

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina de Lisboa



**EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DA
INFECÇÃO POR VIH/SIDA, EM ANGOLA**

Sofia Vanda Lôa Clemente
Mestrado em Doenças Infecciosas Emergentes (5ª edição)

2008

A impressão desta dissertação foi aprovada pela Comissão Coordenadora do Conselho Científico da Faculdade de Medicina de Lisboa em reunião de dezoito de Janeiro de 2011.

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina de Lisboa



**EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DA
INFECÇÃO POR VIH/SIDA, EM ANGOLA**

Sofia Vanda Lôa Clemente
Mestrado em Doenças Infecciosas Emergentes (5ª edição)

Orientador: Prof. Doutor Francisco Antunes
Co-Orientadores: Prof^a Doutora Emília Valadas
Prof. Doutor Nuno Taveira

2008

Todas as afirmações efectuadas no presente documento são da exclusiva responsabilidade da sua autora, não cabendo qualquer responsabilidade à Faculdade de Medicina de Lisboa pelos conteúdos nele apresentados.

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus filhos (Clevânio e Geovani) e ao meu marido (João da Silva Clemente).

Agradecimentos

O meu reconhecimento estende-se a todas as pessoas que directamente ou indirectamente contribuíram decisivamente para a concretização deste trabalho. É impossível mencionar todas elas porém, não posso deixar de referenciar, os que mais de perto colaboram:

Ao meu orientador, Professor Doutor Francisco Antunes, expresso a minha profunda gratidão por proporcionar a minha presença neste Mestrado, por ter criado as condições para a minha integração no Serviço de Infecçiology, pelo apoio científico, rigor, disponibilidade no esclarecimento das dúvidas e generosidade, que muito me tem ensinado, os quais foram imprescindíveis na execução deste trabalho.

À Professor Doutora Emília Valadas, como presença permanente neste curso de Mestrado, agradeço-lhe o esforço, sacrifício e dedicação, empregue ao longo do curso, por garantir a maior rentabilização possível na actualização dos nossos conhecimentos e no crescimento profissional e, em particular, por aceitar co-orientar este trabalho e pelas valiosas e oportunas considerações científicas na análise do mesmo.

Ao Professor Doutor Nuno Taveira, por aceitar fazer parte deste trabalho, como co-orientador, expresso a minha imensa gratidão, pela sua imprescindível contribuição, orientação científica e apreços pelos constantes ensinamentos, que tanto contribuíram para o meu aperfeiçoamento profissional e pessoal.

Agradeço à Fundação Glaxo Smithkline das Ciências da Saúde por ter financiado parcialmente este trabalho.

À Direcção do Hospital da Divina Providência (HDP), o meu muito obrigado, pelo apoio, incentivo, colaboração e compreensão por este tempo de ausência.

À equipa técnica do laboratório do HDP, pelo apoio incondicional na obtenção das amostras utilizadas e aos colegas do Serviço de Infeciologia, Internamentos, Serviços Administrativos e Secretaria os meus agradecimentos pelo vosso auxílio.

Ao Laboratório Nacional de Saúde Pública (INSP) de Luanda, Angola, à Dr.^a Filomena da Silva e à Dr.^a Joana António com toda sua equipa de técnicos, agradeço-lhes por terem permitido a conservação das amostras.

Agradeço, também, à Direcção da Unidade de Retrovírus e Infecções Associadas do Centro de Patogénese Molecular, da Faculdade de Farmácia de Lisboa, por ter permitido a realização deste trabalho.

À Mestre Inês Bártolo, que contribuiu com a sua amizade e gentileza para o excelente ambiente de trabalho e que, afincadamente, se empenhou arduamente ao longo de todo o trabalho laboratorial, não tenho palavras para expressar tamanha dedicação e o que aprendi ao seu lado. Expresso também, a minha gratidão à Mestre Cheila Rocha, ao Pedro Borrego e à Andreia Martins que, na ausência da Inês Bártolo, me apoiaram.

Ao Dr. Ricardo Camacho e à sua equipa do Laboratório de Biologia Molecular do Hospital de Egas Moniz, por permitir a quantificação da carga vírica de 86 amostras e a sua análise, agradeço-lhes todo o empenho posto neste trabalho, assim como à Professora Doutora Patrícia Cavaco Silva.

Aos meus pais (João Lôa e Eugênia António), expresso a minha profunda gratidão POR TUDO, sem os quais nada na minha vida seria possível.

Aos meus irmãos, sobrinhos, outros familiares e amigos, pelo incentivo, apoio, pela paciência e por saberem suportar a minha ausência, ao longo desta caminhada.

Muito obrigada.

Agradeço à TODOS com um velho ditado “ Que Deus vos Dê em dobro, tudo aquilo que me deste”!

O meu muito obrigada.

Resumo

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que, no Mundo, em 2008, viviam 33,4 milhões de pessoas infectadas por VIH. A África sub - sariana, continua a ser a região mais afectada pela epidemia, tendo 22,8 milhões de infectados.

O primeiro caso de sida, em Angola, foi diagnosticado em 1985 e até ao primeiro semestre de 2009 foram notificados 48.651 casos de infecção por VIH (64). A prevalência ronda os 5,0 %, em 16 milhões de habitantes, mas nas zonas fronteiriças com a República do Congo (Kinshasa), Zâmbia e Namíbia pode atingir os 10,0 %.

O objectivo do presente trabalho é: a) determinar o perfil epidemiológico, demográfico, clínico e imunológico dos indivíduos em estudo, b) estudar a diversidade genética de VIH em Angola, assim como investigar a frequência e distribuições de polimorfismos na protease (PR) e na transcriptase reversa (TR) associados à resistência aos anti-retrovíricos, nos indivíduos não tratados.

As 219 amostras foram recolhidas dos 302 indivíduos infectados por VIH-1, no Hospital da Divina Providência, em Luanda, de Setembro de 2008 a Janeiro de 2009. Para o presente estudo foram recrutados 57 indivíduos, cujos critérios de inclusão seguiram algumas das recomendações da OMS, para este tipo de trabalho. Cento e cinco sequências foram realizadas, 57 da proteína PR e 48 da TR no gene *pol*, usando um método *in-house*.

O perfil epidemiológico, clínico, demográfico e imunológico da população estudada é caracterizada, maioritariamente por pertencerem ao sexo feminino (67,5%), com média de idades de 31 anos, a via de transmissão predominante foi a heterossexual

(86,8%) e a maior parte estava em estado avançado de doença.

A análise filogenética das sequências revelou uma elevada heterogeneidade genética de VIH-1 em Angola. Foram detectados vírus de todos os subtipos pertencentes ao grupo M e 5,3% a subtipos não classificáveis. A análise filogenética das sequências revelou que, somente, 16 (37%) indivíduos albergavam vírus de um único subtipo (subtipo puro). Os restantes indivíduos (n=30, 65%) estavam, na sua maioria, infectados por vírus recombinantes, incluindo formas recombinantes circulantes (CRFs) e outros recombinantes. Um doente (d94) estava infectado por um isolado não tipável (U). O subtipo mais prevalente na PR foi o G (n=12; 21%) seguido do D (n=7; 13%) e C (n=6; 11%). Na TR os subtipos mais prevalentes foram o A, C e F1 todos presentes em cinco indivíduos (10%). Sequências não tipáveis foram detectadas em seis (11%) indivíduos na PR e quatro (8%) indivíduos na TR. Vinte e quatro indivíduos estavam infectados por vírus contendo PRs e TRs pertencentes a diferentes subtipos, a vírus não tipáveis ou a CRFs. O recombinante deste género mais frequente foi o G/U que estava presente em três indivíduos (13%).

A CRF mais prevalente foi a CRF02_AG tanto na PR (n=5; 9%) como na TR (n=5; 10%), seguida da CRF01_AE (PR - n=4; 7%; TR - n=4; 8%).

Detectaram-se oito (14%) indivíduos, potencialmente, infectados com vírus recombinantes constituídos por CRF01_AE na PR ou na TR.

De salientar que 13 (54%) destes indivíduos albergavam recombinantes de 2ª geração, ou seja, vírus que resultam da recombinação entre um CRF e um vírus de um subtipo puro ou um vírus não tipável (U).

A análise das sequências na base de dados de Stanford para as mutações de

resistência, inequivocamente, associadas com a transmissão de vírus resistentes aos anti-retrovíricos revelou que, não obstante a presença de numerosos polimorfismos invulgares na PR e TR, nenhum dos indivíduos estava infectado por este tipo de vírus.

Palavras-chave: Angola, epidemiologia – molecular, genótipos VIH-1, infecção VIH/sida, mutações de resistência.

ABSTRACT

According to the World Health Organization in 2008 an estimated 33,4 million people were infected with HIV. Sub-Saharan Africa continues to be the region with the most infected by the epidemic with 22, 8 million infected.

The first case of aids in Angola was diagnosed in 1985 and until the first semester of 2009 forty eight thousand six hundred and fifty cases of HIV/aids (64) were notified.

The spread is around 5, 0% in 16 million inhabitants although in the neighboring borders of the Congo Republic (Kinshasa), Zambia and Namibia it can hit 10, 0 %.

The objective of this project is to determine the epidemiological, demographical, clinical and immunological profile of the individuals under case study. Explore the genetic diversity of HIV in Angola as well as investigate the frequency and distribution of polymorphisms in protease PR and in reverse transcriptase TR associated to the resistance to ARV, in non treated individuals.

The 219 samples were collected from HIV 1 infected individuals 302 from the Hospital of Divine Providence in Luanda in September of 2008 to January of 2009, for the present study 57 individuals were included following the WHO recommendations' for this type of study.

The samples of the 57 individuals were genotopically analysed to determine their subtype and the profile potential to the resistance to ARV using the in house method one hundred and five sequences were done (57 protein PR and 48 TR) in the *Pol* gene.

The profile epidemiologist, clinical, demographic and immunologic of the studied population were characterized were mostly by the feminine sex (67.5%), with average of age of 31 years, the way of predominant transmission

was heterosexual (86.8%) and most was in advanced state of immunosuppression.

The phylogenetic sequential analysis revealed highly heterogeneity of HIV-1 Angola. That study revealed all subtypes belonging to group M.

The phylogenetic sequential analyses revealed that only 16 (37 %) patients had the virus of only one subtype pure subtype the remaining patient (30, 65 %) were mostly infected by recombinant virus including circular recombinant forms CRFs. One patients (d94) were infected by classification was not possible sequences (U). The most prevalent subtype in PR was the G (12; 21%) followed by D (7; 13%) and C (6; 11%).The prevalent subtypes were A, C e F1. All present in 5 patients (10%). Unclassified sequences were detected in 6 (11%) patients in PR and 4 (8%) patients in TR. Twenty four patients were infected with the virus containing PRs and TRs belonging to different subtypes, unclassified virus or CRFs.

The CRF most prevalent was CRF02_AG both in PR (5 patients, 9%) and TR (5; 10%) followed by CRF01_AE [PR: 4; 7%; TR: 4; 8%].

In this study we detected 8 (14%), potentially infected patients with recombinant virus made of CRF01_AE in PR or TR.

It is to point out that 13 (54%) these patients lodged/possessed/had recombinant virus of second generation ,that is, that result of recombination between one CRF and a virus a pure subtype or one unclassified virus.

The sequential analyses of the Stanford data base for the resistant mutations unequivocally associates with the transmission of resistant viruses to the ARV revealed that notwithstanding the presence of numerous unusual polymorphisms in PR and TR, none of the patients were infected with this type of virus.

Keywords: Angola, molecular epidemiology, genotypes HIV-1, HIV-1AIDS infection, resistance mutations.

ABREVIATURAS

3TC	lamivudina
ABC	abacavir
ADN	ácido desoxirribonucleico
AgHBs	antígeno de superfície da hepatite B
APV	amprenavir
ARN	ácido ribonucleico
ARNm	ácido ribonucleico mensageiro
ARVs	anti- retrovíricos
ATP	adenosina trifosfato
ATV	atazanavir
ATV/r	atazanavir/ritonavir
AZT	zidovudina
BPN	broncopneumonia
CA	proteína da cápside
CRFs	formas recombinantes em circulação
D4T	estavudina
DDC	zalcitabina
DDI	didanosina
DLV	delavirdina
DRV	darunavir
EFV	efavirenz
ENF	enfuvirtida
ETV	etravirina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>

FTC	emtricitabina
gp	glicoproteína
HAART	<i>highly active antiretroviral therapy</i>
Ht	heterossexual
HTA	hipertensão arterial
IDV	indinavir
IFs	Inibidores da fusão
IINs	inibidores da integrase
IN	integrase
INLCS	Instituto Nacional de Luta Contra Sida
IP/r	inibidores da protease/ritonavir
IPs	inibidores da protease
Kb	kilobases
LAPG	linfadenopatia generalizada
LPV	lopinavir
LPV/r	lopinavir/ritonavir
LTR	<i>long terminal repeats</i> (terminações longas repetidas)
M	grupo <i>major</i>
MA	proteína da matriz
MNCP	má nutrição calórico proteico
N	grupo N (não-M e não-O)
NC	proteína da nucleocápside
NFV	nelfinavir
NITR	nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa
N (t)ITR	nucleosídeos ou nucleotídeos inibidores da transcriptase reversa

NNIRTs	não-nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa
NVP	nevirapina
O	grupo <i>outlier</i>
OMA	otite média aguda
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
ORF	open reading frame
pb	pares de bases
PCR	Polymerase Chain Reaction
PNI	pneumonia inflamatória
PR	protease
PT	transmissão vertical
RAL	raltegravir
RDC	República Democrática do Congo
RT-PCR	PCR iniciado com retrotranscrição
RTV	Ritonavir
sida	síndrome de imunodeficiência adquirida
SU	proteína de superfície
T20	enfuvirtida
T	transfusões
TAMs	thymidine analogue mutations
TARV	terapêutica anti – retrovírica
TB	tuberculose
TDF	tenofovir
TM	proteína transmembranar

TR	transcriptase reversa
U	não classificável
UK-427	maraviroc
V	vertical
VIH-1	vírus da imunodeficiência humana do tipo 1
VIH-2	vírus da imunodeficiência humana do tipo 2
VIS	vírus da imunodeficiência símia

ÍNDICE GERAL

DEDICATÓRIA	i
AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	v
ABSTRACT	viii
ABREVIATURAS	xi
ÍNDICE GERAL	xv
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE QUADROS	xxi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 – Síndrome da imunodeficiência adquirida (sida)	1
1.2 – Vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (VIH-1)	2
1.2.1 – Organização estrutural	2
1.2.2 – Organização genómica	3
1.2.3 – Mecanismos de entrada de VIH-1 nas células humanas	5
1.2.3.1 – Interação de VIH-1 com a superfície celular	5
1.2.3.2 – O ciclo replicativo de VIH	6
1.3 – Variabilidade genética de VIH-1	7
1.3.1 – Distribuição geográfica	8
1.4 – Terapêutica anti-retrovírica (TARV)	9
1.5 – Anti-retrovíricos	13
1.5.1 – Nucleosídeos inibidores da retrotranscriptase (NITRs)	14
1.5.2 – Não-nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa (NNITRs)	14

1.5.3 – Inibidores da Protease (IPs)	15
1.5.4 – Inibidores de entrada (IEs)	15
1.5.5 – Inibidores da integrase (IINs)	16
1.6 – Quando começar a terapêutica anti-retrovírica (TARV) e com que medicamentos	16
1.7 – Resistência aos anti-retrovíricos	18
1.8 – Mecanismos de resistência aos anti-retrovíricos	18
1.8.1– Resistência aos NIRTs	18
1.8.2 – Resistência aos NNIRTs	19
1.8.3 – Mecanismos de resistência aos (IPs)	20
1.9 – Epidemiologia da infecção por VIH/Sida em Angola	20
2. OBJECTIVOS	28
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1– Caracterização dos Serviços da Consulta de Infecçologia do Hospital da Divina Providência (HDP)	29
3.2 – Doentes e métodos	30
3.3 – Amostras incluídas no estudo	31
3.4 – Quantificação da carga vírica plasmática	31
3.5 – Extracção de ARN para genotipagem de resistência	31
3.6 – <i>Primers</i>	32
3.7 – Reacção de polimerização enzimática em cadeia -PCR	33
3.8 – Sequenciação	35

3.9 – Análise filogenética de região da protease	35
3.10 – Análise das mutações de resistência aos anti – retrovíricos	35
3.11 – Análise estatística	36
4. RESULTADOS	37
4.1– Características clínicas e demográficas dos doentes angolanos	37
4.1.1– Naturalidade e distribuição por sexo	37
4.1.2 – Distribuição etária	38
4.1.3 – Distribuição dos doentes, de acordo a via de transmissão	39
4.1.4– Estádio da doença	40
4.2– Grupos nosológicos	41
4.3 – Estádio da doença, carga vírica e diversidade genética dos isolados víricos em circulação em Angola	43
5. DISCUSSÃO	52
ANEXOS	57
Quadros de mutações de resistências aos anti-retrovíricos	57
2– Mutações de resistências aos NIRTs	57
3 – Mutações de resistências aos NNIRTs	59
4– Mutações de resistências aos IPs	61
5 – Mutações de resistência aos anti-retrovíricos transmitidos	63
2– Aprovação do projecto pelo Hospital da Divina Providencia e da Comissão de Ética de Angola	64
3– Cronograma de actividades	66

4– Informação para o doente e consentimento informado	67
5 – Inquérito epidemiológico e clínico	70
6 – Caracterização epidemiológica e clínica dos doentes angolanos incluídos neste estudo (quadro -6)	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura da partícula vírica	3
Figura 2 – Organização genómica de VIH-1	3
Figura 3 – Entrada de VIH nas células	6
Figura 4 – Ciclo de vida da replicação de VIH-1	7
Figura 5 –. Distribuição geográfica das formas genéticas de VIH-1 no Mundo, em geral (A), e em África, em particular (B)	10
Figura 6 – Mapa de Angola	21
Figura 7 – Proporção de testes positivos de VIH por províncias, 1º semestre 2009	23
Figura 8 – Número acumulado de doentes (crianças e adultos) acompanhados e em TARV por ano, 2004 até o 1º semestre 2009	23
Figura 9 – Distribuição, por sexo, dos indivíduos incluídos no estudo	38
Figura 10 – Distribuição dos indivíduos estudados, por grupo etário e sexo.	39
Figura 11 – Distribuição dos indivíduos incluídos no estudo, de acordo a provável via de transmissão	40

Figura 12 – Correlação entre a carga vírica e o número de linfócitos TCD4 ⁺ em 73 indivíduos.	45
Figura 13- Análise filogenética de sequências da PR (A) e da TR (B) dos isolados de VIH-1 em circulação em Luanda em 2008-2009.	47

ÍNDICE DE QUADROS

1. Constituição e origem das 10 principais CRFs de VIH-1	8
2. Mutações de resistências aos NIRTs	57
3. Mutações de resistências aos NNIRTs	59
4. Mutações de resistências aos IPs	61
5. Mutações de resistência aos anti-retrovíricos transmitidos	63
6. Caracterização epidemiológica, clínica dos doentes angolanos incluídos neste estudo	77
7. <i>Primers</i> utilizados na amplificação por PCR nested e sequenciação do gene <i>pol</i> , PR e RT de VIH-1	32
8. Misturas de reacção e ciclos de amplificação dos PCRs efectuados neste trabalho	34
9. Patologias diagnosticadas nos indivíduos incluídos no estudo sida. A) Patologias associadas à Sida e B) Outras comorbilidades	41
10. Características demográficas, imunológicas e víricas dos infectados por VIH-1 no HDP (Setembro de 2008 a Janeiro de 2009)	44
11. Comparação das características demográficas, imunológicas e virológicas entre a amostra global e os doentes efectivamente genotipados	46
12. Forma genética de isolados víricos analisados neste estudo nas regiões codificando para PR e da TR (gene <i>pol</i>)	50

1–INTRODUÇÃO

1.1–Síndrome de imunodeficiência adquirida (sida)

A síndrome de imunodeficiência adquirida (sida) representa, hoje, um dos principais problemas de Saúde Pública no Mundo inteiro (1-3). Os agentes responsáveis pela sida são os vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (VIH-1) e do tipo 2 (VIH-2), que se distinguem pelas suas propriedades antigénicas, moleculares e biológicas. A sida é uma doença letal, que provoca imunodeficiência, aumentando, assim, a susceptibilidade a outras infecções e a algumas neoplasias (4). Enquanto VIH-1 é responsável por uma pandemia, a nível mundial, a infecção por VIH-2 tem características epidemiológicas diferentes, estando localizada, sobretudo, a países da África Ocidental e por um número reduzido de casos na Europa e noutros continentes. Esta última, tem melhor prognóstico e a progressão para a doença é mais lenta.

A sida foi, pela primeira vez, reconhecida nos Estados Unidos da América, em 1981, mas, há referências a casos datados de 1978, em Nova Iorque e no Haiti (5). VIH-1 foi isolado, pela primeira vez, em 1983, de um doente com linfo-adenopatias e, em 1984, demonstrou-se, claramente, ser o agente etiológico da sida (6).

De acordo com os dados da ONUSIDA de 2008, o número total de infectados é de 33,4 milhões, o que corresponde a mais de 2,7 milhões novos casos e a dois milhões de mortes. A África sub - sariana continua a ser a região mais afectada, estimando-se que dos dois milhões de mortes, 70% tenham ocorrido nesta região. Calcula-se que o número de infectados por VIH, em África, seja de 22,4 milhões, com 1,9 milhões de novos casos, em 2008. Do total das crianças infectadas (2,1

milhões), aproximadamente, 90% foram referenciadas na África sub - sariana. Nesta região, 61% do total de infectados por VIH são mulheres (7). Prevê-se, ainda, que nos países em vias de desenvolvimento, 45 milhões de pessoas se infectem até 2010 a não ser que se consigam montar estratégias bem sucedidas de prevenção e de tratamento (8-11).

1.2 – Vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (VIH-1)

1.2.1—Organização estrutural

VIH-1 pertence à família *Retroviridae* e ao género dos *Lentivirus*. Observado ao microscópio electrónico, apresenta-se como uma estrutura esférica com, aproximadamente, 80-110 nm de diâmetro, com um invólucro lipídico-proteico, que possui duas glicoproteínas, sendo uma transmembranária (gp41) e a outra de superfície (gp120) (figura 1)(12). Sob a camada lipídica existe uma matriz proteica (p17), a nucleocápside viral, composta pela proteína p24, o material genético (genoma), formado por duas moléculas idênticas de ARN, as enzimas transcriptase reversa (TR), integrase (IN), protease (PR) e as proteínas da nucleocápside. As proteínas gp41 e gp120 são codificadas pelo gene *env*. A gp120 contém os locais de ligação aos receptores e correceptores celulares e a maioria dos domínios de neutralização, enquanto a gp41 tem um papel importante na fusão do vírus à membrana da célula hospedeira.

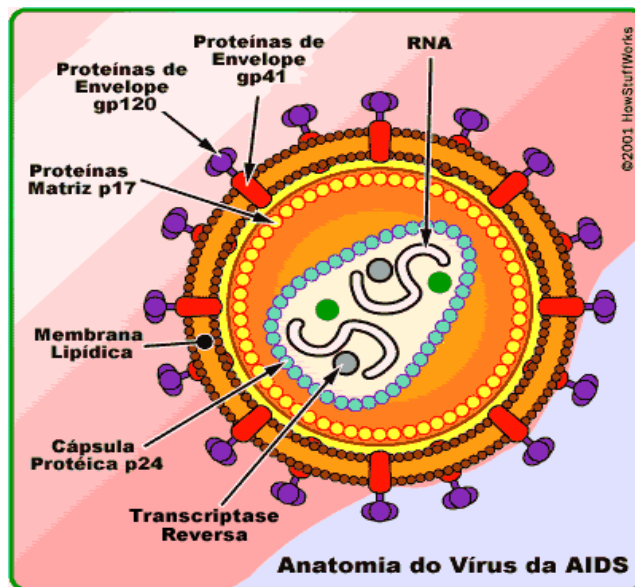


Figura 1 – Estrutura de VIH(adaptado da referência13).

1.2.2–Organização genômica

O genoma de VIH-1 é constituído por duas moléculas de ácido ribonucleico (ARN), cada uma com cerca de 9,8 Kb e contém três genes estruturais *gag*, *pol* e *env* e seis genes acessórios, *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* e *vpx* (VIH-2) ou *vpu*(VIH-1)(figura 2)(12). Nas extremidades 5' e 3' do ácido desoxirribonucleico (ADN) provírico localizam-se as sequências repetitivas terminais longas (*long terminal*LTR), que controlam a transcrição do genoma vírico, regulando a produção de viriões.

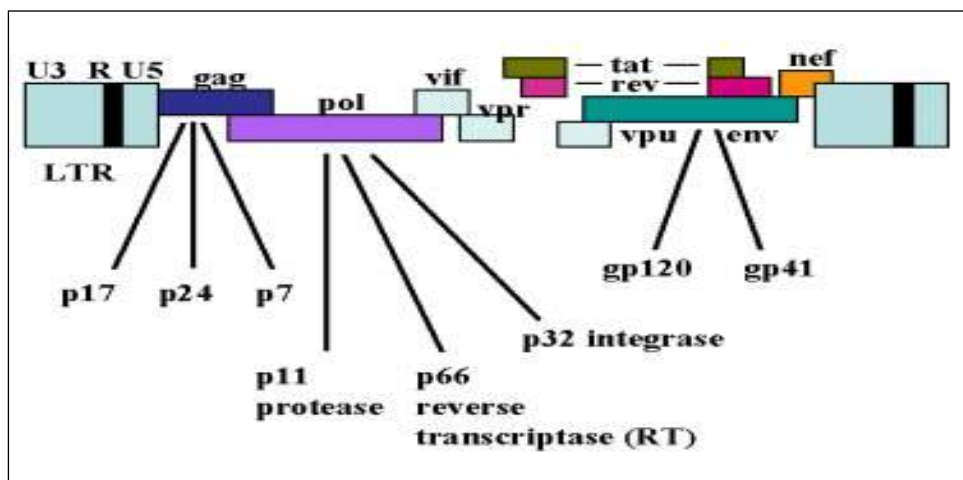


Figura 2 – Organização genômica de VIH-1(adaptado da referência14).

Os genes *gag*, *pol* e *env* codificam para as poliproteínas *gag-pol* e *env* que são, posteriormente, processados por proteólise em proteínas individuais (figura 2). O gene *gag* codifica para a proteína da cápside (p24), para as proteínas básicas associadas ao genoma (p9 e p6) e para a proteína da matriz (p17). O gene *pol* codifica três proteínas, isto é, TR (p53), PR (p11) e IN (p34), que são clivadas a partir da proteína precursora *gag-pol* pela PR. O gene *env* codifica para um polipéptido, precursor das glicoproteínas do invólucro, a gp160, a qual dá lugar à glicoproteína externa gp120 e à glicoproteína transmembranária gp41, essenciais para os mecanismos de reconhecimento e entrada na célula hospedeira de partículas virais (4, 12).

O gene *tat* codifica para uma proteína reguladora, com acção na activação da transcrição do ADN provírico de VIH. A proteína *tat* aumenta os níveis de expressão das proteínas víricas e liga-se a várias proteínas celulares, incluindo vários factores envolvidos na transcrição. No entanto, o seu mecanismo de acção permanece controverso, parecendo promover a fase de alongação da transcrição de VIH e estar envolvida na fosforilação do domínio carboxílico terminal do ARN polimerase II. O gene *rev* codifica para uma proteína de 19 Kd, responsável pela regulação do processamento do ARNm vírico. Actua pós-transcricionalmente, exportando e regulando o transporte dos transcritos de VIH, do núcleo para o citoplasma (12). O gene *nef* aumenta a replicação e a infecciosidade vírica (15). Em VIH-1, este gene tem um importante papel na evasão ao seu reconhecimento pelas células T. O gene *vif* aumenta a infecciosidade vírica e é importante para a transmissão célula a célula (sem formação de partículas víricas). Também, é fundamental para a replicação em linfócitos TCD4⁺ e monócitos/macrófagos, sendo tal essencial durante a infecção *in*

vivo(12). O gene *vpu* codifica para uma proteína transmembranar, presente, apenas, em VIH-1 e promove a libertação dos viriões, encontrando-se envolvida na degradação do receptor CD4, facilitando, assim, o transporte para a superfície celular da glicoproteína *env*. Nas extremidades do genoma vírico existem as LTR que desempenham um papel fundamental, não só no mecanismo de integração do vírus no ADN da célula humana, como, também, na regulação da expressão do provírus(12).

1.2.3 –Mecanismos de entrada de VIH-1 nas células humanas

1.2.3.1 –Interacção de VIH-1 com a superfície celular

O processo de entrada de VIH inicia-se pela interacção de alta afinidade da glicoproteína gp120 do vírus com a superfície do receptor CD4, presente na membrana citoplasmática dos linfócitos TCD4⁺ e nos monócitos/macrófagos. Contudo, existem outras moléculas, na superfície da célula, essenciais para a ligação de VIH-1 à membrana celular e entrada nas células. Estas moléculas são receptores das quimiocinas, que actuam como co-receptores de VIH-1 e são designados de CCR5 e CXCR4 (12). Esta interacção entre a proteína externa do invólucro vírico e a molécula CD4 resulta não só na fixação da partícula vírica à célula, como possibilita a indução de alterações conformacionais na gp120 e na gp41, levando à exposição do péptido de fusão (região localizada na extremidade N-terminal da proteína TM), que vai mediar o processo de fusão do invólucro vírico com a membrana da célula, permitindo, assim, a entrada do vírus na célula (figura 3).

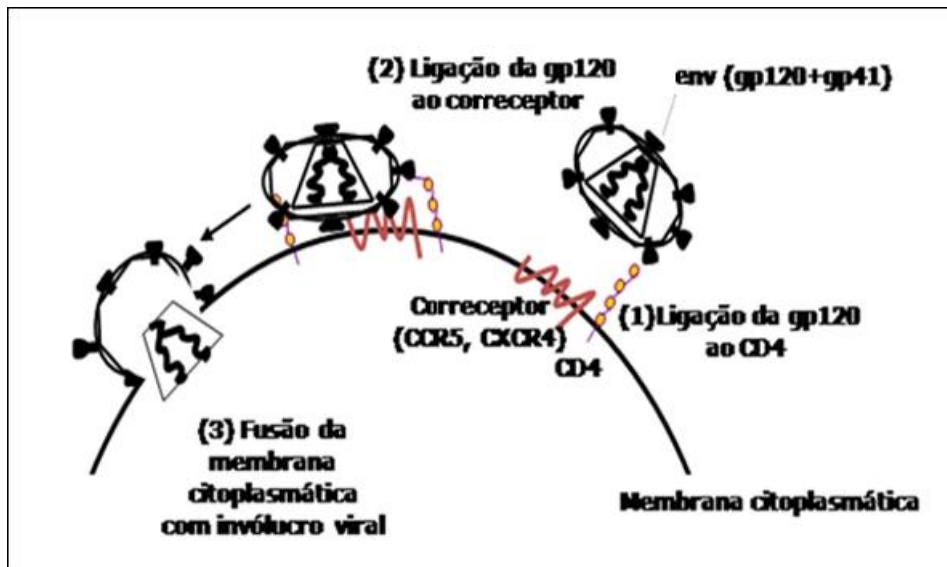


Figura 3 – Entrada de VIH nas células (imagem cedida por NunoTaveira).

1.2.3.2 – O ciclo replicativo de VIH

A fusão leva à injeção da cápside de VIH na célula e posterior libertação do seu material genético e das enzimas necessárias para a replicação. Ocorre, então, a transcrição reversa do ARN genómico vírico, isto é, a formação do ADN provírico a partir do ARN, pela acção da enzima TR de VIH. O ADN, em dupla cadeia, é transportado para o interior do núcleo celular, onde sofre clivagens específicas e é integrado no ADN da célula do hospedeiro pela acção da enzima IN (12). A activação da célula hospedeira resulta na transcrição de ADN em ARNm, que é traduzido em proteínas víricas imaturas (poliproteínas). O ARN genómico e as proteínas víricas imaturas agrupam-se na superfície celular formando um novo vírus que, finalmente, é libertado (figura 4). A acção da enzima PR é necessária nesta

fase para clivar as poliproteínas nas proteínas individuais maduras do *gag* e do *pol*. Só após esta acção da PR é que as partículas víricas ficam com capacidade infecciosa, isto é, ficam capazes de infectar de forma produtiva novas células.

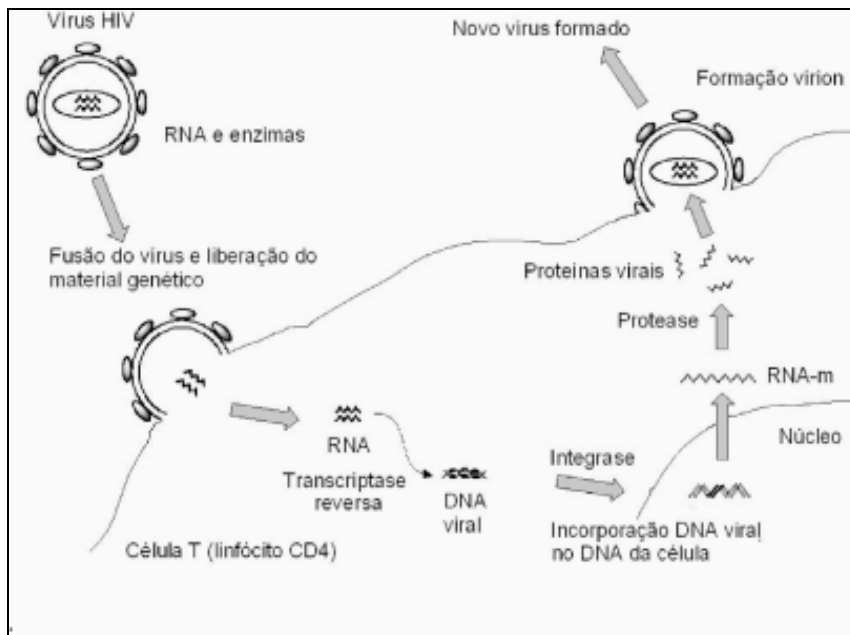


Figura 4 - Ciclo de vida da replicação de VIH -1 (adaptado de <http://www.sciolo.br/img/revistas/qn/v31n8/35fr.gif>).

1.3 – Variabilidade genética de VIH-1

VIH apresenta uma alta variabilidade genética, decorrente de diversos factores, que actuam em sinergismo e que permitem rápida evolução vírica. Entre estes factores incluem-se a alta taxa de erro da TR, na incorporação dos nucleotídeos, durante a transcrição reversa, elevadas taxas de replicação vírica no hospedeiro, elevada frequência de recombinação e enorme população de indivíduos infectados (16). Estes mecanismos impõem ao vírus uma característica de diversidade, que se

reflecte pela presença, no mesmo hospedeiro, de diversas variantes, a sua maioria constituídas por genomas relacionados, formando uma *quasi especie*.

Estudos filogenéticos, em amostras de vírus de diferentes regiões geográficas, levaram à classificação de VIH-1 em três grandes grupos, isto é, M (*major*), O (*outlier*) e N. O grupo M é o responsável pela pandemia de VIH, sendo classificado em nove subtipos (A,B,C,D,F,G,H,J e K)(16, 17). Os subtipos A e F subdividem-se, ainda, em A1 a A3 e F1e F3. No grupo M foram descritas mais de quarenta CRFs, constituídas pelos diferentes subtipos (quadro 1) (18). Mais recentemente, foi identificado um quarto grupo de VIH-1, o grupo P (19). Ao contrário dos outros, este grupo contém vírus mais aparentados com VIS do gorila do que com VIS do chimpanzé.

Quadro 1 – Constituição e origem das 10 principaisCRFs de VIH-1

Nome	Subtipos	País de origem
CRF01_ AE	A, E	Tailândia
CRF02_ AG	A, G	Nigéria
CRF03_ AB	A, B	Rússia
CRF04_ cpx	A, G, H, K	Chipre, Grécia
CRF05_ DF	D, F	República Democrática do Congo
CRF06_ cpx	A, G, J, K	Burkina Faso
CRF07_ BC	B, C	China
CRF08_ BC	B, C	China
CRF09_ cpx	A, F, G	Senegal
CRF10_ CD	C, D	Tanzânia

1.3.1–Distribuição geográfica

Os subtipos de VIH-1predominantes, à escala global, são o C (responsável por mais de 50% das infecções), o A (sobretudo sub-subtipo A1), o B eo CRF02 _AG (figura 5A) (20, 21). A distribuição mundial dos subtipos é bastante diversificada, verificando-se, em cada país, a predominância de uma ou mais formas genéticas, o

que pode indiciar o papel que essas estirpes tiveram na introdução da infecção VIH num determinado país ou região (17, 21). Os resultados de múltiplos estudos epidemiológicos de base molecular, efectuados em África, indicam a presença de todos os grupos e subtipos de VIH-1 (figura 5B). A diversidade de grupos, subtipos e formas recombinantes é maior na África Central, o local de origem de VIH-1. Contudo, o subtipo C é, de longe, o mais prevalente em África, predominante nos dois países africanos com maior número de infectados por VIH-1, a África do Sul (22) e Moçambique (23). Nos países da África Central existem todos os subtipos e formas recombinantes, excepto, em geral, o subtipo B (17, 24-28). A elevada heterogeneidade das estirpes africanas de VIH-1 reflecte a maior duração da epidemia, em comparação com outras regiões do globo (24).

1.4 –Terapêutica anti-retrovírica (TARV)

Os objectivos da TARV são a supressão da replicação vírica e a restauração e/ou a preservação da função imunológica. A conjugação destes dois factores tem, como consequência, a melhoria do prognóstico da infecção VIH, a redução do número de infecções oportunistas, a melhoria da qualidade de vida do indivíduo infectado e a redução da morbilidade e da mortalidade relacionadas com a infecção por VIH (29).

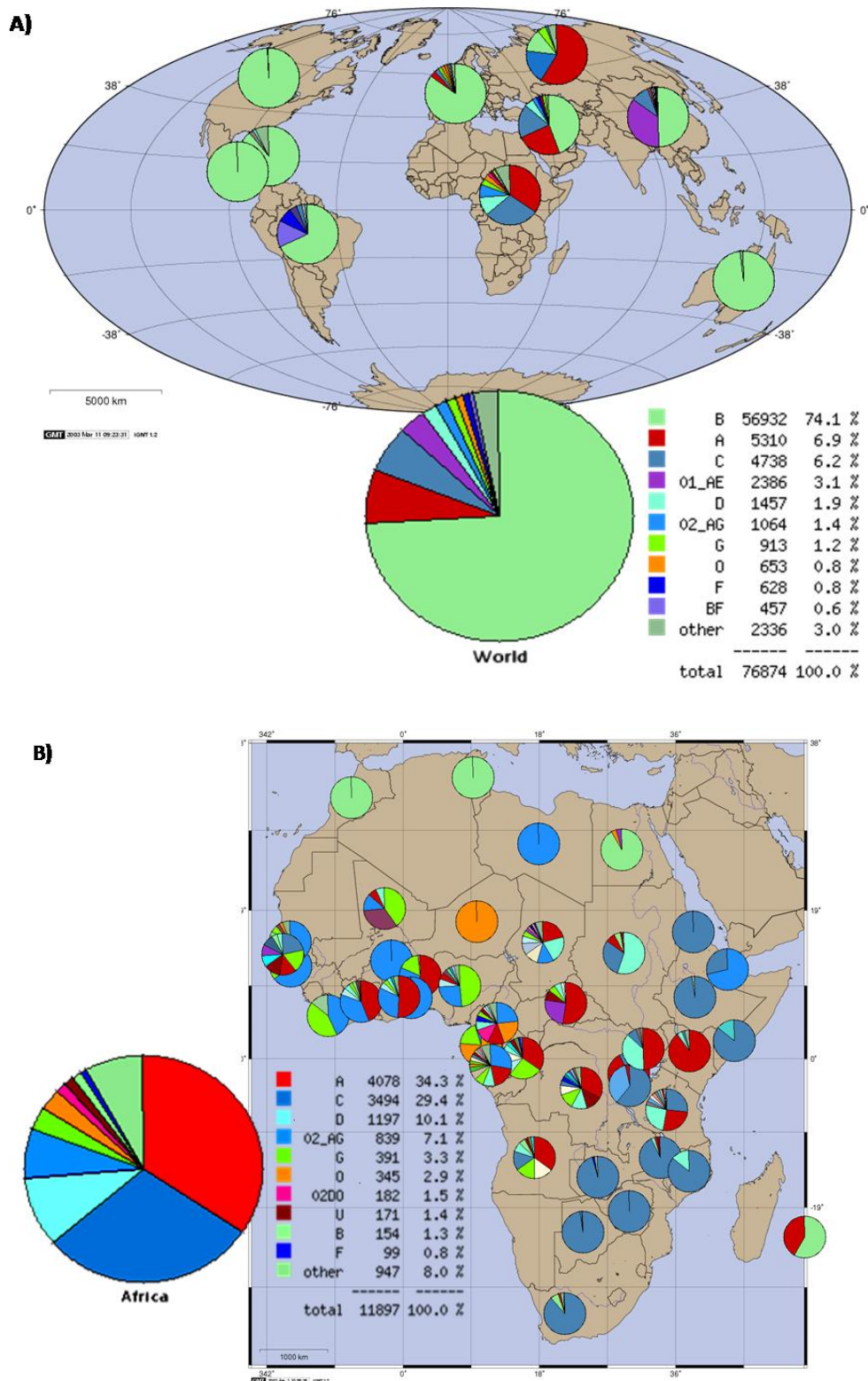


Figura 5 – Distribuição geográfica das formas genéticas de VIH-1 no Mundo, em geral (A), e em África, em particular (B) (adaptado da referência 30).

Dos 33,4 milhões de pessoas infectadas por VIH, no Mundo, 6,8 milhões vivem em países de baixo ou de médio rendimento e necessitam de tratamento anti-retrovírico imediato. Sessenta e três por cento das pessoas que, actualmente, beneficiam de TARV, nos países de baixo e médio rendimento, hoje em dia, são africanos, em comparação com 25%, em finais de 2003(31). Ainda que a África sub-sariana tenha o maior número de indivíduos sob TARV, e esteja em segundo lugar no que diz respeito à cobertura terapêutica, a região representa, ainda, 70% das necessidades mundiais de tratamento não satisfeitas(32).

Uma em cada sete vítimas mortais da doença, associadas à infecção por VIH, no Mundo, é criança com menos de 15 anos, facto que se deve ao fracasso da expansão dos programas de prevenção da transmissão mãe-filho de VIH e de prevenção da infecção por VIH em mulheres jovens (32). Apesar dos sucessos registados em países como o Brasil, Tailândia e Botsuana, apenas 6% das grávidas infectadas por VIH, no Mundo, beneficiam, actualmente, de profilaxia anti-retrovírica capaz de prevenir a transmissão mãe-filho de VIH. Pelo contrário, os casos pediátricos de infecção por VIH foram, praticamente, eliminados nos países industrializados. A taxa de mortalidade dos infectados por VIH nos países pobres, após um ano de tratamento é três vezes e meia superior em comparação com os europeus e norte-americanos.

A terapêutica anti-retrovírica altamente eficaz (ou HAART, do inglês, *highly active antiretroviral treatment*), utilizada desde 1996, nos países desenvolvidos, permite, em geral, supressão da replicação de VIH e aumento do número de linfócitos TCD4⁺(29, 33). Contudo, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que,

apenas, 31% dos infectados (nove milhões) com necessidade de TARV está sob tratamento (34). Esforços internacionais crescentes têm sido desenvolvidos para melhorar o acesso à TARV em países com recursos limitados. Assim, a OMS publicou recomendações para uma intervenção em termos de saúde pública para expansão da TARV (29, 34, 35). O custo dos medicamentos, uma das maiores barreiras para o acesso à TARV, nos países em desenvolvimento, tem vindo, rapidamente, a diminuir. A alteração da lei das patentes continua em discussão, de forma a que os países de menores recursos possam importar versões mais baratas dos genéricos dos anti-retrovíricos. Estudos piloto estão a ser desenvolvidos para assegurar a administração apropriada e segura dos medicamentos e a sua distribuição a nível periférico (34). Estas medidas possibilitaram que três milhões de infectados por VIH, em países em vias de desenvolvimento, estivessem em TARV, em finais de 2007 (32).

Os receios iniciais de que houvesse um rápido crescimento e transmissão de vírus resistentes aos anti-retrovíricos não se confirmaram até à data (36, 37). De facto, os programas de TARV, em países com poucos recursos, têm dado resultados iguais ou melhores aos obtidos em países desenvolvidos (38-41). Um aspecto que muito contribui para este resultado é a elevada taxa de adesão à terapêutica que se verifica nestes países (42). Outro aspecto importante é o facto da maior parte dos doentes nestes países terem iniciado TARV com regimes altamente potentes o que atrasa, significativamente, o desenvolvimento e posterior transmissão de vírus resistentes (35).

Não há dúvida, no entanto, de que será um grande desafio, para muitos países em

desenvolvimento, manterem os bons resultados iniciais. De facto, independentemente da potência do regime terapêutico, existe sempre o risco de emergência de estirpes resistentes. Na impossibilidade da quantificação de carga vírica, utilizada, por rotina, nos países desenvolvidos, é provável que os doentes sejam mantidos, durante muito tempo, com regimes inadequados, o que facilita a selecção de vírus resistentes (29, 43, 44).

1.5 –Anti-retrovíricos

Actualmente, para o tratamento da infecção por VIH, estão disponíveis as seguintes classes de medicamentos, que actuam em diferentes fases do ciclo de vida do vírus:

1. Nucleosídeos ou nucleotídeos inibidores da transcriptase reversa (TR) [N(t)ITRs].
2. Não-nucleosídeos inibidores da TR (NNITRs).
3. Inibidores da protease (IPs).
4. Inibidores da integrase (INs).
5. Inibidores de entrada (IFs).

1.5.1 –Nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa (NITRs)

O alvo destes fármacos é a TR. Estão aqui incluídos: zidovudina (AZT), didanosina (ddI), estavudina (d4T), lamivudina (3TC), abacavir (ABC) e emtricitabina (FTC). Todos os NITRs são inactivos na sua forma nativa(45). Os derivados trifosfatados competem com os seus análogos naturais, os desoxirribonucleósidos trifosfato, pela incorporação na cadeia do ADN provírico. Ao contrário dos seus análogos naturais, os NITRs não têm o grupo hidroxil (OH) livre no carbono C3 da ribose. Assim, os NITRs actuam, primordialmente, como indutores da terminação da síntese do ADN, bloqueando o alongamento da cadeia dos nucleótidos. Estes anti-retrovíricos podem, ainda, actuar ligando-se, competitivamente, ao sítio activo da TR.

1.5.2 – Não-nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa (NNITRs)

Os NNITRs incorporam-se directamente, de forma não competitiva, à TR numa zona próxima (bolso hidrofóbico) à do local de ligação dos nucleosídeos(46). Os NNITRs não necessitam de activação para inibirem a actividade da TR. O complexo resultante bloqueia o local de ligação dos nucleosídeos à TR o que causa atraso significativo na polimerização. Os NNITRs são inactivos contra VIH-2 (47). Três destes compostos, nevirapina (NVP), efavirenz (EFV) e etravirina (ETV) foram aprovados para o tratamento da infecção por VIH-1 (46). Os NNITRs têm baixa barreira genética, o que significa que uma simples mutação pode provocar resistência do vírus a estes fármacos. Esta resistência é cruzada dentro da classe, excepção para a ETV.

1.5.3 – Inibidores da protease (IPs)

Os IPs exercem o seu efeito antivírico ao ligaram-se, por competição, no sítio catalítico da PR, impedindo a sua actividade proteolítica. Nesta classe estão disponíveis vários fármacos, isto é, saquinavir (SQV), indinavir (IDV), ritonavir (RTV), nelfinavir (NFV), amprenavir (APV), atazanavir (ATV), lopinavir (LPV) e darunavir (DRV) (48). Os IPs têm elevada barreira genética porque são necessárias várias mutações para que ocorra resistência, podendo ser cruzada com os outros elementos desta classe.

1.5.4 – Inibidores de entrada (IEs)

Os IEs são de dois tipos, consoante o seu mecanismo de acção, isto é, inibidores do co-receptor CCR5 e os inibidores da fusão (IF) (49). Enfuvirtida (T20) é o único IF disponível; é um polipéptido constituído por 36 aminoácidos que interage, de forma específica, com a gp41 (50). A ligação de T20 impede a associação da HD-1 com a HD-2, a segunda α -hélice da gp41, o que impede que a gp41 assuma a sua conformação de fusão. Como consequência, não se dá a fusão do vírus com a célula hospedeira. Maraviroc (UK-427) é o único antagonista de CCR5 disponível (51, 52). Este fármaco, licenciado em 2007, pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso em combinação com outros anti-retrovíricos, liga-se a CCR5 e impede a ligação de VIH-1 ao seu co-receptor. UK-427 só é eficaz em doentes que albergam populações víricas, exclusivamente, com tropismo R5 (51, 52).

1.5.5 – Inibidores da integrase (IINs)

Raltegravir (RAL) é o único dos IINs licenciado, até ao momento, para o tratamento da infecção por VIH(53). O seu alvo terapêutico é a enzima IN. RAL é activo contra vírus multi-resistentes aos elementos das outras classes terapêuticas (54).

1.6 – Quando começar a terapêutica anti-retrovírica (TARV) e com que medicamentos

De acordo com as recentes recomendações da OMS (29), a TARV deve ser iniciada em todos os doentes que tenham contagem de linfócitos TCD4⁺ inferior a 350/mm³, seja qual for o estado clínico e em doentes que estejam no estágio clínico 3 ou 4 da OMS, seja qual for o número de linfócitos TCD4⁺.

A TARV, em doentes sem terapêutica prévia, deve ser iniciada com um dos seguintes regimes:

AZT + 3TC + NVP;

AZT + 3TC + EFV;

TDF + 3TC (ou FTC) + NVP;

ou TDF + 3TC (ou FTC) + EFV(29).

Nos doentes com tuberculose, a TAR deve ser iniciada, independentemente do número de linfócitos TCD4⁺. A terapêutica da tuberculose deve anteceder a TARV e esta deve iniciar-se, logo que possível, após o início da terapêutica antituberculosa. Nestes casos, o NNITR de eleição deverá ser o EFV.

Em caso de co-infecção por vírus da hepatite B, os doentes deverão ser tratados, independentemente do número de linfócitos TCD4⁺ ou estado clínico. O regime anti-retrovírico inicial deve incluir TDF e 3TC (ou FTC) (29).

Quando possível, a eficácia da TARV deve ser monitorizada, de seis em seis meses, avaliando a carga vírica e deve alterar-se, quando há falência vírica, confirmada pelo aumento da viremia acima das 5.000 cópias de VIH/ml de plasma. A contagem de linfócitos TCD4⁺ deve ser utilizada para monitorizar a resposta à terapêutica, quando não se dispõe de carga vírica.

A segunda linha terapêutica deve ser constituída por dois NITRs e um IP potenciado (IP/r) que deve ser ATV/r ou LPV/r (29). Recomenda-se a simplificação das opções escolhidas no que diz respeito a NITRs. Assim, se d4T, ou AZT, foram usados em primeira linha, deve usar-se TDF + 3TC (ou FTC) em segunda linha. Se TDF for usado, em primeira linha, deve mudar-se para a combinação AZT+ 3TC, em segunda linha.

Quanto à terceira linha, a OMS recomenda que se escolham os regimes, tendo em conta, também, o financiamento, a sustentabilidade e o acesso equitativo à terapêutica (29). Os regimes de terceira linha devem, obviamente, incluir fármacos que têm actividade contra vírus resistentes. Fármacos de terceira linha são os IINs,

NNITRs e IPs de segunda geração. Recomenda-se, ainda, que os doentes permaneçam no mesmo regime de segunda linha, mesmo em situação de falência, quando não há acesso a outras opções terapêuticas.

1.7–Resistência aos anti-retrovíricos

A impossibilidade de suprimir, por completo, a replicação vírica, predispõe para a selecção de variantes resistentes. Entre os factores que contribuem para a selecção de variantes resistentes incluem-se todos aqueles que condicionam níveis subterapêuticos, tais como a má adesão à terapêutica (com tomas irregulares ou auto-suspensões), toxicidade dos medicamentos, que obrigue à sua interrupção (55-57), limitada potência do regime terapêutico escolhido, má absorção intestinal e interacções medicamentosas, com redução dos níveis plasmáticos e/ou intracelulares dos ARVs, eliminação demasiado rápida, metabolização alterada (por potenciação ou inibição do mecanismo do citocromo P450 ou défice de fosforilação intracelular) ou, ainda, mecanismos da membrana que mobilizam os fármacos de dentro para fora da célula (58).

1.8 – Mecanismos de resistência aos anti-retrovíricos

1.8.1 –Resistência aos NITRs

A resistência aos NITRs pode desenvolver-se através de dois mecanismos diferentes: a) por diminuição da ligação do fármaco à TR b) por pirofosforólise (59).

A diminuição da ligação do fármaco à TR é o mecanismo mais frequente de resistência e resulta de mutações nos locais de ligação dos fármacos à TR. A enzima mutada tem maior capacidade para discriminar e seleccionar o substrato fisiológico em vez do inibidor. Dois conjuntos de mutações conferem resistência a quase todos os fármacos da classe dos NITRs, isto é, a mutação no codão 151 (Q151M) e a inserção de dois aminoácidos na região do codão 69. Outras mutações conferem resistência, apenas, a alguns fármacos desta classe. No quadro 2 do anexo 1 estão descritas as mutações que conferem resistência aos NITRs.

1.8.2 – Resistência aos NNITRs

A enzima TR de VIH-1 possui duas subunidades, a p66 e a p51, e ambas têm quatro domínios denominados "dedos", "palma", "polegar" e "conexão". Os NNITRs ligam-se próximo ao sítio activo da TR, numa bolsa hidrofóbica, criada por descolamento do segmento polipeptídico que liga a "palma" ao "polegar". As mutações que conferem resistência a esta classe de fármacos podem causar: a) Perda de contactos importantes entre a proteína e o inibidor; b) redução do tamanho da bolsa de ligação ou a sua deformação; c) interferência na entrada do inibidor na bolsa de ligação (59). As mutações que conferem resistência aos fármacos desta classe ocorrem em dois conjuntos, entre os codões 100-108 e 179-190 (quadro 3, Anexo 1). A ocorrência de resistência, como resultado da monoterapia, com qualquer destes fármacos, ocorre muito rapidamente, bastando uma única mutação, geralmente, K103N ou Y181C. A mutação no codão K103N é importante, porque confere resistência primária a todos os NNITRs. Em virtude de todos os NNITRs apresentarem, praticamente, o mesmo modo de ligação à RT, mutações que levam à

resistência a fármacos desta classe, como a substituição da Y181C ou K103N, inviabilizam a terapêutica com outros elementos desta mesma classe, com excepção da ETV, devido à resistência cruzada.

1.8.3 – Mecanismos de resistência aos IPs

As mutações que conferem resistência aos IPs podem ser classificadas como *major*, ou primárias e *minor*, ou secundárias (59). As mutações *major* são as primeiras a ser seleccionadas na presença do fármaco e conferem alterações fenotípicas que impedem a acção do anti-retrovírico. Estas mutações alteram a ligação do fármaco à protease, resultando no aumento constante da quantidade de fármaco necessário para inibir a enzima. Incluem-se, aqui, as mutações nas posições 30, 48, 50, 82, 84 e 90 (quadro 3, Anexo 1). As mutações *minor* emergem depois das primárias e, por si só, não causam alterações significativas no fenótipo vírico. Contudo, em conjunto com as mutações primárias, podem potenciar a capacidade de replicação (*fitness*) do vírus. Algumas mutações *minor* podem existir como polimorfismos naturais de alguns subtipos e, eventualmente, contribuir para baixar a barreira genética aos IPs e determinar novas vias de resistência (60).

1. 9– Epidemiologia da infecção por VIH/sida em Angola

Angola fica situado na costa ocidental da África Austral. A Oeste é banhada pelo Oceano Atlântico, a Norte tem fronteira com a República do Congo Democrático

(Brazaville) e República do Congo (Kinshasa), a Este faz fronteira com a República da Zâmbia e a Sul com a República da Namíbia (quadro 6). Tem uma superfície de 1.246.700 km², está dividida em 18 províncias e Luanda é a sua capital.



Figura 6 - Mapa de Angola (adaptado de

<http://www.quealviajar.com/images/mapa-angola.jpg>)

Em grande medida, a infecção por VIH foi ignorada enquanto o País manteve um conflito militar, que deslocou, aproximadamente, um terço da sua população.

Angola tem reunido quase todos os factores de risco associados ao rápido crescimento da seroprevalência da infecção por VIH, tais como: a) Deficiente cobertura dos serviços de saúde e insuficiente organização das suas estruturas; b) elevado número de deslocados internos no país (quatro milhões), que regressaram agora às suas casas, juntamente com o aumento do contacto com pessoal militar; c) baixo nível de instrução; d) taxa de natalidade de 48,4%; e) população jovem (cerca de 70% dos angolanos têm menos de 24 anos); f) alto índice de pobreza; g) fraca autonomia da mulher; h) poucos mecanismos de protecção; i) redes sociais inoperacionais; j) disponibilidade reduzida de locais para testes de rastreio voluntário; k) deficiente disponibilização da TARV.

Angola é um País em que a sexualidade tem muito peso (tem a segunda taxa mais alta de fertilidade, a nível mundial) e 70% das mulheres, aos 20 anos de idade, já têm, pelo menos, um filho (61-63).

O primeiro caso de sida, em Angola, foi diagnosticado em 1985 e, até ao primeiro semestre de 2009, foram notificados cerca de 49 mil casos de infecção por VIH (64). A prevalência da infecção ronda os 5,0% em 16 milhões de habitantes, mas, nas zonas fronteiriças com a República do Congo (Kinshasa), Zâmbia e Namíbia pode atingir os 10%. A transmissão sexual é o principal modo de transmissão de VIH em mais de metade dos casos notificados.

Angola possui 83 centros de rastreio voluntário e 23 unidades de saúde para atendimento de infectados por VIH (64). A TARV já está disponível em todas as Províncias de Angola.

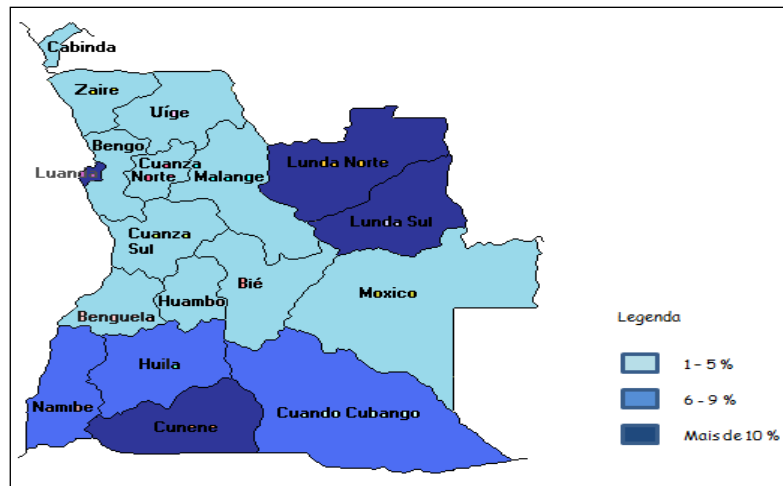


Figura 7-Proporção de testes positivos para VIH, por províncias de Angola, no 1º semestre de 2009 (relatórios provinciais) (64).

De acordo com os dados disponíveis no relatório do 1º semestre de 2009, INLCS-Minsa, Angola, existem 48.651 infectados por VIH e 23.044 estão em TARV, entre adultos e crianças, verificando-se tendência para o aumento do número de casos (figura 8) (64).

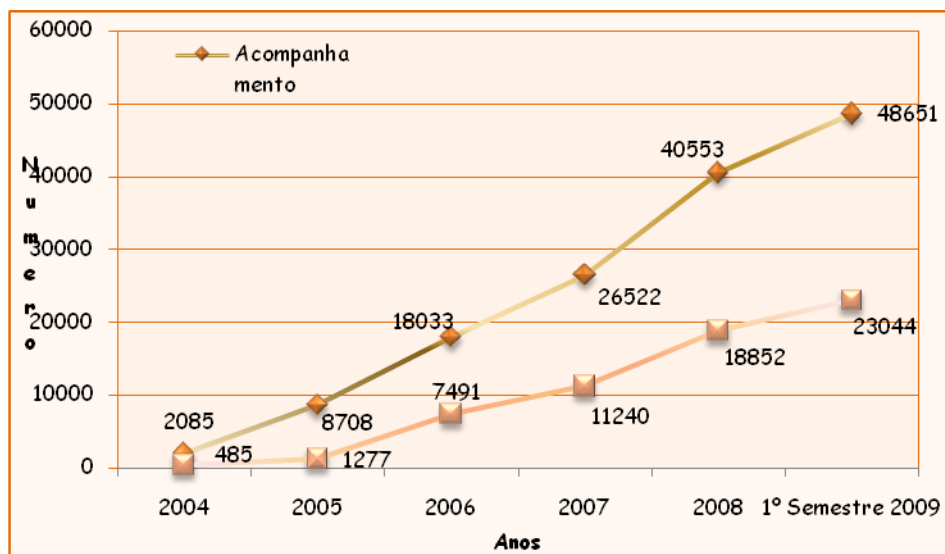


Figura 8 - Número acumulado de doentes (crianças e adultos) acompanhados e em

TARV por ano, desde 2004 até ao 1º semestre de 2009 (64).

Quanto à seroprevalência da infecção, por Províncias de Angola, as autoridades sanitárias, no mesmo período em análise, afirmam que as províncias com maior percentagem de seropositividade para VIH foram Luanda (13,0%), Cunene (10,1%), província fronteiriça com a República da Namíbia, Lunda-Sul (9,4%), Lunda-Norte (9,1%), ambas províncias fronteiriças com a R.D.C. (Kinshasa) e República da Zâmbia e Namibe (7,3%), que faz fronteira com a República da Namíbia (figura 7). Nos 188.690 testes VIH realizados diagnosticaram-se 12.769 casos de infecção por VIH (6,8%); os adultos representaram o maior grupo (n=9473, 74%). Da análise da distribuição da infecção por VIH por sexo, constatou-se que 59,7% correspondiam ao sexo feminino. No período em análise foram testadas 8.013 crianças, verificando-se que 968 estavam infectadas por VIH (12,1%) (64). Durante esse período, foram acompanhadas 8.098 indivíduos, sendo 757 (9,3%) crianças e 7.341 adultos (90%). A TARV foi iniciada em 3.927 adultos (53,5%) e em 265 crianças (35,0%). A primeira linha de TARV, em Angola, é constituída por dois NITRs (zidovudina ou estavudina/elamivudina) e nevirapina (63, 65). Também, nessa altura, foram testadas 100.488 mulheres grávidas, das quais 2.328 (2,3%) estavam infectadas por VIH. Desse total de grávidas infectadas por VIH, 1.112 (47,8%) foram incluídas no programa de transmissão vertical (PT). As províncias em que foram encontradas taxas de infecção por VIH mais elevadas, na população, foram a de Cunene (5,3%), Lunda Norte (5,8%), Luanda (3,5%), Kuando Kubango e Cabinda (3,7%).

A informação sobre epidemiologia molecular da infecção por VIH/sida em Angola,

ainda é escassa. Até à data, são conhecidos os resultados de, apenas, quatro estudos sobre a diversidade genética de VIH-1 e a resistência aos ARVs em Angola. Um estudo no Norte (Cabinda) e no Centro (Luanda) do País incidiu sobre isolados víricos de 48 infectados por VIH, residentes nestas localidades (66). Neste estudo, foram identificados os seguintes subtipos: A1 (n=18,38%), C (n=7,15%), H (n=5,10%), J (n=3,6%), G (n=2,4%), A2 (n=2,4%), F1 (n=1,2%) e D (n=1,2%). Oito das amostras (17%) tinham subtipo discordante. Havia seis formas de recombinantes diferentes, isto é, A1/H (n=3,6%), A1/G (n=1,2%), C/A2 (n=1,2%), F1/B (n=1,2%), G/B (n=1,2%), e G/H (n=1,2%). A diversidade genética de VIH-1 foi maior em Cabinda do que em Luanda o que, provavelmente, se justifique pela maior proximidade de Cabinda com a RDC, onde está referida uma das maiores variabilidades genéticas de VIH-1, em todo o Mundo. Relativamente à variabilidade genética noutras províncias de Angola e aos polimorfismos na TR e na PR associados (ou não) à resistência aos anti-retrovíricos, nada se sabe.

Noutro estudo, foram analisados 37 amostras de infectados por VIH-1, também residentes em Cabinda e Luanda (67). A diversidade genética identificada, neste estudo, foi, também, muito elevada. Os subtipos mais predominantes foram C e F, mas também foram identificados subtipos A, D, G e H. Em três das amostras foram identificados vírus não classificáveis, que, possivelmente, pertenceriam a subtipos desconhecidos ou novas formas recombinantes. Foram ainda encontrados 13 isolados recombinantes, a maioria com padrões muito complexos.

Bartolo *et al.*, investigaram a diversidade genética de VIH-1 em Angola, em 2001, em 138 infectados por VIH-1 sem TARV, de oito Províncias (Benguela, Cabinda,

Kuanza-Norte, Luanda, Lunda-Norte, Malanje, Uíje e Zaíre), por sequenciação e análise filogenética das regiões p17 do gene *gag*, PR e RT do gene *pol*, e C2C3 do gene *env* (24). Este estudo concluiu que a diversidade genética de VIH-1 em Angola é ampla (extraordinária heterogeneidade), ultrapassando todos os valores conhecidos, até hoje, e todos os subtipos de VIH-1 foram detectados, excepto B e K. Por outro lado, esta diversidade traduz-se na presença de isolados altamente divergentes de quase todos os subtipos e CRFs conhecidos, bem como na presença de novos vírus recombinantes. Cinquenta e quatro vírus (39%) foram recombinantes entre dois ou mais subtipos, incluindo o sub-subtipo A3, recentemente descrito. Vinte e seis vírus (19%) foram recombinantes de segunda geração, constituídos por um ou mais subtipos e ou de formas circulantes recombinantes (CRFs). Identificaram-se, também, sequências não classificáveis (3%), bem como quatro sequências, que formam um novo subtipo A4. Assim, VIH-1 deverá ter sido introduzido, em Angola, no início da epidemia (década de 80 do século passado), por importação, a partir dos países limítrofes, sobretudo da RDC. Em Angola, VIH-1 encontrou o ambiente adequado para prosseguir a sua evolução acelerada.

A análise posterior das mutações de resistência no gene *pol*, em 122 doentes, revelou que apenas dois (1,6%) deles estavam infectados por vírus resistentes aos NRTIs e aos NNIRTs (as mutações de resistência encontradas foram M41L, D67N, M184V, L210W, T215Y, T215F e K103N) (68).

Em relação à resistência adquirida aos anti-retrovíricos, em Angola, apenas estão disponíveis os resultados de um estudo(65). Este trabalho foi efectuado em 2005-2006, em 294 infectados por VIH, residentes em Luanda e sob terapêutica tripla de primeira linha (dois NITRs e um NNITR) por um período igual ou superior a seis

meses. Foram detectadas mutações de resistência em quase todos os doentes, das quais, as mais frequentes foram M184V (70%) e K103N (39%). A elevada taxa de resistência detectada sugere que alguns doentes poderão ter sido infectados por vírus resistentes. A transmissão de vírus resistentes pode comprometer, seriamente, a eficácia da TARV e é, particularmente, grave quando as alternativas aos regimes terapêuticos de primeira linha, actualmente, são quase nulas (9, 69, 70).

2. OBJECTIVOS

Não existem dados recentes sobre o perfil epidemiológico, demográfico, clínico e imunológico da população infectada por VIH, em Angola. Também, não, existem dados recentes sobre a diversidade genética de VIH-1, em Angola, nem sobre a transmissão de vírus resistentes aos anti-retrovíricos. Neste contexto, os objectivos deste estudo foram:

1. Determinar o perfil epidemiológico, demográfico, clínico e imunológico da população infectada por VIH em Angola em 2008-2009.
2. Estudar a diversidade genética de VIH em Angola em 2008-2009.
3. Investigar a frequência e distribuição de polimorfismos na protease (PR) e na transcriptase reversa (TR) associados a resistência aos anti-retrovíricos, nos indivíduos não tratados, em 2008-2009.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Caracterização dos Serviços da Consulta de Infecçiology do Hospital da Divina Providência (HDP)

Este estudo realizou-se numa das áreas de consultas do HDP, designada por Consulta de Infecçiology. O hospital é religioso, tutelado pela Congregação da Divina Providência, em parceria com o Ministério da Saúde, e foi inaugurado em 1991. Está localizado no município de Kilamba-Quixaxe, que tem uma população, estimada, de 990.892 habitantes (13,4% dos 7.395.977 de Luanda) (71). Tem quatro centros periféricos, sob sua dependência, que se encontram a 10km de distância do HDP e os doentes são transferidos destes centros para o HDP. Tem em funções 22 médicos (três pediatras, quatro internos de pediatria, 14 clínicos gerais e um psicólogo), 120 enfermeiros, totalizando 335 trabalhadores. A sua actividade está devotada à acção preventiva da doença na criança (Cuidados Primários de Saúde, Puericultura, Imunização, Recuperação Nutricional) e de apoio à saúde materna (Consultas Pré-natais e Imunização). Possui Laboratório, Serviços Gerais, Internamento de Pediatria, com 52 camas (18 referentes a mal nutrição), Internamento de Medicina, com 37 camas e de tuberculose, com 18 camas. A média anual de consultas é de 100 mil (72). A actividade clínica distribui-se pelas Consultas de Pediatria, de Medicina, de Infecçiology, de Oftalmologia, de Estomatologia, de Ortopedia, de Psicologia e de Curativos e pelos Serviços de Internamento. Quanto às actividades auxiliares, para além do Laboratório de Análises Clínicas, possui Farmácia e Serviço de Radiologia. Em relação ao tratamento da tuberculose, o HDP é uma unidade vocacionada para o diagnóstico e tratamento, possibilitando a toma directamente observada. A maioria dos doentes

internados é proveniente das diferentes consultas realizadas no HDP, dos centros periféricos e de outros hospitais de Luanda.

3.2 – Doentes e métodos

O primeiro passo do projecto foi a obtenção de aprovação, pela Direcção Geral do HDP e pela Comissão Nacional de Ética de Angola (Anexo 2). Como previsto no cronograma do projecto (Anexo 3), a consulta dos processos clínicos dos doentes decorreu de 11 de Setembro de 2008 a 19 de Janeiro de 2009. A participação dos indivíduos, neste estudo, foi voluntária, dando o seu consentimento informado (anexo 4). Os indivíduos infectados por VIH foram observados em Consulta Externa de Infeciologia e outros no internamento, onde foram colhidas e preenchidas as informações clínicas para a ficha de recolha de dados (anexo 5). Em simultâneo com a recolha de dados, foi, também, recolhida uma amostra de sangue venoso. Diariamente, no final das colheitas, procedia-se à separação do plasma, que era transportado, no mesmo dia, para o Laboratório Nacional de Saúde Pública de Luanda (LNSP). As amostras foram conservadas a -80°C até serem transportadas para o Laboratório da Unidade de Retrovírus e Infecções Associadas do Centro de Patogénese Molecular da Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa.

De acordo com as recentes recomendações da OMS para este tipo de estudos, a generalidade dos indivíduos neste estudo obedeciam às seguintes características (9):

- a) Infecção por VIH-1 confirmada.
- b) Menos de 25 anos de idade.
- c) Mulheres que nunca engravidaram ou que estavam na primeira gravidez.

d) Sem diagnóstico clínico de sida (abaixo dos estádios 3 ou 4 da OMS).

e) Sem qualquer TARV.

3.3– Amostras incluídas no estudo

A infecção por VIH, nos indivíduos estudados, foi determinada em Luanda pelo teste rápido *Determine*® (Abbott) e confirmada pelo teste rápido *UniGold*® (TrinityBiotech). Os indivíduos incluídos no estudo apresentavam positividade em ambos os testes.

3.4 – Quantificação da carga vírica plasmática

A carga vírica plasmática foi efectuada em 86 doentes com o kit Abbott RealTime HIV-1 (Abbott), no Laboratório de Biologia Molecular do Hospital de Egas Moniz, Lisboa (Dr. Ricardo Camacho).

3.5 –Extracção de ARN para genotipagem de resistência

Seleccionaram-se 57 amostras de plasma para genotipagem de resistência, do grupo etário dos 15-40 anos de idade, de ambos os sexos, com valores de linfócitos TCD4⁺ ≤ 200/mm³. A extracção do ARN destas amostras fez-se a partir de 140 µl de plasma com o Kit da QUIAGEN, de acordo com as orientações do fabricante. Em resumo, as amostras foram, previamente, descongeladas, retiraram-se 140 µl de plasma para um tubo de 1,5 ml ao qual se acrescentou 560µl de solução lise AVL e Carrier RNA, adicionou-se 560 µl de etanol a 100% e aplicou-se esta mistura numa coluna à base de sílica. Posteriormente, procedeu-se a duas lavagens da coluna com os tampões AW1 e AW2, que permitiram eliminar resíduos e contaminações do ARN e melhorar a sua qualidade. Para maior rentabilização efectuou-se dupla

eluição com 40 µl de tampão AVE, para prevenir o crescimento microbiano e contaminação com ARNases. Depois da extração do ARN do plasma fez-se a transcrição reversa de ARN, para ADN e amplificação do ADN utilizando os *primers* e condições de reacção que a seguir se descreve.

3.6 – Primers

Os *primers* foram previamente descritos por Bartoloe colaboradores (68). A posição e a sequência dos *primers* utilizados neste trabalho estão indicadas no quadro 7.

Quadro 7– *Primers* utilizados na amplificação por PCR *nested* e sequenciação do gene *pol* (PR e RT) de VIH-1.

Primer	Posição	Região	Sequencia (5'-3')
BPR1.1	2008-2030	Gag (NC)	AAAAGGGCTGTTGGAAATGTGGG
IBPR 2.2	2733-2712	RT	GCAAATACTGGAGT(A/G)TT(G/ATAG
IBPR3.1	2119-2140	Gag P1-P6	AGGCCAGGGAATTT(T/C)C(T/CTCAGA
IBRT1	2487-2505	RT	CCTACACCTGTCAACATAA
IBRT2	3649-3630	RT	TGTTTTACATCATTAGTGTG
IBRT3	2542-2560	RT	TAAATTTTCCAATTAGTCC
IBRT4	3579-3560	RT	TAAATTTGATATGTCCATTG
IBR2604RT5	2604-2633	RT	CCAAA(A/G)GTAAACAATGGCCATTGACAGA
IB355RT6	3538-3555	RT	ATTTGATATGTCCATTG
IB2997RT7	2997-3020	RT	CCACAGGGATGGAAAGGATCACC
IB2997RT8	2974-2997	RT	GGTGATCCTTTCCATCCCTGTGG
IB2621PR4	2591-2621	PR	AATGCTTTATTTT(C/T)TCTTCTGTCAATGGC

Os nucleotídeos, entre parêntesis, indicam a degeneração introduzida nestas posições para se ter em consideração a variação de sequência observada entre os vários isolados de referência de VIH-1.

3.7 –Reacção de polimerização enzimática em cadeia –PCR

O gene *pol* foi amplificado por PCR em duas etapas– PCR *nested*, de acordo com as condições descritas no quadro8. Os fragmentos amplificados foram analisados em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio.

Quadro 8 – Misturas de reacção e ciclos de amplificação dos PCRs efectuados neste trabalho.

Pares de primers	Tamanho do fragmento	Mistura de reacção	Condições de reacção
RT-PCR			
IBPR1.1/IBRT2	1641 pb	<p>Mistura 1: dNTPs (2,5mM) - 30µL; Primer 1 (1µM) 30µL; Primer 2 (10µM) -30µL ; Solução DTT (100mM) - 30µL; Inibidor de Rnases (40U/µl) - 30µL; RNA – 10µL</p> <p>Mistura 2: MgCl₂ (25mM)- 6µl; Tampão 5x - 10µl; Enzima - 1µl; dH₂O - 8µl</p>	55°C, 30min; 1 ciclo; 94°C, 2min; 1 ciclo; 94°C, 10seg; 59°C, 30seg; 68°C, 1min; 10 ciclos; 94°C, 10seg; 59°C, 30seg; 68°C, 1min, incrementos de 5 seg; 25 ciclos; 68°C, 30min; 1 ciclo
2º PCR			
IBPR3.1/IBPRT4	1460	Tampão David 10X - 5µl; BSA - 0,7µl; dNTPs (2,5mM) - 1µl; MgCl ₂ (50mM) - 2,5µl; Primer 1 (10µM) - 2,5µl; Primer 2 (10µM) - 2,5µl; Taq Polimerase (5U/µl) – 0,3µl; dH ₂ O – 30,5µl; Amplificado do 1º PCR - 5µl	94°C, 5min; 1 ciclo; 94°C, 10seg; 10 ciclos; 53°C, 30seg; 10 ciclos; 68°C, 1,5min; 10 ciclos; 94°C, 10 seg, 25 ciclos; 53°C, 30 seg, 25 ciclos; 68°C, 1,5 Sseg, 25 ciclos incrementos de 20 seg; 68°C, 30 min

3.8 – Sequenciação

Os produtos de PCR foram purificados com o *JETQUICK PCR Purification Kit* (Genomed) e sequenciados com o *BigDye® Terminator V3.1 Cycle sequencing Kit* (Applied Biosystems), com os *primers* descritos no quadro 7, no sequenciador automático *3100- Avant Genetic Analyser* (Applied Biosystems).

3.9 – Análise filogenética da região da protease

As sequências nucleotídicas foram alinhadas com as das referências de todos os grupos, subtipos e CRFs, retiradas da *HIV Sequence Database* (30). O programa de alinhamento utilizado foi o *Clustal X*. Os alinhamentos foram editados e corrigidos manualmente, no programa *GeneDoc*. A distância genética entre as sequências foi calculada através do modelo de *Kimura* à dois parâmetros e a análise filogenética foi realizada pelo método *neighbor-joining*, no programa *MEGA 3.1* (24). A fiabilidade dos agrupamentos (*clusters*) gerados nas árvores filogenéticas foi determinada pelo *internal branch-test* com 10 mil réplicas (*bootstraps*). Os agrupamentos observados nas árvores filogenéticas só têm validade estatística quando apresentam valores de *bootstrap* $\geq 70\%$.

3.10 – Análise das mutações de resistência aos anti-retrovíricos

A análise das mutações de resistências aos anti-retrovíricos na PR e TR foi realizada através do algoritmo de resistência da base de dados de *Stanford*, tendo em atenção, ainda, as mutações associadas, exclusivamente, à resistência primária (transmitida) (73-76).

3.11– Análise estatística

O tratamento estatístico foi realizado recorrendo ao programa *GraphPad Prism* versão 4. O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar variáveis contínuas, que não seguiam uma distribuição normal (amostra global vs amostra genotipada: idade, carga vírica e contagens de linfócitos TCD4⁺. O teste exacto de *Fisher* foi utilizado para comparar frequências (amostra global vs amostra genotipada - género e vias de transmissão). O teste de Spearman e a análise de regressão linear foram utilizados para analisar a associação e correlação entre a carga viral e o número de linfócitos TCD4⁺. O limite de significância estatística considerado foi de 5% (P <0,05).

4. Resultados

4.1– Características clínicas e demográficas dos doentes angolanos

Foram colhidas 219 amostras de plasma de infectados por VIH, dum total de 304 indivíduos inquiridos, na Consulta de Infeciologia do HDP. Os indivíduos eram encaminhados para o Laboratório, onde era realizada a colheita de 8-10 ml de sangue venoso. Registou-se a perda de 85 amostras, por morte (estado grave em que os doentes chegavam ao hospital), pelo desaparecimento de algumas amostras no LNSP, pela sobrecarga de trabalho no laboratório do HDP, pela não comparência dos indivíduos no Laboratório no dia indicado e pela dificuldade em localizar os doentes para o retorno. As características epidemiológicas e clínicas dos indivíduos incluídos neste estudo estão indicadas no quadro 6, do anexo 6. A maior parte apresentava infecção por VIH, com critérios de sida, isto é abaixo dos estádios 3 ou 4 da OMS. Foram diagnosticados 28 casos de provável hepatite B crónica (AgHBs positivo), quatro dos quais em grávidas e outros quatro casos de tuberculose associada a hepatite B.

4.1.1– Naturalidade e distribuição por sexo

Foram incluídos 304 indivíduos; dois deles foram excluídos por não serem angolanos (08AGHDP03 e 08AGHDP224), pelo que os resultados apresentados se referem a 302 indivíduos. Mais de metade dos 302 indivíduos era do sexo feminino (204;67,5%) (Figura9). Trinta e três (10,0%) eram crianças e 42 mulheres (13,9%) estavam grávidas.

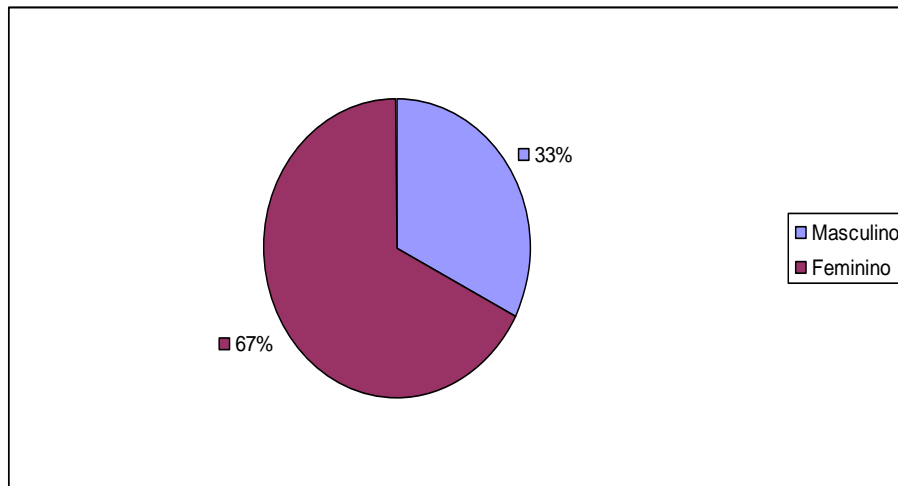


Figura 9– Distribuição, por sexo, dos indivíduos incluídos no estudo.

4.1.2 – Distribuição etária

A idade média dos indivíduos estudados foi de 31 anos (mínimo um ano e máximo 69 anos de idade). Na figura10 apresenta-se a sua distribuição pelos grupos etários e por sexo. Com exceção do primeiro e dos dois últimos grupos etários, é claro o predomínio foi do sexo feminino. A maior parte encontrava-se na faixa etária compreendida entre os 20 e os 49 anos.

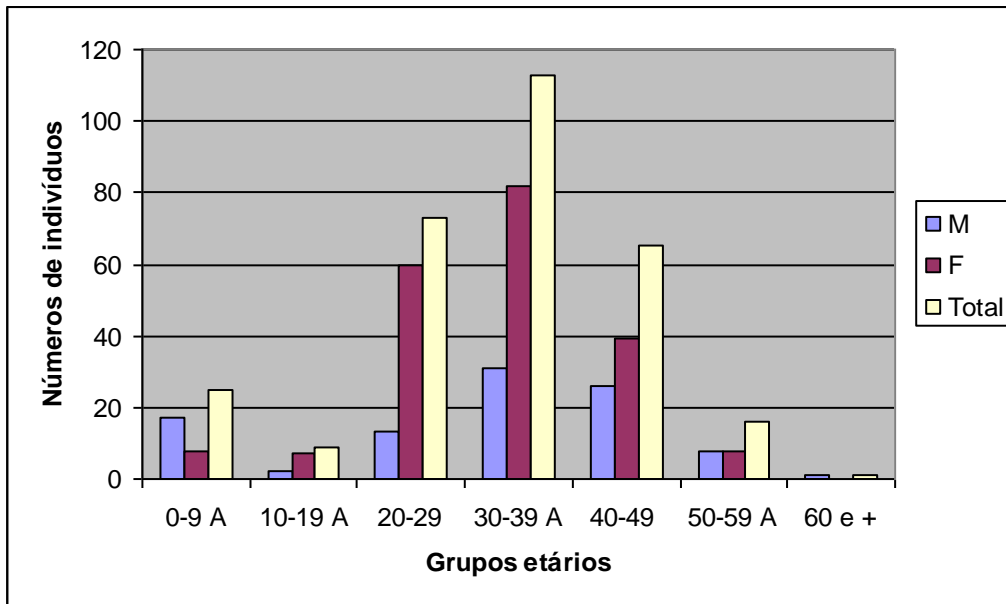


Figura 10 – Distribuição dos indivíduos estudados, por grupo etário e sexo.

4.1.3– Distribuição dos indivíduos de acordo com a via de transmissão.

A maior parte dos indivíduos (n=262; 86,8%) tinha sido infectada por via heterossexual, 31 (10,2%) crianças foram infectadas por via vertical, quatro (1,3%) foram infectados através de transfusão e, em cinco (1,7%), a via de transmissão era desconhecida (figura 11). Não houve referências em relação as vias de transmissão homossexual/bissexual, hemofília ou toxicodpendência.

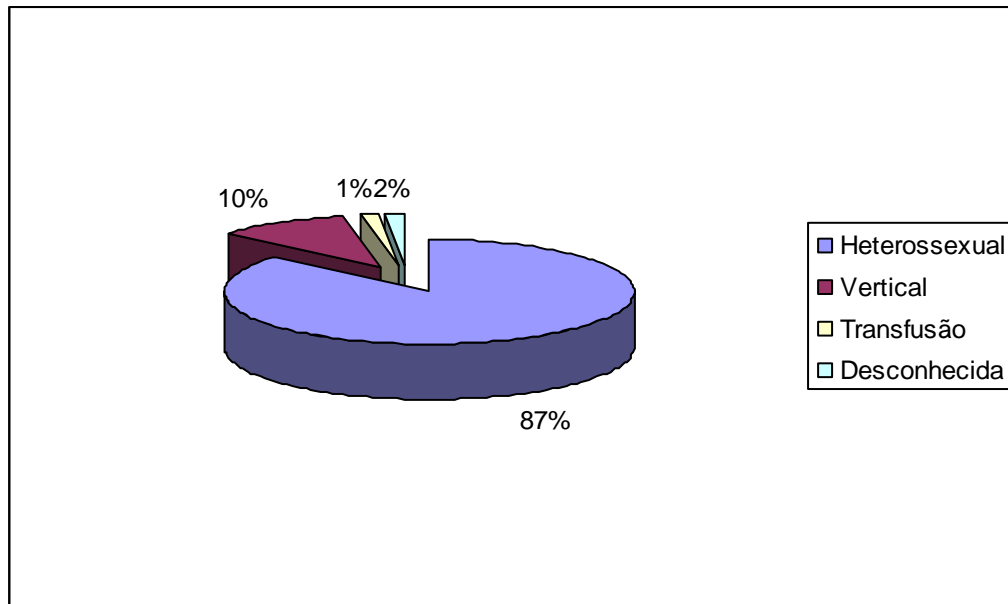


Figura 11- Distribuição dos indivíduos incluídos no estudo, de acordo com a provável via de transmissão.

4.1.4 – Estádio da doença.

A maior parte dos indivíduos estava em estado avançado de imunossupressão, sendo a mediana do número de linfócitos TCD4⁺ de 274/mm³ (mínimo de um e máximo de 1914). Em 31,8% dos casos os linfócitos TCD4⁺ estavam abaixo de 200/mm³. Não foi possível quantificar os linfócitos TCD4⁺ em 61 indivíduos devido a problemas de ordem técnica. Nenhum dos indivíduos, até à data da colheita da amostra, se encontrava submetido à TARV. De acordo com o critério de classificação da infecção por VIH, segundo o CDC (1993), quanto ao estadiamento da infecção, apenas se pôde classificar os indivíduos de acordo com os linfócitos TCD4⁺, não se podendo diferenciar em estádios clínicos. Sessenta e nove indivíduos (22,8%) foram classificados na categoria C3 (menos de 200 células/mm), 98 (32,5%) A3 e 58 (19,2%) A1.

4.2 – Grupos nosológicos

Dentro do grupo das comorbilidades, predominou a tuberculose, com 62 casos detectados (22,1%). O diagnóstico de tuberculose, em 57 doentes, fundamentou-se no exame directo da expectoração (coloração de Ziehl-Neelsen), em quatro casos baseou-se em critérios clínicos e radiológicos e, num caso, numa criança, por critérios clínicos, radiológicos, teste de Mantoux e história familiar de contacto (mãe). Em 28 indivíduos (9,3 %) detectou-se a presença de AgHBs.

Os resultados sobre hemoglobina, foram recolhidos em 255 indivíduos (84,4%). Foram considerados resultados recentes os que tinham sido obtidos há três meses, ou menos, à data da consulta. Os limites inferiores eram de 2 g/dl e o superior era de 16 g/dl, a média foi de 8,4 g/dl.

As doenças definidoras de sida e outras patologias, encontradas nestes doentes, estão listadas no quadro 9, chamando-se a atenção para o facto de que o mesmo doente pode ter tido mais do que uma patologia.

Quadro 9 – Patologias diagnosticadas nos indivíduos incluídos no estudo.

A) Patologias associadas à sida

Patologias	Números de casos
Herpes zóster	11
Pericardite tuberculosa	1
Sarcoma de Kaposi	3
Síndrome de emaciação	1

Tuberculose pulmonar	62
Total	78

B) Outras comorbilidades

Comorbilidades	Números de casos
Abcesso dentário	2
Anemia	40
Artrite	2
Candidose (orofaríngea ou vaginal)	3
Dermatite puriginosa	5
Derrame pleural sem isolamento do agente	1
Diarreia aguda	4
Esterilidade	2
Foliculite vulvar	2
Gastrite por <i>Helicobacter pylori</i>	1
Hipertensão arterial	2
Infecção respiratória	16
Linfadenopatia generalizada persistente	2
Malnutrição calórica proteica (marasmo, marasmo– Kwashiokor)	4
Malnutrição calórica proteica e infecção	2

respiratória	
Neuropatia periférica	1
Otite média aguda (OMA)	5
AgHBs ⁺	29
Perturbação da personalidade (provável esquizofrenia)	1
Piodermite	1
Poliomiosite	1
Sépsis com ponto de partida urinário	1
Síndrome vírica aguda	30
Sífilis	2
Total	154

A designação “infecção respiratória” incluiu infecções respiratórias altas como a sinusite e as infecções respiratórias baixas como as pneumonias. Em apenas dois casos, foi possível determinar a provável etiologia da diarreia, *Entamoeba histolítica* e *Hymenolepsis nana* *Schistosso mamansonii* e outras parasitoses intestinais foram as causas de anemia em dois indivíduos.

4.3 – Estádio da doença, carga vírica e diversidade genética dos isolados víricos em circulação em Angola.

O número de linfócitos TCD4⁺ foi determinado em 226 indivíduos (75%). A mediana encontrada foi de 276 linfócitosTCD4⁺/mm³ (amplitude: 1-1914). A carga vírica foi

determinada em 86 (28%) indivíduos que apresentavam, em média, 5,1 log₁₀ cópias de ARN VIH1/ml de plasma. Em geral, a carga vírica estava elevada e o número de linfócitos TCD4⁺ baixo (quadro11).

Os doentes com tuberculose tinham um número, significativamente, inferior de linfócitos TCD4⁺ [mediana 195 (n=44) vs 315 (n=183) células/mm³, P = 0,0005] e carga vírica, significativamente, superior aos indivíduos sem tuberculose [média 5,8 (n=18) vs. 4,0 (68) log₁₀ cópias de ARN vírico/ml de plasma, P =0,0002].

Quadro 10 –Características demográficas, imunológicas e víricas dos infectados por VIH-1 no HDP (Setembro de 2008 a Janeiro de 2009)

Variáveis	Total da amostra
Nº doentes [n (%)]	302 (100)
Idade [anos, média (DP)]	31 (12) (n = 295)
Género [n (%)]	
Masculino	98 (32,5)
Feminino	204(67,5)
Via de transmissão [n (%)]	
Heterossexual	262 (86,8)
Vertical	31 (10,2)
Transfusão	4 (1,3)
Semindicação	5 (1,7)
Patologias infecciosas associadas	
Tuberculose [n (%)]	62 (19,9)
Hepatite B [n (%)]	29 (10)
Nº de células TCD4 ⁺ [células/mm ³ , mediana (amplitude)]	276 (1-1914) (n= 226)
Carga vírica [log ₁₀ cópias de ARN vírico/ml plasma, média (DP)]	5,1 (1,0) (n = 86)

A carga vírica e o número de linfócitos TCD4⁺ foram determinados, simultaneamente, em 73 (24%) indivíduos e verificou-se que os dois parâmetros estavam, negativamente, correlacionados (Spearman r = -0,3319, P = 0,0041) (figura 12). Estes resultados confirmam a associação directa entre a perda de linfócitos TCD4⁺ em indivíduos não tratados e a carga vírica (23, 77).

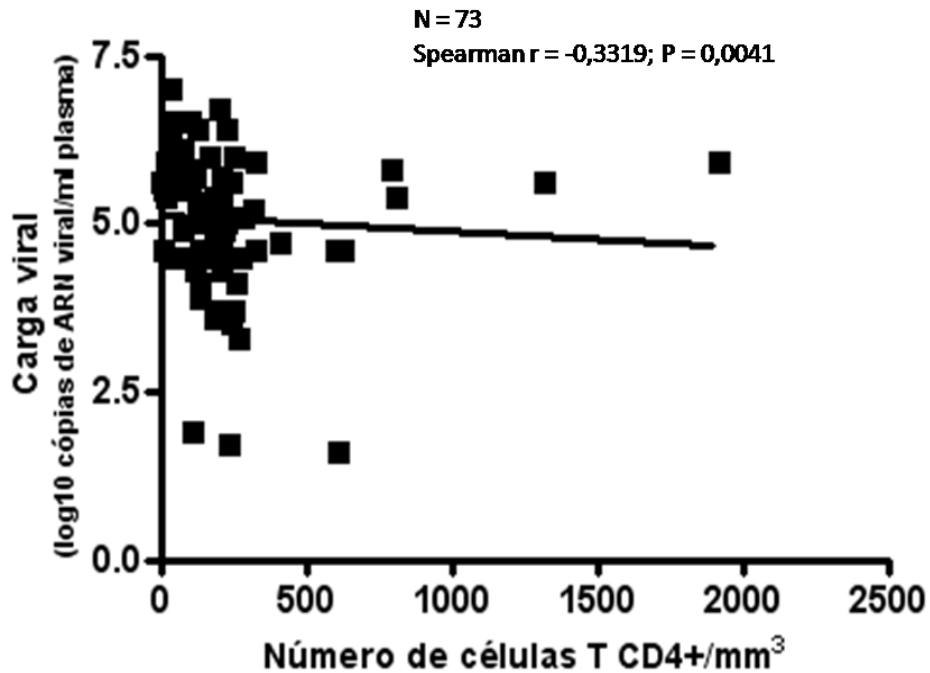


Figura 12- Correlação entre a carga vírica e o número de linfócitos TCD4⁺ em 73 indivíduos. Utilizou-se a correlação de Spearman e é igualmente, assinalada a recta de regressão (correlação linear).

Em 57 indivíduos, VIH foi analisado, genotipicamente, para determinar o seu subtipo e o perfil potencial de resistência aos anti-retrovíricos. Para este efeito, utilizou-se um método *in-house* que permite amplificar e sequenciar as regiões codificantes para a PR e para a TR no gene *pol* (23, 66, 68). As características demográficas e imunológicas dos indivíduos incluídos nesta análise estão indicadas no quadro10. Embora a carga vírica fosse semelhante, os indivíduos analisados estavam, significativamente, mais comprometidos a nível imunológico do que a restante população (tinham menos de 128 linfócitos TCD4⁺/mm³ em média, $P < 0,0001$). Foi possível obter sequências da PR e/ou TR de todos os 57 indivíduos. A

região correspondente à PR foi amplificada e sequenciada em 56 (98%) indivíduos, enquanto a região correspondente à TR foi amplificada e sequenciada em 48 (84%) doentes. A PR e a TR foram sequenciadas em 46 (81%) indivíduos.

Quadro 11 - Comparação das características demográficas, imunológicas e víricas entre a amostra global e os indivíduos efectivamente genotipados.

Variáveis	Total da amostra	Doentes genotipados neste estudo	P
Nº doentes [n (%)]	302 (100)	57 (19)	-
Idade [anos, média (DP)]	31 (12) (n = 295)	33 (10)	0,1685 ^a
Género [n (%)]			
Masculino	98 (32,5)	17 (30)	^b
Feminino	204 (67,5)	40 (70)	0,7584
		-	
Via de transmissão [n (%)]			
Heterossexual	262 (86,8)	54 (95)	0,3245 ^b
Vertical	31 (10,2)	3 (5)	
Transusão	4 (1,3)	0	
Sem indicação	5 (1,7)	-	^a
Nº de células CD4 [células/ μ l, mediana (amplitude)]	276 (1-1914) (n= 226)	148 (35-810) (n= 55)	< 0,0001
Carga viral [log cópias de ARN viral/ml plasma, média (DP)]	5,1 (1,0) (n = 86)	5,1 (1,1) (n = 49)	0,6888 ^a
Subtipo puro [n (%)] ¹	-	16 (37) (n = 46)	-
Nãotipáveis ²	-	1 (2) (n = 46)	-
Recombinantes [n (%)] ³	-	30 (65) (n = 46)	-

¹ Subtipo igual na PR e na TR

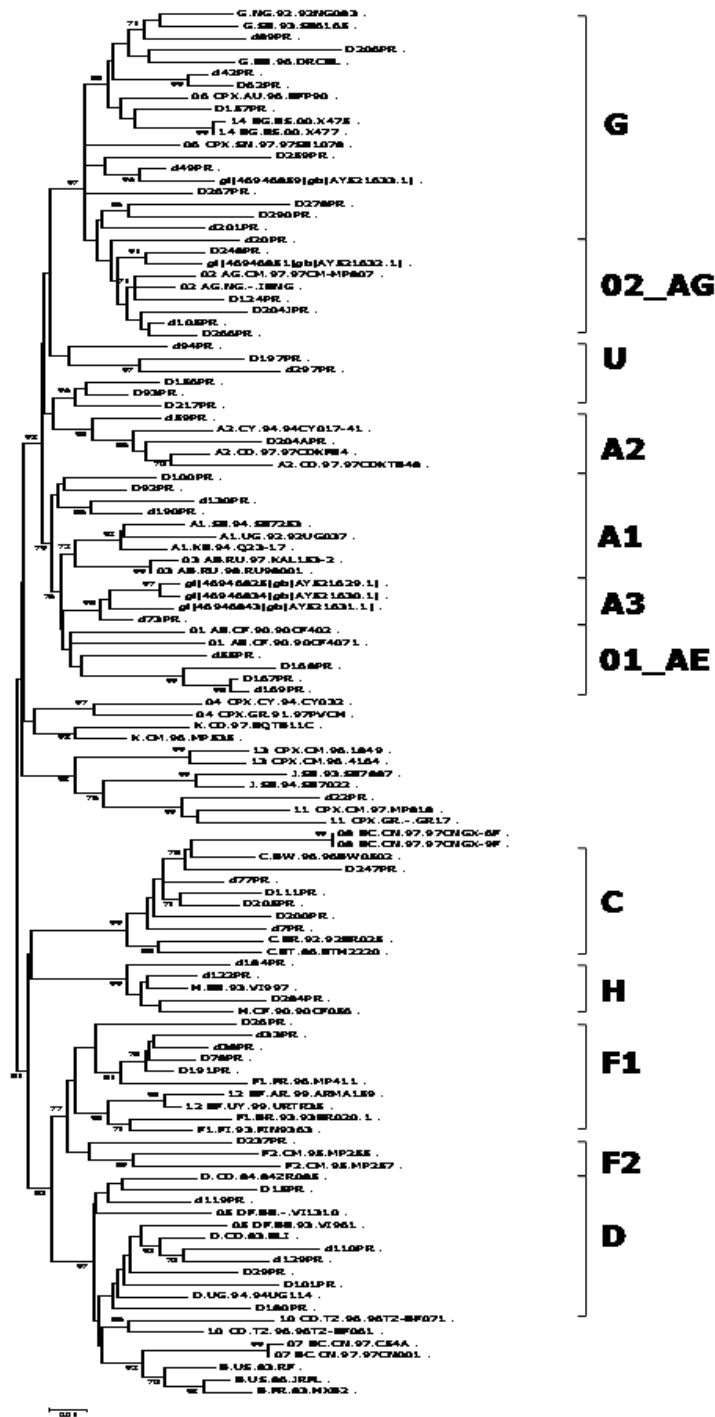
² Subtipo desconhecido na PR e na TR

³ CRFs conhecidos ou classificação diferente na PR e na TR.

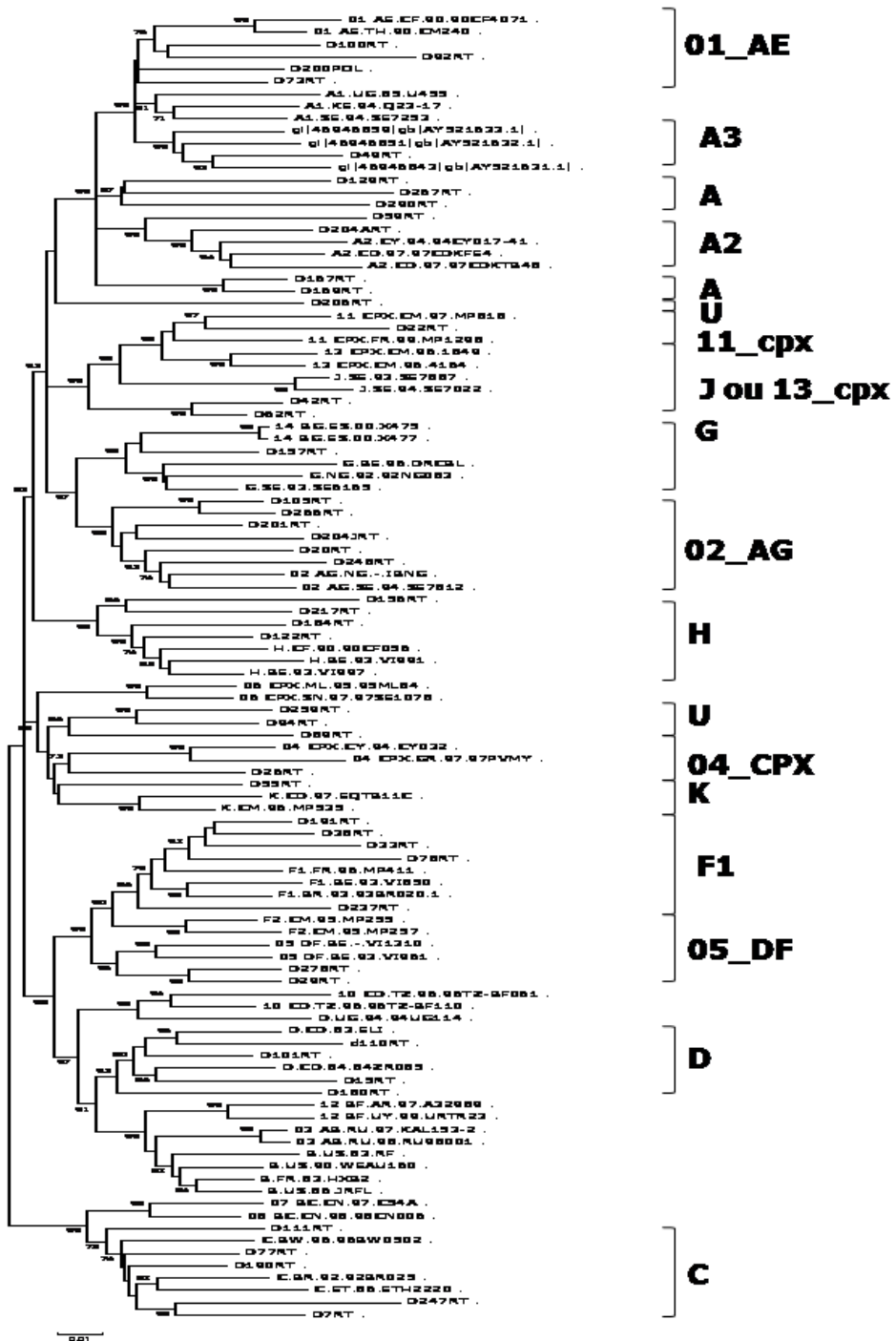
^a Mann-Whitney test

^b Fisher exact test

A análise filogenética, individualizada, das sequências da PR (Figura 13 A) e da TR (figura 13 B) demonstrou que apenas 16 (37%) indivíduos albergavam vírus de um único subtipo (subtipo puro). Os restantes (n=30, 65%) estavam, na sua maioria, infectados por vírus recombinantes, incluindo formas CRFs e outros recombinantes (Quadro12). Um indivíduo (d94) estava infectado por um isolado não tipável (U).



A)



B)

Figura 13 – Análise filogenética de sequências da PR (A) e da TR (B) dos isolados de VIH-1 em circulação em Luanda em 2008-2009. A escala representa o número de substituições por posição. Os subtipos e CRFs estão assinalados a negrito. Os números resultam de testes de repetição (bootstrap) das árvores. Valores acima de 70% são considerados significativos e conferem suporte estatístico aos agrupamentos de sequências.

A CRF mais prevalente foi a CRF02_AG tanto na PR (cinco indivíduos, 9%), como na TR (5; 10%), logo seguida da CRF01_AE [PR=4, 7%; TR=4, 8%]. O subtipo mais prevalente na PR foi o G (12, 21%), seguido do D (7, 13%) e do C (6, 11%). Na TR os subtipos mais prevalentes foram o A, C e F1 todos presentes em cinco dos indivíduos (10%). Sequências não tipáveis foram detectadas em seis (11%) indivíduos, na PR e quatro (8%) na TR. Vinte e quatro indivíduos estavam infectados com vírus contendo PRs e TRs pertencentes a diferentes subtipos, a vírus não tipáveis ou a CRFs (quadro 12). O recombinante deste género mais frequente foi o G/U que estava presente em três dos indivíduos (13%). De salientar que 13 (54%) destes indivíduos albergavam recombinantes de segunda geração, ou seja, vírus que resultam da recombinação entre um CRF e um vírus de um subtipo puro ou um vírus não tipável (U).

Quadro12 – Forma genética dos isolados víricos analisados neste estudo nas regiões codificando para a PR e TR (gene *pol*).

Doente	Subtipo	
	PR	TR
d7	C	C
d15	D	D
d20	G	CRF02_AG
d22	CRF11_CPX	CRF11_cpx
d26	F1	CRF04_cpx
d29	D	CRF05_DF
d33	F1	F1
d38	-	F1
d42	G	J
d49	G	A3
d55	CRF01_AE?	K
d59	A2	A2
d62	G	J
d73	A3	CRF01_AE?
d77	C	C
d78	F1	F1
d89	G	U
d91	F1	F1
d92	A?	CRF01_AE
d93	U	-
d94	U	U
d100	A?	CRF01_AE
d101	D	D
d105	CRF02_AG	CRF02_AG
d110	D	D
d111	C	C
d119	D	-
d122	H	H
d124	CRF02_AG	-
d129	D	A
d130	A?	-
d150	CRF02_AG	-
d156	U	H
d157	G	G
d167	CRF01_AE?	A
d168	CRF01_AE?	-
d169	CRF01_AE?	A
d180	D	D
d184	H	H
d190	A?	C
d197	U	-
d200	C	CRF01_AE?
d201	G	CRF02_AG
d204	A2	A2
d205	C	-
d206	G	U
d217	U	H
d237	F	F1
d247	C	C
d248	CRF02_AG	CRF02_AG
d259	G	U
d266	CRF02_AG	CRF02_AG
d267	G	A
d278	G	CRF05_DF
d284	H	-
d290	G	A
d297	U	-

U, vírus não tipáveis; (?) indica que o genótipo tem de ser confirmado por métodos mais sofisticados de análise filogenética

Resultados

Neste estudo detectámos oito (14%) indivíduos, potencialmente, infectados com vírus recombinantes constituídos por CRF01_AE na PR ou TR.

5. Discussão

Contrariamente ao proposto inicialmente, não foi possível cumprir, na íntegra, todos os critérios de inclusão. O cumprimento estrito dos critérios iria reduzir o tamanho da amostra e comprometer o estudo (por exemplo, incluir, apenas, indivíduos com menos de 25 anos de idade e sem diagnóstico clínico de sida). É de salientar que, em Angola, a sexualidade tem muito peso (70% das mulheres, aos 20 anos de idade, já têm, pelo menos, um filho) e o início da actividade sexual é muito precoce, o que dificultou o cumprimento do terceiro critério (mulheres que nunca engravidaram ou que estavam na primeira gravidez). Nenhum dos indivíduos, até a data da colheita, se encontrava submetido à TARV. Por deficiências na biossegurança, 1,7% dos indivíduos foram infectados através de transfusão.

A maior parte dos indivíduos estudados apresentava marcada imunossupressão, com contagem de linfócitos TCD4⁺ abaixo de 200/mm³. Muitos doentes tinham evidência de comorbidades, principalmente, a tuberculose. Estes resultados demonstram que a maior parte dos indivíduos em análise estavam em estado de imunodeficiência avançada e são compatíveis com o facto de que não estavam em TARV (33). Estes dados são, ainda, consistentes com a associação negativa entre tuberculose e a infecção por VIH, que se observa, particularmente, nos países em desenvolvimento (78). Com base na recente recomendação da OMS para tratar os doentes com contagens de linfócitos TCD4⁺<350/mm³(29), 58% destes indivíduos deveriam iniciar, de imediato, TARV. Com base na recomendação mais antiga, de só tratar doentes com linfócitos TCD4⁺ <200/mm³ (79), apenas 44% destes indivíduos seriam candidatos a TARV.

Na distribuição pelos principais grupos nosológicos, optou-se pela divisão em diagnóstico principal, isto é, a patologia dominante, que motivou a consulta de Infeciologia ou o internamento e em morbilidades co-existentes que condicionaram o prognóstico.

Em relação ao diagnóstico, a maior parte fundamentou-se no diagnóstico clínico, nomeadamente herpes zoster, otite média aguda, dermatite pruriginosa e artrite (diagnóstico fundamentado, também, no exame citoquímico do líquido intra-articular). Relativamente à patologia pulmonar, os achados clínicos e radiológicos, permitiram diagnosticar a pneumonia. Quanto à tuberculose pulmonar, o diagnóstico fundamentou-se na clínica, na radiografia e no exame directo da expectoração, recorrendo à coloração de Ziehl-Neelsen (na maior parte dos casos). Alguns casos de tuberculose foram considerados, apenas, por diagnóstico presuntivo (clínica e achados radiológicos) e, outros casos, em crianças, pelo teste de Mantoux e pela clínica e exame directo (coloração de Ziehl-Neelsen), do aspirado gástrico. De realçar que, de momento, em Angola, não existe a possibilidade de realizar o exame cultural para *Mycobacterium tuberculosis*, por rotina. Este facto pode ter subestimado o número de casos de tuberculose, na amostra estudada, já que a sensibilidade da coloração de Ziehl-Neelsen ronda os 50-60%. O diagnóstico de pericardite foi determinado pelos dados clínicos, radiografia do tórax e ecocardiograma.

O diagnóstico de infecção por vírus da hepatite B foi confirmado por testes rápidos. Nos casos em que foi possível a determinação das transaminases, não se evidenciou qualquer aumento. Muito provavelmente, estes casos correspondiam a hepatite B crónica, já que estavam assintomáticos. No entanto, não foi possível

obter informação acerca do tempo de positividade do antigénio. Atendendo a que o número de portadores crónicos do AbHBs, em África, é elevado, podemos aceitar que se trataria, na sua maioria, de mulheres com infecção crónica e por vírus de hepatite B.

Não foi possível efectuar serologia para o vírus da hepatite C, por razões de ordem técnica.

Os indivíduos com infecção por VIH assintomática foram às consultas motivadas pelos seguintes motivos, isto é, morte ou infecção por VIH de um dos membros da família (esposo/a, filhos), comportamentos de risco (por exemplo relações desprotegidas, poligamia, camionistas e taxistas), por estarem grávidas, por apresentarem manifestações clínicas sugestivas de sida, tais como tuberculose, herpes zóster e sífilis. Não houve registo de casos de malária neste grupo de doentes.

Estes resultados são consistentes com estudos efectuados em Luanda e Cabinda, em 2001 e demonstram que epidemia de VIH/Sida neste País é ainda muito complexa em termos víricos (66-68, 80).

CRF01_AE tem origem asiática (81-89) e não tinha sido detectado nos estudos efectuados em Angola em 1993 e em 2001 (66-68, 80). Em 2005-2006, o CRF01_AE foi detectado num indivíduo (3%) residente em Luanda (65). Deste modo, os resultados indicam que CRF01_AE foi introduzido no país entre 2002 e 2006 e que desde essa altura se está a disseminar, rapidamente, pela população local. A sua provável origem poderá estar relacionada com a população imigrante de origem asiática, a trabalhar em Angola, sobretudo a partir de 2002, data do fim da guerra civil. Tendo em conta que a população de origem asiática mais numerosa,

em Angola, é proveniente da China (cerca de 20.000 indivíduos) e que o CRF01_AE, é um dos principais tipos de VIH em circulação na China (81, 83-88), é muito provável que o CRF01_AE existente em Luanda, tenha a sua origem na China. Estudos adicionais de natureza filogenética são necessários para esclarecer em definitivo a origem e actual parentesco do CRF01_AE em circulação em Luanda. Entretanto, os resultados são importantes na medida em que documentam uma possível alteração do perfil epidemiológico da infecção por VIH em Angola, que poderá vir a ter consequências importantes ao nível da prevenção e da terapêutica. Por exemplo, os resultados implicam que existam indivíduos da população chinesa, em Angola, que desconheçam a seropositividade por VIH ou que estejam infectados por VIH sem terapêutica anti-retrovírica eficaz (90). Deste modo, a prevenção da transmissão de VIH pela comunidade chinesa e/ou outras comunidades asiáticas, a residir em Angola, dependerá do diagnóstico atempado, da oferta de terapêutica anti-retrovírica e da adopção de outras medidas preventivas, especificamente, orientadas para esta população (90, 91).

A análise das sequências para as mutações de resistência, na base de dados de Stanford, inequivocamente associadas com a transmissão de vírus resistentes aos anti-retrovíricos revelou que, não obstante a presença de numerosos polimorfismos invulgares na PR e TR, nenhum dos indivíduos era portador deste tipo de vírus (73-76). Estes resultados são semelhantes aos resultados obtidos em 2001 e indicam que a transmissão de vírus resistentes não tem sido identificada, até hoje em Luanda e, provavelmente, em Angola (68). Contudo, esta situação pode alterar-se, rapidamente, devido ao aumento do acesso aos ARVs e à forte presença de populações migrantes, potencialmente infectadas, por VIH, em Luanda. A vigilância

periódica da presença de vírus resistentes, nas populações tratadas e não tratadas, por métodos semelhantes aos aqui descritos, é fundamental para detectar, precocemente, e prevenir a transmissão primária de resistências. Entretanto, é importante salientar que a ausência de mutações de resistência primária, neste estudo, sugere que a TARV está a ser bem implementada e bem gerida em Angola, e indica, ainda, que a maior parte dos angolanos infectados por VIH têm sido, eficazmente, tratados com os regimes de primeira linha, actualmente, em uso em Angola (AZT ou d4T, 3TC e NVP).

Em conclusão, o gene *pol* dos isolados de VIH-1 angolanos indica uma elevada complexidade genética. A forma recombinante CRF01_AE é uma nova adição à associação da complexidade de VIH-1, em Angola. A emergência deste fenómeno em Luanda pode estar associada à afluência recente de emigrantes provenientes da Ásia, especificamente da China. A ausência de resistências aos ARVs, indica que os regimes terapêuticos, de primeira linha, em Angola podem, com sucesso ser usados na maioria dos indivíduos infectados por VIH-1. Estudos futuros são necessários para avaliar o impacto desta diversidade em mudanças na epidemiologia da infecção por VIH-1, em Angola. É necessária uma monitorização continuada da eficácia e da resistência da terapêutica em indivíduos tratados para se poder otimizar a TARV em Angola.

Anexo 1

Quadros de mutações de resistências aos anti-retrovíricos (73)

Quadro 2 –Mutações de resistências aos NIRTs

		Mutações	Perfil de resistências aos NIRTs
T A M S		M184	I Resistência elevada <i>in vitro</i> a 3TC e FTC e resistência baixa <i>in vitro</i> a ddI e ABC. Aumenta a susceptibilidade a AZT, TDF e d4T. Reverte parcialmente a resistência a AZT, d4T e TDF causada por outras mutações de resistência a AZT.
			V Resistência elevada <i>in vitro</i> a 3TC e FTC e resistência baixa <i>in vitro</i> a ddI e ABC. Aumenta a susceptibilidade a AZT, TDF e d4T. Reverte parcialmente a resistência a AZT, d4T e TDF causada por outras mutações de resistência a AZT
		M41	L Ocorre normalmente associada à T215Y. Juntas, conferem resistência intermédia a AZT e d4T e baixa resistência a ddI, ABC e TDF.
		D67	N Confere algum grau de resistência a cada NRTI excepto a 3TC e FTC. Normalmente ocorre associado a mutações nas posições 70 ou 215.
		K70	R Resistência baixa a AZT, d4T e, possivelmente, a TDF. Aparece ter pouco ou nenhum efeito sobre os outros NIRTs.
		L210	W Confere resistência a cada um dos NIRTs excepto 3TC e FTC. Ocorre normalmente associado à M41L e T215Y.
		T215	F Confere resistência a AZT e d4T e reduz a susceptibilidade a ABC, ddI e TDF.
			Y Confere resistência a AZT e d4T e reduz a susceptibilidade a ABC, ddI e TDF, particularmente quando este ocorre em combinação com M41L e L210 W.
		K219	E/Q Diminui a probabilidade de susceptibilidade a AZT e provavelmente a d4T na presença das K70 R ou T215F/Y embora com pouco ou nenhum efeito sobre os outros NIRTs.
	Não -TAMS		K65
			R Resistência intermédia a ddI, ABC, 3TC, FTC e TDF. Resistência baixa a d4T. Hipersusceptibilidade a AZT.
		K70	R Reduz a susceptibilidade a TDF, ABC, ddI e com menor reforço a

Resistência Multinucleosídica			3TC e FTC. Não reduz a susceptibilidade a d4T e ddl.
		G	Aparenta reduzir a susceptibilidade a TDF, ABC, e ddl e com menor reforço a 3TC e FTC. Efeito no d4T desconhecido.
	L74	I	Reduz a susceptibilidade a ABC e ddl. Reverte parcialmente a resistência a AZT e, possivelmente, a d4T causada por outras mutações.
		V	Reduz a susceptibilidade a ABC e ddl. Aumenta a susceptibilidade a AZT e TDF. Reverte parcialmente a resistência a AZT e possivelmente a d4T causada por outras mutações.
	V75	M	Reduz a susceptibilidade a d4T e, possivelmente, a ddl.
		T	Reduz a susceptibilidade a d4T e a ddl.
	Y115	F	Resistência intermédia a ABC e resistência baixa a TDF.
	T69	I	A inserção de aminoácido nesta posição ocorre em 1-2% de doentes fortemente tratados. Em associação com as TAMs conferem resistências elevadas a cada um dos NIRTs.
	Q151	M	Resistência intermédia a AZT, ddl, d4T e ABC. Resistência baixa a TDF. Em associação com alterações nas posições 75, 77 e 116 confere resistência elevada a AZT, ddl, d4T e ABC; resistência intermédia a TDF e resistência baixa a 3TC e FTC.
	A62	V	Associada a resistência multinucleosídica causada por Q151M. O seu efeito na ausência de Q151M é desconhecido
	V75	I	Aumenta a resistência multinucleosídica causada por Q151M quando presente com F77L e F116Y. O seu efeito na ausência de Q151M é desconhecido.
	F77	L	Aumenta a resistência multinucleosídica causada por Q151M quando presente com V75I ou F116Y. O seu efeito na ausência de Q151M é desconhecido
F116	Y	Aumenta a resistência multinucleosídica causada por Q151M quando presente com V75I ou F77L. O seu efeito na ausência de Q151M é desconhecido.	

Quadro 3 –Mutações de resistências aos NNIRTs

Mutações		Perfil de resistências aos NNIRTs
A98	G	Resistência baixa a NVP. Ocorre em cerca de 1% de doentes não tratados com NNIRTs.
L100	I	Resistência intermédia a NVP, FV e resistência baixa a ETR. Surge, frequentemente, combinada com K103N. Aumenta a susceptibilidade a AZT e TDF. Reverte parcialmente a resistência a AZT e, possivelmente, a d4T causada por outras mutações.
	E	Associada a resistência intermédia a NVP e DLV. Resistência baixa a EFV e ETR.
	P	Normalmente ocorre com K103N, originando, nesse caso, resistência elevada a NVP, DLV e EFV e resistência baixa/intermédia a ETR.
K103	Q	Ocorre, ocasionalmente, em indivíduos não tratados e não reduz a susceptibilidade aos NNIRTs
	N	Resistência elevada a NVP, DLV e EFV. Por si só não tem efeito na susceptibilidade a ETR.
	S	Resistência elevada a NVP e resistência intermédia a DLV e EFV.
V106	A	Resistência elevada a NVP, resistência intermédia a DLV e resistência baixa a EFV e ETR.
	M	Resistência elevada a NVP, DLV e EFV. Aparentemente não reduz a susceptibilidade a ETR.
V108	I	Resistência baixa a todos os NNIRTs com possível excepção de ETR.
V179	D	Baixa redução na susceptibilidade a cada um dos NNIRTs. Ocorre em cerca de 1% de doentes não tratados. Combinada com a K103R reduz em cerca de 15 vezes a susceptibilidade a NVP, DLV e EFV, sendo o seu efeito no ETR desconhecido.
	E	Baixa redução na susceptibilidade a cada um dos NNIRTs.
	F	Ocorre frequentemente combinada com a Y181C. Esta combinação reduz em mais de 100 vezes a susceptibilidade a ETR e causa resistência baixa a EFV.
Y181	C	Resistência elevada a NVP e DLV e baixa resistência a EFV. Reduz a susceptibilidade a ETR em 5-10 vezes
	I	Resistência elevada a NVP e DLV e baixa resistência a EFV. Reduz a susceptibilidade a ETR em 5-10 vezes. Aumenta a susceptibilidade a AZT e TDF.

	V	Resistência elevada a NVP e DLV e baixa resistência a EFV. Reduz a susceptibilidade a ETR em 5-10 vezes. Aumenta a susceptibilidade a AZT e TDF.
Y188	C	Resistência elevada a NVP e baixa resistência a EFV e DLV, o seu efeito sobre ETR é desconhecido.
	H	Baixa resistência a NVP, EFV e DLV. Seleccionada in vitro por ETR.
	L	Resistência elevada a NVP e EFV e resistência baixa a ETR e DLV.
G190	A	Resistência elevada a NVP, resistência intermédia a EFV e baixa resistência a ETR. Aumenta a susceptibilidade a DLV.
	E	Resistência elevada a NVP e EFV e resistência intermédia a DLV. Combinada com Y181C está associada à redução da susceptibilidade a ETR em mais de 100 vezes.
P225	H	Resistência elevada a NVP e EFV. Baixa resistência a intermédia a ETR. Aumenta a susceptibilidade a DLV.
F227	C	Mutação rara que tem sido associada com níveis inconsistentes de resistência a todos os NNIRTs, particularmente ETR.
	L	Ocorre normalmente em combinação com V106A encontrando-se desta forma associada a resistência elevada a NVP e resistência intermédia a DLV. O seu efeito no ETR é desconhecido.
M230	L	Resistência intermédia a elevada a cada um dos NNIRTs. Seleccionada invitro por ETR reduzindo a susceptibilidade ao mesmo em cerca de 10 vezes.
P236	L	Resistência elevada a DLV.
K238	T	Ocorre normalmente em combinação com outra mutação de resistência a NNIRTs aparentando dessa forma conferir níveis de resistência intermédia a NVP e possivelmente a DLV e EFV.

Quadro 4 –Mutações de resistências aos IPs

Mutações		Perfil de resistências aos IPs
Associada a resistência a cada um dos IPs quando na presença de outras mutações		
L10	V/I/F/R	L10V/I ocorrem em 5-10% de indivíduos não tratados. L10F/R são mutações não polimórficas
I23	I	Mutação rara que causa baixa resistência a NFV.
L24	I	Associada a resistência a IDV e possivelmente o RTV, LPV, SQV e ATV quando presente com outras mutações
D30	N	Resistência intermédia a NFV
V32	I	Reduz a susceptibilidade a IDV, RTV, FPV, LPV, TPV e DRV.
V33	F	Seleccionada pelo FPV, DRV, LPV, ATV e TPV, podendo contribuir para resistência a estes fármacos.
M46	I	Reduz a susceptibilidade a M46I/L IDV, NFV, FPV, LPV, ATV, TPV, e possivelmente a SQV e DRV na presença de outras mutações
	L	Reduz a susceptibilidade a M46I/L IDV, NFV, FPV, LPV, ATV, TPV, e possivelmente a SQV e DRV na presença de outras mutações.
I47	A	Normalmente ocorre em combinação com a V32I e dessa forma acusa resistência elevada a LPV e FPV e provável resistência intermédia a DRV.
	V	Diminui a susceptibilidade a FPV, ATV, IDV, LPV, TPV e DRV.
G48	M	Resistência elevada a SQV e resistência intermédia a NFV, ATV, IDV e NFV.
	V	Resistência elevada a SQV, resistência intermédia a ATV e NFV e baixa resistência a IDV e LPV.
I50	L	Resistência intermédia a elevada a ATV e hipersusceptibilidade aos restantes IPs
	V	Resistência intermédia a elevada a FPV, resistência intermédia a LPV e DRV, e aumenta a susceptibilidade a TPV.
F53	L	Ocorre apenas em doentes não tratados e em combinação com outras mutações de resistência. Está associada a redução da susceptibilidade a IDV, LPV, e SQV e possivelmente a outros IPs.
I54	A	Mutação relacionada as IPs observada em doentes sob tratamento intensivo e reduz a susceptibilidade à maioria dos IPs.
	L	Reduz a susceptibilidade a FPV, LPV, DRV, NFV e possivelmente a ATV. Associada a aumento da susceptibilidade a TPV.


	M	Reduz a susceptibilidade a FPV, LPV, DRV, NFV e ATV.
	V	Contribui para resistência a cada um dos IPs (exceptuando, possivelmente, DRV) quando presente com outras mutações.
G73	S	Seleccionada e associada a diminuição da susceptibilidade a todos os IPs.
	T	Seleccionada e associada a diminuição da susceptibilidade a todos os IPs.
L76	V	Reduz a susceptibilidade a FPV, IDV, LPV e DRV e aumenta a susceptibilidade a SQV e ATV.
V82	A	Reduz a susceptibilidade a IDV e LPV. É associada, na presença de outras mutações à redução da susceptibilidade a NFV, ATV, SQV, FPV e TPV.
	F	Reduz a susceptibilidade a IDV, LPV, FPV e DRV. É associada, na presença de outras mutações à redução da susceptibilidade a NFV, ATV, SQV e TPV.
	L	Mutação rara seleccionada pelo TPV. O seu efeito nos IPs ainda não foi caracterizado
	T	Reduz a susceptibilidade a IDV, LPV e TPV. É associada, na presença de outras mutações à redução da susceptibilidade a NFV, ATV, FPV e SQN.
	S	Provável efeito similar à V82T que reduz a susceptibilidade a IDV, LPV e TPV. Na presença de outras mutações está associado à redução da susceptibilidade a NFV, ATV, FPV e SQV.
I84	A	Mutação rara que aparentemente reduz a susceptibilidade a todos os IPs.
	C	Mutação rara que aparentemente reduz a susceptibilidade a todos os IPs.
	V	Resistência intermédia a elevada a ATV, FPV, IDV, NFV, SQV e TPV e resistência baixa a intermédia a LPV e DRV.
N88	D	Baixa resistência a NFV
	S	Resistência elevada a NFV e ATV e baixa resistência a IDV. Aumenta a susceptibilidade a FPV.
L90	M	Resistência a NFV, SQV, ATV e IDV. Na presença de outras mutações compromete a actividade do FPV, LPV e TPV. Efeito desconhecido no DRV.

Quadro 5 –Mutações de resistências aos anti-retrovíricos transmitidos.

	NIRTs		NNIRTs		IPs
M41	L	L100	I	L23	I
K65	R	K101	E, P	L24	I
D67	N,G	K103	N	D30	N
T69	D,N,Ins	V106	A, M	V32	I
K70	E,R	E138	K	I47	V, A
L74	I,V	V179	F	G48	M, V
V75	T,M,S	Y181	C, I, V	I50	V, L
Y115	F	Y188	L,C	F53	L,Y
Q151	M	G190	A,S	I54	V,M,L,T,S,A
M184	V,I	P225	H	Q58	E
L210	W	M230	L	G73	S,T,C,A
T215	C,,D,E,F,V,Y,S,I	Y318	F	T74	P
K219	E,Q			L76	V
				V82	A,F,L,T,S,M
					C
				N83	D
				I84	V
				N88	D,S
				L89	V
				L90	M

Anexo 2

Aprovação da direcção do hospital da divina providência e da comissão de ética de Angola


MINISTÉRIO DA SAÚDE
DIRECÇÃO PROVINCIAL DE SAÚDE DE LUANDA
Hospital Divina Providência

Controlo do GôM - K. Kiaki - LUANDA - Tel-Fax: (02) 470781 - 470597 - E-mail: hosndp@cebnet.net

À
Dra. Sofia Vanda Loa Clemente
Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

p.c. **Dr. António Santos**
Gabinete de Doutoramento e Mestrado

Luanda, 07/08/2008

Ref.: HDP/DG/032/08

Assunto: AUTORIZAÇÃO.

Prezada Dra. Sofia Vanda,


Servimo-nos da presente para informar que, recebido o seu Projecto de Tese, o mesmo foi analisado pelo Conselho Directivo do Hospital Divina Providência; o qual manifestou satisfação pela sua intenção de realizar o referido projecto neste Hospital, bem como aprovou os documentos e procedimentos necessários para o efeito e, coloca-se a disposição para apoiar em tudo o que for necessário.

Com a presente, portanto, autorizamos a realização do seu Projecto de Tese de Mestrado, bem como a utilização dos meios necessários à realização do trabalho.

Sendo tudo o que apresentava-se para o momento, com sentimentos de elevada estima e consideração, subscrevemo-nos.

Melhores cumprimentos.

O Director Geral
Jacob Torjon
Irmão Jacob Torjon





**REPÚBLICA DE ANGOLA
MINISTERIO DA SAÚDE**

COMITE DE ÉTICA

LUANDA

Parecer do Comité de Ética sobre o Protocolo de Pesquisa intitulado: «Epidemiologia Molecular da Infecção por VIH/SIDA, em Angola, apresentado pela Investigadora Principal Dr.^a Sofia Vanda Lôa.

O Comité de Ética verificou que o Protocolo de Pesquisa é de interesse para o esclarecimento da epidemia do HIV, obedece em linhas gerais a estrutura da Investigação Científica, descreve os aspectos éticos e os benefícios que advém desta investigação, descreve satisfatoriamente a forma e protecção dos direitos e bem estar dos voluntários, pelo que não vê inconveniente que o mesmo seja realizado no País.

LUANDA, AOS 22 DE DEZEMBRO DE 2008. -

A COORDENADORA

Dr.^a Filomena Gomes da Silva
/Bióloga/
MINISTERIO DA SAÚDE, ANGOLA

Anexo 3 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADE

Nº tarefa	Actividades	2008					2009											
		Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
1	Aprovação do projecto pela Direcção Geral do Hospital Divina Providência e pela Comissão Nacional de Ética																	
2	Recolha de informação/ consultas clínicas/colheita de amostras																	
3	Processamento das amostras e análise dos resultados																	
4	Disseminação dos resultados																	

↓ ↓

1 relatório, 1 tese de mestrado, 1 artigo para submeter a revista internacional

Anexo 4

INFORMAÇÃO PARA O DOENTE E CONSENTIMENTO INFORMADO

INTRODUÇÃO

A presente informação destina-se a esclarecer o doente sobre o estudo intitulado “Epidemiologia molecular da infecção por VIH/SIDA em Angola”, o qual decorrerá nos Hospitais da Divina Providência e inclui o detalhe sobre o tipo de amostras a recolher e o respectivo escalonamento no tempo. Em caso de dúvida, ou se pretender informações adicionais sobre este estudo, peça-as, por favor, ao médico ou ao pessoal de enfermagem.

Este estudo segue as normas de Boa Prática Clínica e foi aprovado pela Direcção Geral do Hospital da Divina Providência (HDP) e pela Comissão Nacional de Ética.

INFORMAÇÃO DE BASE

É-lhe solicitado que participe neste estudo, cujo objectivo principal é avaliar se é portador de um vírus contendo mutações de resistência aos anti – retrovíricos. Os resultados deste estudo permitirão maximizar a eficácia, individual e colectiva, da terapêutica anti – retrovírica disponível em Angola.

OBJECTIVOS

Os objectivos gerais deste estudo são:

1. Determinar a prevalência de vírus resistentes aos anti – retrovíricos em doentes sem tratamento residentes em Luanda em 2008;
2. Identificar o tipo de vírus (subtipo) e de mutações de resistência mais frequentemente transmitidas;
3. Caracterizar o perfil epidemiológico, clínico e imunológico dos indivíduos infectados por vírus resistentes.

O objectivo individual deste estudo é adequar a terapêutica anti – retrovírica disponível em Angola aos doentes infectados por VIH. Concretamente, o regime terapêutico oferecido aos doentes participantes neste estudo será desenhado, na medida do possível, tendo em conta a informação gerada no que respeita às mutações de resistência determinadas neste estudo.

PROCEDIMENTOS

Participação neste estudo, nos Hospitais da Divina Providência em Luanda, cerca de xxxxxxxx de indivíduos infectados por VIH. Caso decida participar neste estudo deverá assinar, previamente, o presente consentimento. Ser-lhe-á entregue uma cópia do mesmo.

Para além dos procedimentos habituais das consultas de seguimento, ser-lhe-á feita uma picada para colheita de sangue e serão colhidos do seu processo clínico para uma folha de recolha de informação os dados demográficos, a informação clínica básica e o resultado dos estudos imunológicos.

PARTICIPAÇÃO E EXCLUSÃO

É absolutamente livre de decidir se deseja ou não fazer parte deste estudo. A sua decisão de participar (ou não) no estudo não influenciará, de forma alguma, os benefícios a que tem direito, relativamente aos seus cuidados médicos.

CONFIDENCIALIDADE

Durante o estudo, todos os dados e amostras de sangue recolhidas serão identificados por um único código. Tudo será feito no sentido de manter a confidencialidade da sua informação. O seu nome ou identificação pessoal não constarão de qualquer documento que possa relacioná-lo com os dados recolhidos.

CUSTOS E DANOS PROVENIENTES DO ESTUDO

Aos doentes ser-lhe-ão prestados os cuidados de saúde habituais, não acarretando quaisquer despesas a execução dos procedimentos deste estudo.

Caso sofra algum dano, como resultado da participação neste estudo, ser-lhe-á prestado auxílio imediato.

Obrigado por ler esta informação

O Dr. explicou-me o estudo “Epidemiologia molecular da infecção por VIH/SIDA em Angola”, para o qual me foi solicitada a minha participação, incluindo os diversos procedimentos necessários.

Li o documento (ou foi-me lido o documento) “Informação para o doente e consentimento informado” e tive oportunidade de colocar algumas questões, para as quais obtive respostas satisfatórias.

Foi-me explicado que a minha participação é feita numa base voluntária.

Foi-me explicado que, em nenhuma circunstância, seria divulgada qualquer informação que me possa identificar.

Concordo em participar no estudo “Epidemiologia molecular da infecção por VIH/SIDA em Angola”

Nome do doente

.....

Assinatura Data

____/____/____

Nome do médico

Anexos

.....

Assinatura Data
____/____/____

ANEXO 5

INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO E CLÍNICO

ESTUDO: EPI_VIH_LUANDA		Código do doente (000) _____	
Iniciais do técnico – _____		Data do preenchimento desta ficha (dd-mm-aaaa) ____/____/____	
SECÇÃO A. DEMOGRAFIA			
Data de nascimento (dd-mm-aaaa) ____/____/____		Sexo 1= masculino; 2 = feminino	
Via de infecção (x) ____(1) contacto heterossexual ____(2) transfusionado ____(3) homo/bisexual (homem) ____(4) hemofílico ____(5) toxicodependente ____(6) outra ____(7) desconhecida	Origem (x) ____(1) Angola ____(2) outro país africano ____(3) Europa ____(4) América ____(5) Ásia ____(6) desconhecida		Grupo étnico (x) ____(1) negra ____(2) asiática ____(3) branca ____(4) desconhecida
SECÇÃO B. INFORMAÇÃO CLÍNICA BÁSICA			
Altura (999 cm = desconhecida) _____ cm Peso actual (999.0 = desconhecido) _____ kg Não disponível (x) _____	Primeira consulta _____ (dd-mm-aaaa) Última consulta _____ Data do diagnóstico de SIDA _____ (se aplicável)		
SEROLOGIA DA INFECÇÃO POR VIH			
Primeira data de positividade para VIH-1	Data do teste (dd-mm-aaaa) ____/____/____		
Primeira data de positividade	____/____/____		

para VIH-2				
Seroconversão: Ac-anti-VIH1				
Ag p24				
(se aplicável) _____/_____/_____				
Virologia/Serologia	Teste mais recente			
	Data (dd-mm-aaaa)	Positiv o	Negativ o	DESCONHE- CIDO
anti-HBs	_____/_____/____	_____	_____	_____
AgHBs	_____/_____/____	_____	_____	_____
anti-VHC	_____/_____/____	_____	_____	_____

SECÇÃO C. RESULTADOS LABORATORIAIS				
	Data (dd-mm-aaaa)	Resultado	Unidade	
Hemoglobina mais recente	_____/_____/____	_____	_____	_____
Transaminase GO (ASAT) mais recente	_____/_____/____	_____	_____	_____
Transaminase GP (ALAT) mais recente	_____/_____/____	_____	_____	_____
Resultado mais baixo de células T CD4 ⁺	_____/_____/____	_____	_____	_____
Resultado de T CD4 ⁺ no início da terapêutica anti-retroviral	_____/_____/____	_____	_____	_____
Resultados mais recentes de TCD4 ⁺	Data (dd-mm-aaaa)	Resultado	Data (dd-mm-aaaa)	Resultado
	_____/_____/____	_____	_____/_____/____	_____
	_____/_____/____	_____	_____/_____/____	_____
	_____/_____/____	_____	_____/_____/____	_____
	_____	_____	_____	_____

SECÇÃO D. TRATAMENTO			Código do doente (000) _____
O doente está/ esteve medicado com HAART	Sim () ()	Não	
A doente faz/ fez prevenção com Nevirapina durante a gravidez	Sim () ()	Não	

O doente está medicado para profilaxia (profilaxia primária ou de manutenção) ou tratamento de infeções oportunistas ?		Se não, indique X
Tratamento prévio e/ou presente	Data de início (dd-mm-aaaa)	Em tratamento (se sim X)
1. PPC/TOXO		
1.1 Bactrim (cotrimoxazol)	____/____/____	____
1.2 Clindamicina	____/____/____	____
1.3 Dapsona	____/____/____	____
1.4 Pentamidina neb/inj	____/____/____	____
1.5 Pirimetamina	____/____/____	____
1.6 Sulfadiazina	____/____/____	____
1.7 Outro, especifique	____/____/____	____
_____	____	____
2. Tuberculose		
2.1 Isoniazida	____/____/____	____
2.2 Etambutol	____/____/____	____
2.3 Pirazinamida	____/____/____	____
2.4 Rifampicina	____/____/____	____
2.5 Outro, especifique	____/____/____	____
_____	____	____
3. Anti-herpético (VHS-VVZ)		
3.1 Aciclovir	____/____/____	____
3.2 Outro, especifique	____/____/____	____
_____	____	____
4. Antifúngico		
4.1 Anfotericina B, i.v.	____/____/____	____
4.2 Fluconazol	____/____/____	____
4.3 Itraconazol	____/____/____	____
4.4 Cetoconazol	____/____/____	____
4.5 Outro, especifique	____/____/____	____
_____	____	____

SECÇÃO E. INFECÇÕES AGUDAS			
	Data (dd-mm-aaaa)	Método de diagnóstico	
		Definitivo	Presuntivo
1. Síndrome viral aguda: adenopatias; febre; faringite; exantema; mialgias; diarreia; cefaleias; náuseas e vômitos; candidiase oral, emagrecimento, hepatomegalia	____/____/____	____	____
2. Linfadenopatia generalizada persistente	____/____/____	____	____
3. Infecção assintomática por VIH	____/____/____	____	____

SECÇÃO F. INFECÇÕES OPORTUNISTAS GRAVES		Código do doente (000)
1. Houve alguma infecção oportunista prévia ou nova? Se sim, complete esta secção		SE NÃO, INDIQUEX _____
	DATA DE INÍCIO (dd-mm-aaaa)	Método de diagnóstico Definitivo Presuntivo
1. Complexo demencial relacionado com SIDA	____/____/____	____
2. Pneumonia bacteriana, recorrente (≥ 2 episódios num ano)	____/____/____	____
3. Candidose esofágica	____/____/____	____
4. Criptococose, extra pulmonar	____/____/____	____ ND
5. Criptosporidiose (duração ≥ 1 mês)	____/____/____	____ ND
6. Síndrome de emaciação	____/____/____	____ ND

7. Diarreia por <i>Isospora</i> (duração > 1 mês)	____/____/____	____	ND
8. Microsporidiose (duração > 1 mês)	____/____/____	____	ND
9. Tuberculose pulmonar	____/____/____	____	ND
10. Tuberculose extrapulmonar	____/____/____	____	ND
11. Tuberculose pulmonar, outro tipo, especifique. _____	____/____/____	____	_____
12. Tuberculose extrapulmonar, outro tipo, especifique. _____	____/____/____	____	_____
13. Pneumonia por <i>Pneumocystis</i> (PCP)	____/____/____	____	_____
14. Sepsis por <i>Salmonella</i> (não-typhi) (≥ 2 episódios)	____/____/____	____	ND
15. Toxoplasmose cerebral	____/____/____	____	_____
16. Lesão cerebral focal	____/____/____	N D	_____
17. Outra infecção oportunista grave.	____/____/____	____	_____
17.1 _____	____/____/____	____	ND
17.2 _____	____/____/____	____	ND

SECÇÃO G. TUMORES

1. Houve algum tumor ?

SE NÃO, INDIQUE X _____

Se sim, complete esta secção

DATA DE INÍCIO (dd-mm-aaaa)	Método de diagnóstico Definitivo Presuntivo
---------------------------------------	---

2. Sarcoma de Kaposi	____/____/____	_____	_____
3. Outros tumores, especifique.	-	_____	
3.1			
_____	____/____/____	_____	ND
3.2			
_____	____/____/____	_____	ND
_____	-	_____	

Anexo 6

Quadro 6- Caracterização epidemiológica e clínica dos doentes angolanos incluídos neste estudo

Código	Idade	Género	Via de transmissão	Patologias associadas	CD4
08AGHDP01	33	F	Heterossexual	-	164
08AGHDP02	30	F	Heterossexual	-	874
08AGHDP04	22	F	Heterossexual	-	198
08AGHDP05	42	F	Heterossexual	-	49
08AGHDP06	46	F	Heterossexual	-	119
08AGHDP07	51	F	Heterossexual	¹ OMA	215
08AGHDP08	46	F	Heterossexual	Disenteria bacilar/ <i>E.histolítica</i>	-
08AGHDP09	42	M	Heterossexual	TB+Anemia/ <i>Schist.mansoni</i>	78
08AGHDP10	6	F	Vertical	Piodermite	893
08AGHDP11	36	M	Heterossexual	TB, Hepatite B	95
08AGHDP12	26	M	Heterossexual	Hepatite B	847
08AGHDP13	25	F	Heterossexual	TB pulmonar	147
08AGHDP14	49	F	Heterossexual	Hepatite B/2HTA	277
08AGHDP15	36	F	Heterossexual	TB pulmonar	129
08AGHDP16	26	F	Heterossexual	-	270
08AGHDP17	9	M	Transusão	Pneumonia bacteriana	293
08AGHDP18	39	F	Heterossexual	Diarreia recorrente	288
08AGHDP19	4	F	Vertical	3MNCP+BPN	694
08AGHDP20	26	F	Heterossexual	-	810
08AGHDP21	40	F	Heterossexual	Dermatite pruriginosa	80
08AGHDP22	31	F	Heterossexual	-	605
08AGHDP23	42	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP24	20	F	Heterossexual	HepatiteB	210
08AGHDP25	31	F	Heterossexual	HepatiteB	661
08AGHDP26	33	F	Heterossexual	-	137
08AGHDP27	7	F	Vertical	TB pulmonar	186
08AGHDP28	24	F	Heterossexual	Hepatite B	302
08AGHDP29	35	F	Heterossexual	4PNI	148
08AGHDP30	1	M	Vertical	-	208
08AGHDP31	32	F	Heterossexual	-	209
08AGHDP32	11	F	Vertical	-	284
08AGHDP33	40	M	Heterossexual	-	208
08AGHDP34	43	M	Heterossexual	Artrite joelho	322
08AGHDP35	41	F	Heterossexual	Herpes zooster	677
08AGHDP36	27	F	Heterossexual	-	586

Anexos

08AGHDP37	36	F	Heterossexual	TB pulmonar	245
08AGHDP38	29	F	Heterossexual	Hepatite B	119
08AGHDP39	33	F	Heterossexual	Herpes zooster	618
08AGHDP40	37	F	Heterossexual	-	595
08AGHDP41	41	M	Heterossexual	TB pulmonar	-
08AGHDP42	41	M	Heterossexual	-	183
08AGHDP43	24	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP44	1	M	Vertical	OMA	1105
08AGHDP45	39	F	Heterossexual	-	666
08AGHDP46	23	M	Heterossexual	TB pulmonar	-
08AGHDP47	28	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP48	9	F	Transfusão	TB pulmonar	227
08AGHDP49	35	M	Heterossexual	TB pulmonar	117
08AGHDP50	45	M	Heterossexual	Herpes zooster	326
08AGHDP51	30	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP52	44	F	Heterossexual	-	218
08AGHDP53	45	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP54	29	F	Heterossexual	Pericardite + TB	239
08AGHDP55	42	F	Heterossexual	-	206
08AGHDP56	34	F	Heterossexual	Hepatite B	545
08AGHDP57	42	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP58	37	F	Heterossexual	-	440
08AGHDP59	7	F	Vertical	TB pulmonar	790
08AGHDP60	28	F	Heterossexual	-	214
08AGHDP61	42	M	Heterossexual	TB pulmonar	109
08AGHDP62	35	F	Heterossexual	TB pulmonar	35
08AGHDP63	42	M	Heterossexual	TB pulmonar	97
08AGHDP64	45	F	Heterossexual	TB pulmonar+Anemia	264
08AGHDP65	6	F	Vertical	Enterite/ <i>Hymenolepis nana</i>	-
08AGHDP66	37	M	Heterossexual	-	272
08AGHDP67	38	M	Heterossexual	TB pulmonar	-
08AGHDP68	23	F	Heterossexual	Hepatite B	265
08AGHDP69	-	-	-	-	-
08AGHDP70	34	F	Heterossexual	-	421
08AGHDP71	41	F	Heterossexual	-	256
08AGHDP72	47	F	Heterossexual	-	270
08AGHDP73	34	F	Heterossexual	Dermatite pruriginosa	96
08AGHDP74	69	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP75	27	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP77	40	F	Heterossexual	TB pulmonar	86
08AGHDP78	30	F	Heterossexual	-	168
08AGHDP79	3	F	Vertical	Hepatite B+ Anemia/parasitoses	519

Anexos

08AGHDP80	25	F	Heterossexual	-	355
08AGHDP81	36	F	Heterossexual	TB pulmonar	209
08AGHDP82	2	M	Vertical	-	-
08AGHDP83	33	M	Heterossexual	-	514
08AGHDP84	2	M	Vertical	TB pulmonar+ Anemia	785
08AGHDP85	31	F	Heterossexual	Hepatite B+Sifilis	620
08AGHDP86	2	M	Vertical	5MKW+ Anemia	950
08AGHDP87	22	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP88	34	F	Heterossexual	-	397
08AGHDP89	35	F	Heterossexual	Anemia	F
08AGHDP90	33	F	Heterossexual	-	658
08AGHDP91	5	F	Vertical	-	916
08AGHDP92	30	F	Heterossexual	TB pulmonar + Anemia	34
08AGHDP93	31	F	heterossexual	Anemia	106
08AGHDP94	35	M	Heterossexual	PNI	185
08AGHDP95	42	M	Heterossexual	6SK	278
08AGHDP96	24	F	Heterossexual	Derrame pleural + Anemia	-
08AGHDP97	45	M	Heterossexual	-	446
08AGHDP98	32	F	Heterossexual	Foliculite vulvar	221
08AGHDP99	11	F	Vertical	-	500
08AGHDP100	39	F	Heterossexual	TB pulmonar, Hepatite B, Anemia	56
08AGHDP101	34	F	Heterossexual	-	208
08AGHDP102	27	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP103	38	M	Heterossexual	-	181
08AGHDP104	28	F	Heterossexual	TB pulmonar	-
08AGHDP105	32	M	Heterossexual	TB pulmonar	19
08AGHDP106	2	M	Vertical	TB pulmonar	-
08AGHDP107	28	F	Heterossexual	-	618
08AGHDP108	38	F	Heterossexual	-	911
08AGHDP109	27	F	Heterossexual	Hepatite B	242
08AGHDP110	26	F	Heterossexual	Anemia	190
08AGHDP111	43	F	Heterossexual	Anemia	1
08AGHDP112	25	F	Heterossexual	Hepatite B	388
08AGHDP113	34	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP114	2	M	Vertical	MNCP	653
08AGHDP115	26	F	Heterossexual	Hepatite B	434
08AGHDP116	34	F	Heterossexual	Artrite	265
08AGHDP117	36	F	Heterossexual	TB pulmonar	727
08AGHDP118	30	F	Heterossexual	-	393
08AGHDP119	28	F	Heterossexual	Anemia	184
08AGHDP120	28	F	Heterossexual	Anemia	897
08AGHDP121	31	F	Heterossexual	Anemia	569

Anexos

08AGHDP122	46	M	Heterossexual	Hepatite B	-
08AGHDP123	37	F	Heterossexual	Esterilidade	640
08AGHDP124	31	F	Heterossexual	Anemia	117
08AGHDP125	20	F	Heterossexual	-	306
08AGHDP126	44	M	Heterossexual	-	473
08AGHDP127	33	M	Heterossexual	Anemia	111
08AGHDP128	39	F	Heterossexual	Candidiase orofaringe	956
08AGHDP129	42	F	Heterossexual	-	38
08AGHDP130	24	F	Heterossexual	Esterilidade, anemia	134
08AGHDP131	37	M	Heterossexual	-	272
08AGHDP132	31	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP133	32	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP134	28	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP135	36	F	Heterossexual	TB pulmonar	454
08AGHDP136	27	F	Heterossexual	-	325
08AGHDP137	33	F	Heterossexual	TB pulmonar, Herpes zooster (torax)	-
08AGHDP138	2	F	Vertical	Furunculose	620
08AGHDP139	25	M	Heterossexual	TB Pulmonar	121
08AGHDP140	53	M	Heterossexual	-	738
08AGHDP141	28	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP142	52	F	Heterossexual	Hepatite B	460
08AGHDP143	33	F	Heterossexual	-	359
08AGHDP144	23	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP145	32	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP146	4	M	Vertical	-	-
08AGHDP147	39	F	Heterossexual	-	248
08AGHDP148	31	F	Heterossexual	-	263
08AGHDP149	30	F	Heterossexual	-	156
08AGHDP150	29	F	Heterossexual	-	113
08AGHDP151	20	F	Heterossexual	-	464
08AGHDP152	48	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP153	20	F	Heterossexual	-	585
08AGHDP154	20	F	Heterossexual	Candidíase vaginal	313
08AGHDP155	40	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP156	49	F	Heterossexual	-	34
08AGHDP157	50	M	Heterossexual	-	56
08AGHDP158	22	F	Heterossexual	TB pulmonar	-
08AGHDP159	39	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP160	40	F	Heterossexual	Herpes zooster	212
08AGHDP161	50	F	Heterossexual	Abcesso intergluteo, sinusite	392
08AGHDP162	28	M	Heterossexual	-	-

Anexos

08AGHDP163	50	M	Heterossexual	TB pulmonar	390
08AGHDP164	16	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP165	38	F	Heterossexual	TB pulmonar, Hepatite B	228
08AGHDP166	26	F	Heterossexual	-	402
08AGHDP167	28	M	Heterossexual	Candidiase orafarínica	137
08AGHDP168	24	F	Heterossexual	Anemia	87
08AGHDP169	22	M	Heterossexual	Anemia	106
08AGHDP170	31	M	Heterossexual	TB pulmonar	800
08AGHDP171	45	F	Heterossexual	Anemia	-
08AGHDP172	34	F	Heterossexual	-	330
08AGHDP173	46	M	Heterossexual	PNI	505
08AGHDP174	46	M	Heterossexual	Hepatite B	505
08AGHDP175	21	F	Heterossexual	TB pulmonar, Anemia	488
08AGHDP176	29	F	Heterossexual	TB pulmonar	-
08AGHDP177	29	F	Heterossexual	-	706
08AGHDP178	31	F	Heterossexual	TB pulmonar	-
08AGHDP179	-	-	-	-	-
08AGHDP180	29	F	Heterossexual	Abcesso dentário, poliomiosite, Anemia	97
08AGHDP181	19	F	Heterossexual	TB pulmonar	-
08AGHDP182	33	F	Heterossexual	TB pulmonar, Anemia	-
08AGHDP183	56	M	Heterossexual	TB pulmonar	-
08AGHDP184	45	M	Heterossexual	TB pulmonar Anemia	58
08AGHDP185	35	M	Heterossexual	Herpes zooster(toráx)	424
08AGHDP186	26	F	Heterossexual		-
08AGHDP187	49	M	Heterossexual	Gastrite/ Helicobacter pylori	619
08AGHDP188	37	F	Heterossexual	Hepatite B, anemia	274
08AGHDP189	40	F	Heterossexual	-	340
08AGHDP190	31	M	Heterossexual	TB pulmonar	18
08AGHDP191	29	F	Heterossexual	TB pulmonar	204
08AGHDP192	41	F	Heterossexual	TB pulmonar	248
08AGHDP193	24	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP194	41	M	Heterossexual	-	269
08AGHDP195	12	F	Transfusão	TB pulmonar, anemia	34
08AGHDP196	28	F	Heterossexual	-	660
08AGHDP197	39	F	Heterossexual	TB pulmonar, anemia	37
08AGHDP198	27	F	Heterossexual	-	737
08AGHDP199	27	F	Heterossexual	Anemia	402
08AGHDP200	39	M	Heterossexual	-	151
08AGHDP201	57	M	Heterossexual	-	35

Anexos

08AGHDP202	27	F	Heterossexual	Anemia	315
08AGHDP203	29	F	Heterossexual	-	419
08AGHDP204	2	F	Vertical	-	1319
08AGHDP205	30	F	Heterossexual	DDA/Anemia	85
08AGHDP206	30	F	Heterossexual	Herpes zooster	196
08AGHDP207	39	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP208	38	F	Heterossexual	-	267
08AGHDP209	31	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP210	29	F	Heterossexual	-	429
08AGHDP211	27	F	Heterossexual	-	361
08AGHDP212	27	F	Heterossexual	-	43
08AGHDP213	32	M	Heterossexual	-	360
08AGHDP214	-		Heterossexual	Hepatite B	577
08AGHDP215	48	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP216	25	F	Heterossexual	SK	479
08AGHDP217	32	F	Heterossexual	-	130
08AGHDP218	5	M	Vertical	OMA	503
08AGHDP219	3	M	Vertical	MNCP;TB pulmonar	12
08AGHDP220	14	F	Vertical	TB pulmonar	18
08AGHDP221	20	F	Heterossexual	-	411
08AGHDP222	24	F	Heterossexual	TB pulmonar	483
08AGHDP223	2	M	Vertical	TB pulmonar Anemia	594
08AGHDP225	53	F	Heterossexual	TB pulmonar Anemia	-
08AGHDP226	-	F	-	-	-
08AGHDP227	23	M	Heterossexual	PNI, Anemia Severa	-
08AGHDP228	48	F	Heterossexual	PNI, Anemia moderada	-
08AGHDP229	49	F	Heterossexual	Neuropatia periférica	-
08AGHDP230	37	M	Heterossexual	TB pulm., Anemia moderada	278
08AGHDP231	21	F	Heterossexual	-	601
08AGHDP232	25	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP233	29	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP234	-	-	-	-	-
08AGHDP235	-	-	-	-	-
08AGHDP236	39	F	Heterossexual	-	443
08AGHDP237	32	F	Heterossexual	Anemia severa	73
08AGHDP238	7	M	Vertical	7LAGP	364
08AGHDP239	5	M	Vertical	OMA	605
08AGHDP240	26	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP241	34	M	Heterossexual	-	232
08AGHDP242	38	M	Heterossexual	HTA	F
08AGHDP243	28	F	Heterossexual	-	-

Anexos

08AGHDP244	14	N	Heterossexual	TB pulmonar	286
08AGHDP245	19	F	Heterossexual	Inf. urinária	239
08AGHDP246	3	M	Vertical	Dermatite	482
08AGHDP247	31	F	Heterossexual	-	184
08AGHDP248	25	F	Heterossexual	-	211
08AGHDP249	8	F	Vertical	Anem. Moderada	445
08AGHDP250	38	F	Heterossexual	-	315
08AGHDP251	48	M	Heterossexual	Sífilis	623
08AGHDP252	49	M	Heterossexual	Hepatite	274
08AGHDP253	32	F	Heterossexual	-	555
08AGHDP254	1	M	Vertical	DDA	1398
08AGHDP255	32	F	Heterossexual	-	226
08AGHDP256	25	F	Heterossexual	-	224
08AGHDP257	25	M	Heterossexual	-	435
08AGHDP258	2	M	Heterossexual	PNI Dta	1914
08AGHDP259	40	M	Heterossexual	-	165
08AGHDP260	51	M	Heterossexual	PNI, SK	264
08AGHDP261	36	M	Heterossexual	-	355
08AGHDP262	36	M	Heterossexual	-	467
08AGHDP263	30	F	Heterossexual	-	242
08AGHDP264	31	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP265	30	F	Heterossexual	Hepatite, Anemia severa	3
08AGHDP266	22	F	Heterossexual	-	30
08AGHDP267	37	M	Heterossexual	PNI	12
08AGHDP268	20	F	Heterossexual	Hepatite, Anemia severa	18
08AGHDP269	32	M	Heterossexual	TB pulmonar	78
08AGHDP270	43	M	Heterossexual	-	645
08AGHDP271	45	F	Heterossexual	-	381
08AGHDP272	30	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP273	28	M	Heterossexual	-	787
08AGHDP274	32	M	Heterossexual	TB pulmonar	456
08AGHDP275	38	F	Heterossexual	Hepatite	530
08AGHDP276	34	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP277	31	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP278	30	F	Heterossexual	-	27
08AGHDP279	48	M	Heterossexual	-	-
08AGHDP280	4	M	Vertical	LAGP	-
08AGHDP281	30	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP282	30	F	Heterossexual	-	536
08AGHDP283	26	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP284	37	F	Heterossexual	-	208
08AGHDP285	26	F	Heterossexual	-	785

Anexos

08AGHDP286	39	F	Heterossexual	-	494
08AGHDP287	34	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP288	31	F	Heterossexual	-	-
08AGHDP289	23	F	Heterossexual	Hepatite	-
08AGHDP290	28	M	Heterossexual	-	125
08AGHDP291	27	F	Heterossexual	Anemia Moderada	-
08AGHDP292	30	M	Heterossexual	-	123
08AGHDP293	39	F	Heterossexual	TB pulmonar	234
08AGHDP294	41	F	Heterossexual	Hepatite, TB pulmonar	175
08AGHDP295	46	M	Heterossexual	Hepatite	-
08AGHDP297	45	M	Heterossexual	-	117
08AGHDP298	27	F	Heterossexual	-	269
08AGHDP299	36	F	Heterossexual	-	342
08AGHDP300	22	M	Heterossexual	-	604
08AGHDP301	-	-	-	-	-
08AGHDP302	38	-	Heterossexual	-	542
08AGHDP303	-	-	-	-	-
08AGHDP304	5	M	Vertical	TB pulmonar	-

(1) OMA- Otite Media Aguda; (2) HTA- hipertensão arterial; (3) MNCP-Má nutrição calórico-proteica; (4) PNI-Pneumonia inflamatória ; (5) MKW- marasmo Kwashiokor; (6) SK- sarcoma de Kaposi; (7) LAGP-linfoadenopatia generalizada;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, Weisman JD, Fan PT, Wolf RA, et al. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. N Engl J Med 1981;305(24):1425-31.
2. Quinn TC. Global burden of the HIV pandemic. Lancet 1996;348(9020):99-106.
3. UNAIDS. Epidemiological Fact Sheets on HIV and AIDS. Core data on epidemiology and response. Angola. 2008 Update. 2008 [cited 2008 October 14]; Available from:
http://www.who.int/globalatlas/predefinedReports/EFS2008/full/EFS2008_AO.pdf
4. Levy J. HIV the pathogenesis of AIDS. Washington: ASM press; 1998.
5. Levy J, Fraaenkel-Conrat H, R. O. Virology 3rd edition ed. New Jersey: Prentice Hall Inc; 1994.
6. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 1983;220(4599):868-71.
7. Corbett EL, Steketee RW, ter Kuile FO, Latif AS, Kamali A, Hayes RJ. HIV-1/AIDS and the control of other infectious diseases in Africa. Lancet 2002;359(9324):2177-87.
8. Creese A, Floyd K, Alban A, Guinness L. Cost-effectiveness of HIV/AIDS interventions in Africa: a systematic review of the evidence. Lancet 2002;359(9318):1635-43.
9. Bennett DE, Myatt M, Bertagnolio S, Sutherland D, Gilks CF. Recommendations for surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment. Antivir Ther 2008;13 Suppl 2:25-36.

Referências Bibliográficas

10. Hoffmann C, Wolf E, Fatkenheuer G, Buhk T, Stoehr A, Plettenberg A, et al. Response to highly active antiretroviral therapy strongly predicts outcome in patients with AIDS-related lymphoma. *AIDS* 2003;17(10):1521-9.
11. Stover J, Walker N, Garnett GP, Salomon JA, Stanecki KA, Ghys PD, et al. Can we reverse the HIV/AIDS pandemic with an expanded response? *Lancet* 2002;360(9326):73-7.
12. Taveira N, Borrego P, Bártolo N. *Biologia molecular do VIH*. In: Antunes F, editor. *Manual sobre SIDA: Permanyer Portugal*; 2008.
13. <http://static.hsw.com.br/gif/aids-hiv-anatomy.gif>. In.
14. hivmedicine.aidsportugal.com/.../image004.jpghivmedicine.aidsportugal.com/03_Pathophys.php. In.
15. Kestler HW, 3rd, Ringler DJ, Mori K, Panicali DL, Sehgal PK, Daniel MD, et al. Importance of the nef gene for maintenance of high virus loads and for development of AIDS. *Cell* 1991;65(4):651-62.
16. Moniz-Pereira J, Taveira N. *Diversidade genética e evolução dos vírus de imunodeficiência humana*. Portugal: Permanyer Portugal; 2001.
17. Buonaguro L, Tornesello ML, Buonaguro FM. Human immunodeficiency virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications. *J Virol* 2007;81:10209-10219.
18. Zhang M, Foley B, Schultz AK, Macke JP, Bulla I, Stanke M, et al. The role of recombination in the emergence of a complex and dynamic HIV epidemic. *Retrovirology*;7:25.
19. Plantier JC, Leoz M, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, Leme V, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med* 2009;15(8):871-2.
20. Buonaguro L, Tornesello ML, Buonaguro FM. Human immunodeficiency virus type 1

- subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications. *J Virol* 2007;81(19):10209-19.
21. Martins HC. Distribuição mundial dos genótipos(epidemiologia molecular de VIH). In: Antunes F, editor. Manual sobre SIDA. Portugal: Permanyer Portugal; 2008. p. 87-100.
22. Jacobs GB, Loxton AG, Laten A, Robson B, van Rensburg EJ, Engelbrecht S. Emergence and diversity of different HIV-1 subtypes in South Africa, 2000-2001. *J Med Virol* 2009;81(11):1852-9.
23. Bartolo I, Casanovas J, Bastos R, Rocha C, Abecasis AB, Folgosa E, et al. HIV-1 genetic diversity and transmitted drug resistance in health care settings in Maputo, Mozambique. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;51(3):323-31.
24. Bartolo I, Rocha C, Bartolomeu J, Gama A, Marcelino R, Fonseca M, et al. Highly divergent subtypes and new recombinant forms prevail in the HIV/AIDS epidemic in Angola: New insights into the origins of the AIDS pandemic. *Infect Genet Evol* 2009;9:672-682. .
25. Baker CA, Bousheri S, Ssewanyana I, Jones NG, K'Aluoch O, Baliruno D, et al. HIV Subtypes Distribution and Implication for Antiretroviral Treatment in a Ugandan Population. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic Ill)* 2007;6(4):260-3.
26. McCutchan FE. Global epidemiology of HIV. *J Med Virol* 2006;78 Suppl 1:S7-S12.
27. Bikandou B, Takehisa J, Mboudjeka I, Ido E, Kuwata T, Miyazaki Y, et al. Genetic subtypes of HIV type 1 in Republic of Congo. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000;16(7):613-9.
28. Mokili JL, Wade CM, Burns SM, Cutting WA, Bopopi JM, Green SD, et al. Genetic heterogeneity of HIV type 1 subtypes in Kimpese, rural Democratic Republic of Congo. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1999;15(7):655-64.
29. WHO. Rapid advice. Antiretroviral therapy for HIV infection in adults and

adolescents. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2009 2009.

30. HIV Sequence Database. In: Los Alamos National Laboratory; 2009.

31. WHO. Towards universal access: scaling up priority HIV/AIDS interventions in the health sector. Progress Report 2008. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2008.

32. WHO. Report on the global HIV/AIDS epidemic 2008: executive summary. Geneva, Switzerland; 2008.

33. Langford SE, Ananworanich J, Cooper DA. Predictors of disease progression in HIV infection: a review. *AIDS Res Ther* 2007;4:11.

34. WHO. Priority interventions- HIV/AIDS prevention, treatment and care in the health sector. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2009.

35. Gilks CF, Crowley S, Ekpini R, Gove S, Perriens J, Souteyrand Y, et al. The WHO public-health approach to antiretroviral treatment against HIV in resource-limited settings. *Lancet* 2006;368(9534):505-10.

36. Popp D, Fisher JD. First, do no harm: a call for emphasizing adherence and HIV prevention interventions in active antiretroviral therapy programs in the developing world. *AIDS* 2002;16(4):676-8.

37. Wadman M. Experts clash over likely impact of cheap AIDS drugs in Africa. *Nature* 2001;410(6829):615-6.

38. Ivers LC, Kendrick D, Doucette K. Efficacy of antiretroviral therapy programs in resource-poor settings: a meta-analysis of the published literature. *Clin Infect Dis* 2005;41(2):217-24.

39. Sow PS, Otieno LF, Bissagnene E, Kityo C, Bennink R, Clevenbergh P, et al. Implementation of an antiretroviral access program for HIV-1-infected individuals in resource-limited settings: clinical results from 4 African countries. *J Acquir Immune Defic*

Syndr 2007;44(3):262-7.

40. Wools-Kaloustian K, Kimaiyo S, Diero L, Siika A, Sidle J, Yiannoutsos CT, et al.

Viability and effectiveness of large-scale HIV treatment initiatives in sub-Saharan Africa: experience from western Kenya. *AIDS* 2006;20(1):41-8.

41. Ferradini L, Jeannin A, Pinoges L, Izopet J, Odhiambo D, Mankhambo L, et al.

Scaling up of highly active antiretroviral therapy in a rural district of Malawi: an effectiveness assessment. *Lancet* 2006;367(9519):1335-42.

42. Mills EJ, Nachega JB, Buchan I, Orbinski J, Attaran A, Singh S, et al. Adherence to antiretroviral therapy in sub-Saharan Africa and North America: a meta-analysis. *Jama* 2006;296(6):679-90.

43. Cozzi-Lepri A, Phillips AN, Ruiz L, Clotet B, Loveday C, Kjaer J, et al. Evolution of drug resistance in HIV-infected patients remaining on a virologically failing combination antiretroviral therapy regimen. *AIDS* 2007;21(6):721-32.

44. Eron JJ, Jr., Bartlett JA, Santana JL, Bellos NC, Johnson J, Keller A, et al.

Persistent antiretroviral activity of nucleoside analogues after prolonged zidovudine and lamivudine therapy as demonstrated by rapid loss of activity after discontinuation. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;37(5):1581-3.

45. Doroana M. Nucleósidos inibidores da transcriptase reversa. In: Antunes F, editor. *Manual sobre SIDA*. 3ª edição ed. Lisboa: Permanyer Portugal; 2008. p. 335-348.

46. Doroana M. Não-nucleósidos inibidores da transcriptase reversa. In: Antunes F, editor. *Manual sobre SIDA*. 3ª edição ed. Portugal: Permanyer Portugal; 2008. p. 349-358.

47. Ntemgwa ML, d'Aquin Toni T, Brenner BG, Camacho RJ, Wainberg MA.

Antiretroviral drug resistance in human immunodeficiency virus type 2. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(9):3611-9.

48. Doroana M. Inibidores da protease. In: Antunes F, editor. *Manual sobre SIDA*. 3ª

edição ed. Portugal: Permanyer Portugal; 2008. p. 363-398.

49. Doroana M. Inibidores de entrada. In: Antunes F, editor. Manual sobre SIDA. 3ª edição ed. Portugal: Permanyer Portugal; 2008. p. 399-412.

50. Oldfield V, Keating GM, Plosker G. Enfuvirtide: a review of its use in the management of HIV infection. *Drugs* 2005;65(8):1139-60.

51. Perry CM. Maraviroc: a review of its use in the management of CCR5-tropic HIV-1 infection. *Drugs*;70(9):1189-213.

52. Lobritz M, Ratcliff A, Arts E. HIV-1 Entry, Inhibitors, and Resistance *Viruses* 2010;2:1069-1105.

53. Doroana M. Inibidores da integrase. In: Antunes F, editor. Manual sobre SIDA. 3ª edição ed. Portugal: Permanyer Portugal; 2008. p. 413-416.

54. Dau B, Holodniy M. Novel targets for antiretroviral therapy: clinical progress to date. *Drugs* 2009;69(1):31-50.

55. Mansinho K. Toxicidade aos antiretrovÍricos. In: Antunes F, editor. Manual sobre SIDA. 3ª edição ed. Lisboa: Permanyer Portugal; 2008. p. 457-472.

56. Bangsberg DR. Preventing HIV antiretroviral resistance through better monitoring of treatment adherence. *J Infect Dis* 2008;197 Suppl 3:S272-8.

57. Bangsberg DR, Kroetz DL, Deeks SG. Adherence-resistance relationships to combination HIV antiretroviral therapy. *Curr HIV/AIDS Rep* 2007;4(2):65-72.

58. Cruz J. Farmacologia dos antiretrovÍricos e interações medicamentosas. In: Antunes F, editor. Manual sobre SIDA. 3ª edição ed. Lisboa: Permanyer Portugal; 2008. p. 309-334.

59. Camacho R. Resistência aos antiretrovÍricos. In: Antunes F, editor. Manual sobre SIDA. 3ª edição ed. Lisboa: Permanyer Portugal; 2008. p. 441-456.

60. Camacho RJ, Vandamme AM. Antiretroviral resistance in different HIV-1 subtypes:

impact on therapy outcomes and resistance testing interpretation. *Curr Opin HIV AIDS* 2007;2(2):123-9.

61. UNAIDS. Epidemiological Fact Sheets on HIV and AIDS. Core data on epidemiology and response. Democratic Republic of Congo. 2008 Update. 2008 [cited 2008 October 14]; Available

from: http://www.who.int/globalatlas/predefinedReports/EFS2008/full/EFS2008_CD.pdf

62. UNAIDS. Angola - Country Progress Report. UNGASS Report 2007. 2008 [cited 2008 October 14]; Available from:

http://data.unaids.org/pub/Report/2008/angola_2008_country_progress_report_pt.pdf

63. WHO. Angola, HIV/AIDS Treatment. 2005 [cited 2008 Nov 24]; Available from:

http://www.who.int/hiv/HIVCP_AGO.pdf

64. INLCS. Relatório das actividades do INLS do I Semestre. In. Luanda-Angola: Instituto Nacional de Luta Contra a SIDA; 2009.

65. Garrido C, Zahonero N, Fernandes D, Serrano D, Silva AR, Ferraria N, et al. Subtype variability, virological response and drug resistance assessed on dried blood spots collected from HIV patients on antiretroviral therapy in Angola. *J Antimicrob Chemother* 2008;61(3):694-8.

66. Bartolo I, Epalanga M, Bartolomeu J, Fonseca M, Mendes A, Gama A, et al. High genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 in Angola. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2005;21(4):306-10.

67. Abecasis A, Paraskevis D, Epalanga M, Fonseca M, Burity F, Bartolomeu J, et al. HIV-1 genetic variants circulation in the North of Angola. *Infect Genet Evol* 2005;5(3):231-7.

68. Bartolo I, Rocha C, Bartolomeu J, Gama A, Fonseca M, Mendes A, et al. Antiretroviral drug resistance surveillance among treatment-naive human

immunodeficiency virus type 1-infected individuals in Angola: evidence for low level of transmitted drug resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(7):3156-8.

69. Geretti AM. Epidemiology of antiretroviral drug resistance in drug-naive persons. *Curr Opin Infect Dis* 2007;20(1):22-32.

70. Bennett DE, Bertagnolio S, Sutherland D, Gilks CF. The World Health Organization's global strategy for prevention and assessment of HIV drug resistance. *Antivir Ther* 2008;13 Suppl 2:1-13.

71. DPS. Relatório do 2º conselho Consultivo da direcção Provincial de Saúde de Luanda, Maio 2009. Luanda Angola: Direcção Provincial de Saúde 2009.

72. HDP. Relatório estatístico do Hospital Divina Providência dos anos de 2005-2006. Luanda- Angola: Hospital Divina Providência; 2007.

73. Shafer RW. Stanford HIV Drug Resistance Database. In: Stanford University, USA; 2008.

74. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, Kuritzkes DR, Fleury H, Kiuchi M, et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One* 2009;4(3):e4724.

75. Shafer RW, Rhee SY, Bennett DE. Consensus drug resistance mutations for epidemiological surveillance: basic principles and potential controversies. *Antivir Ther* 2008;13 Suppl 2:59-68.

76. Shafer RW, Rhee SY, Pillay D, Miller V, Sandstrom P, Schapiro JM, et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS* 2007;21(2):215-23.

77. Phillips AN, Lampe FC, Smith CJ, Geretti AM, Rodger A, Lodwick RK, et al. Ongoing changes in HIV RNA levels during untreated HIV infection: implications for CD4 cell count depletion. *Aids*.

78. Swaminathan S, Padmapriyadarsini C, Narendran G. HIV-associated tuberculosis: clinical update. *Clin Infect Dis*;50(10):1377-86.
79. WHO. Scaling up antiretroviral therapy in resource-limited settings: treatment guidelines for a public health approach, 2003 revision. 2004 [cited 2008 May 6 2008]; Available from: http://www.who.int/hiv/pub/prev_care/en/arvrevision2003en.pdf
80. Bartolo I, Rocha C, Bartolomeu J, Gama A, Marcelino R, Fonseca M, et al. Highly divergent subtypes and new recombinant forms prevail in the HIV/AIDS epidemic in Angola: new insights into the origins of the AIDS pandemic. *Infect Genet Evol* 2009;9(4):672-82.
81. Tan Y, Chan D, Chan D, Ip PK, Lam C, Fong NY, et al. High Genetic Diversity Of Hiv-1 Viruses In Macao, China. *J Infect*.
82. Liao H, Tee KK, Hase S, Uenishi R, Li XJ, Kusagawa S, et al. Phylodynamic analysis of the dissemination of HIV-1 CRF01_AE in Vietnam. *Virology* 2009;391(1):51-6.
83. Guo D, Ding N, Xu Y, Guo H, Wei JF, Wang JH, et al. Near full-length genome characterization of an HIV-1 CRF01_AE strain in Jiangsu, China: evidence of two independent introductions from Fujian. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009;25(6):619-23.
84. Chen JH, Wong KH, Li P, Chan KC, Lee MP, Lam HY, et al. Molecular epidemiological study of HIV-1 CRF01_AE transmission in Hong Kong. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;51(5):530-5.
85. Deng W, Fu P, Bao L, Vidal N, He Q, Qin C, et al. Molecular epidemiological tracing of HIV-1 outbreaks in Hainan island of southern China. *Aids* 2009;23(8):977-85.
86. Zhang X, Li S, Li X, Li X, Xu J, Li D, et al. Characterization of HIV-1 subtypes and viral antiretroviral drug resistance in men who have sex with men in Beijing, China. *Aids* 2007;21 Suppl 8:S59-65.
87. Liu J, Yue J, Wu S, Yan Y. Polymorphisms and drug resistance analysis of HIV-1

Referências Bibliográficas

CRF01_AE strains circulating in Fujian Province, China. Arch Virol 2007;152(10):1799-805.

88. Zhang Y, Lu L, Ba L, Liu L, Yang L, Jia M, et al. Dominance of HIV-1 subtype CRF01_AE in sexually acquired cases leads to a new epidemic in Yunnan province of China. PLoS Med 2006;3(11):e443.

89. Tran TT, Maljkovic I, Swartling S, Phung DC, Chiodi F, Leitner T. HIV-1 CRF01_AE in intravenous drug users in Hanoi, Vietnam. AIDS Res Hum Retroviruses 2004;20(3):341-5.

90. Granich R, Crowley S, Vitoria M, Lo YR, Souteyrand Y, Dye C, et al. Highly active antiretroviral treatment for the prevention of HIV transmission. J Int AIDS Soc;13(1):1.

91. WHO. Priority interventions- HIV/AIDS prevention, treatment and care in the health sector Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2009.