XI: Submitted: XVII Internacional AIDS Conference.
3-8 August, 2008 Mexico City**

Topic: A10 Molecular epidemiology of HIV diversity. Cross-cutting Theme: 3. Health Systems Strengthening & Integration

Title: Clade C almost exclusive among young pregnant women identified in 2007 in Criciúma, South Brazil.

Author(s): J. Ferreira¹, S. Manenti², R. Rodrigues¹, J. Batista¹, A. Siqueira¹, L. Brigido¹, P.R.T. Romao²

Institute(s): 1 Instituto Adolfo Lutz, Virology Service, São Paulo, Brazil, 2 Universidade do Extremo Sul Catarinense, Laboratório de Imunologia e Mutagênese, Criciúma, Brazil

Text: Background: Subtype C is the most prevalent HIV-1 subtype in the world. In southern Brazil, subtype C has an important prevalence, whereas in most of the country B, F and mosaics BF are found. Criciúma is a small town in the southern Santa Catarina, one of the Brazilian states with higher AIDS prevalence rate (26 cases/100,000 inhabitants). To describe the molecular epidemiological profile of all HIV-1 pregnant women infected in the last two years and an additional set of patients failing ARV followed at the Public Health System of Criciúma. Methods: Plasma viral RNA was extracted and protease and reverse transcriptase genes (codon pol 1-239) was amplified by PCR and sequenced at 3100 sequencer. The additional set was sequenced using Viroseq system. All sequences were alignment with CLUSTALW

and manually edited. HIV subtyping was performed using NCBI, REGA, PAUP and SIMPLOT to evaluate mosaic structures. Results: 39 cases were analyzed (34 women and five children from mothers with low viral load). Median age of 26 yo, mean TCD4+ 486 cel/mm³ and viral load 4.3 log₁₀. Four children and 28 women were subtyped. HIV-1 subtype at pol were C in 87.5%, F in 9.5% and one mosaic CF, 3%. At the additional set of 30 patients failing ARV, clade C was observed in 73%, B in 23% and BC mosaic in 3%. Conclusions: Only in HIV chronic infections we observed HIV Clade B, in the same proportion of others cities of southern of country. The most of HIV infected women pregnant or delivering recently no showed clade B isolates. The preponderance of clade C in this population may represent an increased in vertical transmissibility of clade C giving a special characteristic of HIV dynamic in this region. This is the first molecular data that present this prevalence in Brazil.

Country of research: Brazil

ANEXO XII - Submitted: XVII Internacional AIDS Conference.**3-8 August, 2008 Mexico City**

Topic: C4 Risk factors for acquisition of HIV Cross-cutting Theme: 7. Not Applicable.

Title: Epidemiologic and clinical characteristics of pregnant women living with HIV/AIDS in a region of Southern Brazil where the subtype C of HIV-1 infection predominates

Author(s): S. Manenti¹, J. Junior¹, E. Silveira¹, R. Oenning², S. Abdenur², P. Simões³, J. Moreira¹, L. Brigido⁴, R. Rodrigues⁴, P.R.T.Romao¹

Institute(s): 1 Universidade do Extremo Sul Catarinense, Laboratório de Imunologia e Mutagênese, Criciúma, Brazil; 2 Programa de Atenção Municipal DST-HIV/AIDS, Atendimento Multiprofissional Especializado-AME, Criciúma, Brazil; 3 Universidade do Extremo Sul Catarinense, Laboratório de Informática Médica, Criciúma, Brazil; 4 Instituto Adolfo Lutz, Virology Service, São Paulo, Brazil

Text: Background: Contrary to most of the country, clade C predominates in southern states of Brazil. Vertical transmission is still a problem in many areas of the country, and studies aiming the characterization of these populations may contribute to the control of this important segment of the epidemic. Methods: Out 46 pregnant women with confirmed diagnosis of HIV-1 infection recruited at three vicinity municipalities of southern of Brazil, 36 pregnant women agreed in participate and were enrolled in this study. Epidemiologic, social, behavioral and clinical data were obtained from the

participants through a standardized interview questionnaire and then compiled for statistical analysis.

Results: Data analysis revealed that the great majority was white, married or living with a steady partner and with low formal education level. The number of pregnancies ranged from 1 to 7 with the mean of 2.81 (1.64). Twenty-four (66.7%) women had their HIV-1 diagnosis carried out during the pregnancy and fifteen of this diagnosis occurring in the current pregnancy. The prevalent exposure characteristic cited was heterosexual contact. A high number of lifetime sexual partners were reported presenting at least one of these characteristics: HIV-positive (50%), IDU (22.2%), male inmates (19.4%), with history of STD (11.1%) or MSM (2.8). A significant percentage of the HIV positive patients (41.7%) have related to did not use condoms with their stable partner during the last month, and if we consider the condom use during all lifetime, 91.6% refer to never have used or use them occasionally. Conclusions: Most of these women presented common risk factors associated to HIV infection but a significant proportion had no knowledge of their serostatus prior to the pregnancy, suggesting that increase awareness among young females may have a favorable impact in the control of vertical transmission in the region.

Country of research: Brazil

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)