

# CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E EPIDEMIOLÓGICA DO HIV EM PESSOAS PRIVADAS DE LIBERDADE DO PRESÍDIO CENTRAL DE PORTO ALEGRE: DIVERSIDADE VIRAL E CADEIAS DE TRANSMISSÃO

Brunna M. Alves (IC) \*<sup>1,2</sup>, Isabel Prellwitz \*<sup>1,2</sup>, Maria L. Ikeda<sup>3</sup>, Daniele Kuhleis<sup>4</sup>, Pedro Picon<sup>5</sup>, Alexandra Sanchez<sup>6,7</sup>, Hector N. Seuanez<sup>1</sup>, Bernard Larouze<sup>6,8,9</sup>, Marcelo A. Soares<sup>1,10</sup>, Esmeralda A. Soares<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Genética, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; <sup>3</sup>Secretaria de Saúde de Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil; <sup>4</sup>Secretaria de Segurança Pública, Porto Alegre, Brasil; <sup>5</sup>Hospital Sanatório Partenon, Porto Alegre, Brasil; <sup>6</sup>Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil; <sup>7</sup>Secretaria de Estado de Administração Penitenciária, Rio de Janeiro, Brasil; <sup>8</sup>INSERM U707, Paris, França; <sup>9</sup>Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Paris, França; <sup>10</sup>Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; \*Estes autores tiveram a mesma contribuição neste trabalho

## INTRODUÇÃO

Pouco se sabe sobre a situação das pessoas privadas de liberdade (PPL) portadores de HIV/Aids no Brasil, um tema pouco abordado nos trabalhos científicos. As PPL estão freqüentemente expostas a condições favoráveis à disseminação do HIV e de coinfecções com oncovírus como o HCV, HBV, HPV, através de atividade sexual desprotegida, uso de drogas ilícitas, tatuagens e etc. Além disso, a dinâmica de intercâmbio entre a população não-encarcerada e os PPLs destaca a importância na disseminação do HIV entre esses grupos. Existe ainda um acesso limitado à prevenção, diagnóstico e programas de tratamento. A adesão ao tratamento antirretroviral (ARV) de eficácia potente entre os prisioneiros permanece um desafio frente a comportamentos de alto risco, que podem levar à seleção de mutações de resistência, considerada a principal razão da falha terapêutica. A epidemiologia diferenciada de HIV da região Sul do Brasil, onde os subtipos C e B circulam com igual prevalência, também destaca a relevância desse estudo, assim como o impacto das mutações nas região C-terminal da transcriptase reversa (RT), já que essas ainda foram poucos estudadas e caracterizadas por diminuírem a susceptibilidade aos ARVs.

## OBJETIVOS

Estudar a epidemiologia molecular da infecção por HIV/Aids em PPLs do Presídio Central de Porto Alegre, no Sul do Brasil. Determinar os subtipos prevalentes, as formas recombinantes circulantes, recombinantes únicos e casos de múltiplas infecções. Investigar a presença de resistência primária e mutações de resistência aos antirretrovirais, incluindo as mutações recém descritas no domínio C-Terminal. Por fim, caracterizar a existência de cadeias de transmissão viral dentro do presídio.

## MATERIAL E MÉTODOS

Em 2009, foi realizada uma triagem em 1998 PPL, na qual 110 (5%) foram diagnosticados como HIV+. Para 40 destes últimos, uma amostra de sangue total foi colhida e um questionário preenchido com dados clínicos, laboratoriais e comportamentais. Seguiram-se a extração do DNA genômico deste material com o kit QIAamp® DNA Mini Kit, a amplificação por PCR aninhado dos genes da protease (PR) e da transcriptase reversa (RT, domínios polimerásico e C-terminais) totalizando 1750pb que foram sequenciados e analisados. A clonagem foi realizada para detectar múltiplas infecções, população viral minoritária e mutações de resistência aos ARVs. Utilizou-se o conjunto de reagentes do "pMOSBlue Blunt Ended Cloning Kit". As mutações de resistência aos ARV foram analisadas utilizando o consenso da Sociedade Internacional de Aids, através do uso do algoritmo de resistência do HIV da Universidade de Stanford. Para mutações na região C-terminal, uma análise manual foi conduzida de acordo com publicações científicas recentes. A análise dos subtipos foi realizada por inferência filogenética utilizando árvores de neighbor-joining e máxima verossimilhança, e análise de recombinação pelo programa Simplot 3.5.1. Adicionalmente, as filogenias foram utilizadas para a identificação de cadeias de transmissão.

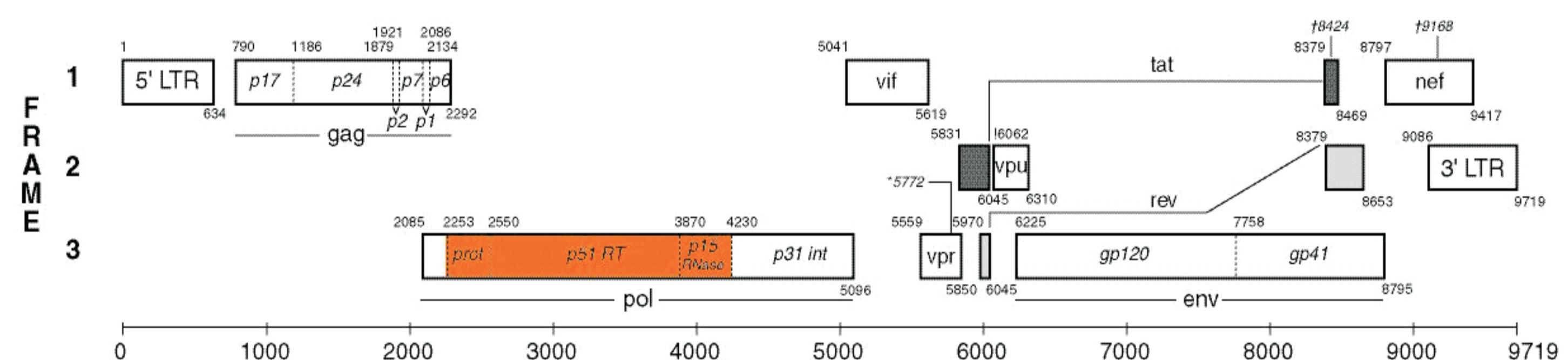


Figura 1. Organização genômica do HIV (adaptada de <http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/MAP/landmark.html>). A região destacada em laranja corresponde à região analisada nesse estudo.

## RESULTADOS

Trinta e oito amostras analisadas, sendo 9 dessas ainda incompletas.

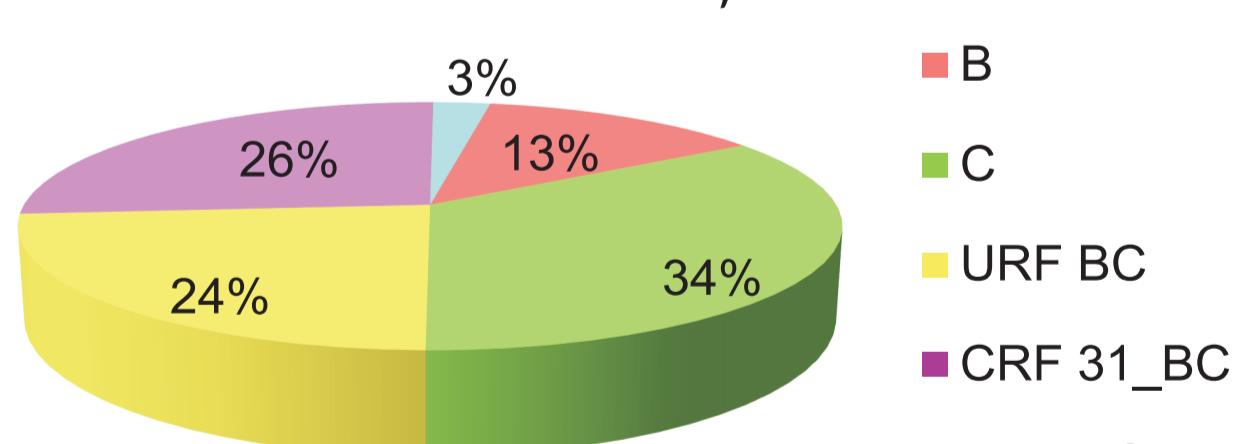


Figura 2. Distribuição dos subtipos nas amostras analisadas.

Tabela 2. Dados clínicos da amostragem estudada e mutações de resistência de pacientes em tratamento. Ausência de mutação representada por 0. A região amplificada no estudo está representada ao lado do número dos pacientes.

Paciente	Carga Viral (cópias/ml)	Contagem CD4 (células/mm <sup>3</sup> )	Mutações
23 POLCR	5853	269	NNRTI: K103N
33 POLCR	44293	112	CN: G335D, A376S
39 POLCR	26598	227	NNRTI: K103N
43 POLCR	115094	391	0
46 POLCR	1809	473	NRTI: M184V; NNRTI: K103N, P225H; CN: N348I
54 POLCR	52901	14	NRTI: D67N, K70R, M184V, T215F, K219Q; NNRTI: A98G, K101P, K103N
55 CN	lim min	622	0

Tabela 1. Dados clínicos e epidemiológicos da amostragem estudada.

Dados epidemiológicos	
Média Idade (anos)	32,87
Tempo de encarceramento (meses)	50
Tempo diagnóstico (meses)	5
Mediana Carga Viral (cópias/ml)	
Total	12153
Tratados (n=7)	12153
Não tratados (n=33)	6495,5
Mediana CD4 (células/mm <sup>3</sup> )	
Total	395
Tratados (n=7)	395,5
Não tratados (n=33)	451,5
CD4 < 350 células/mm <sup>3</sup> (necessitam tratamento)	
Não tratados	9
Tratados	4

NRTI, inibidor nucleosídico da RT, NNRTI, inibidor não-nucleosídico da RT, CN, domínio da conexão

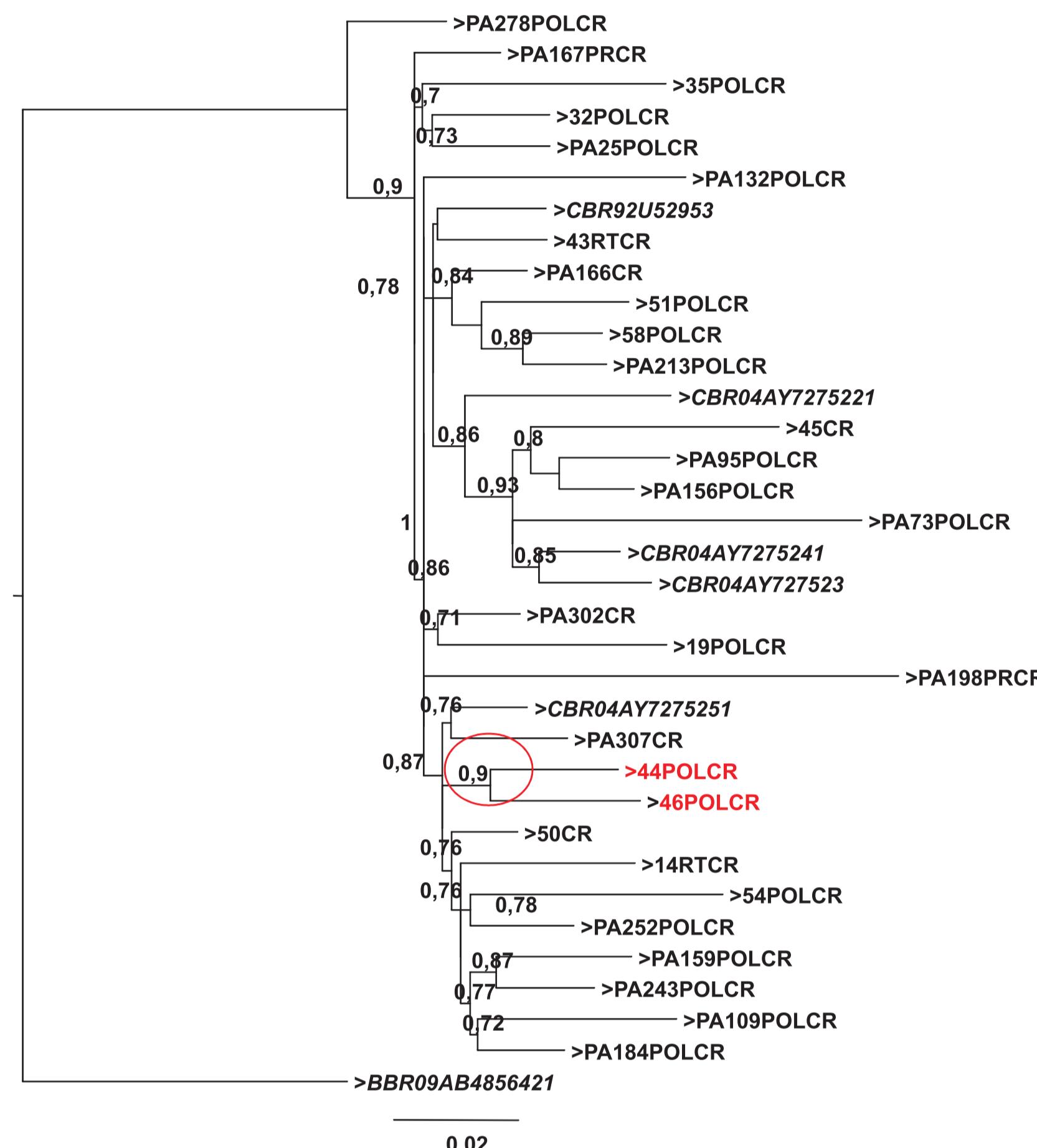


Figura 3. Árvore filogenética representativa a partir do fragmento da Conexão e RNaseH (731 pb) utilizadas para análise de cadeia de transmissão entre os PPL, demonstrados por valores de alRT maiores que 0,7 em árvores de máxima verossimilhança. Amostras controle da região de Porto Alegre iniciadas por PA e referências em itálico.

Foram clonadas 19 amostras e dessas, 4 apresentaram perfil de multipla infecção. As amostras 32 (RT) e 30 (CR) apresentaram os subtipos B, C e recombinantes BC com diferentes pontos de quebra. A amostra 9 (RT) apresentou o subtipo C e recombinantes BC com diferentes pontos de quebra. Por ultimo, a amostra 12 (RT) apresentou o subtipo C e recombinantes BC e BF.

A análise clonal mostrou quatro casos adicionais com perfil minoritário de resistência.

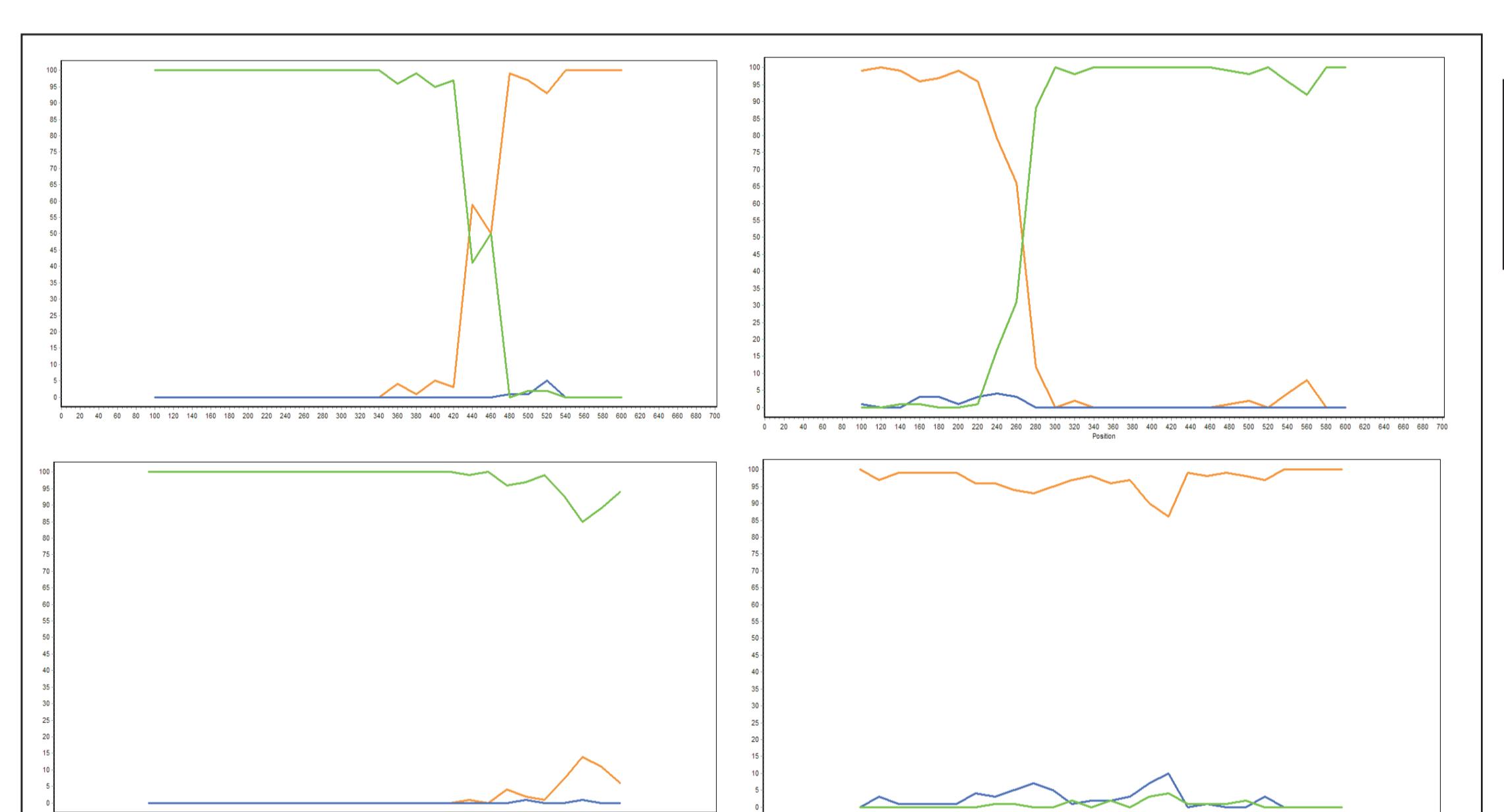


Figura 4. Exemplo de análises de Bootscans para identificação de múltiplas infecções em clones do paciente 32 (RT). Janela de 200 pb, passo de 20 pb, 100 réplicas, Kimura 2-P, Neighbor-Joining.

Tabela 3. Ocorrência de mutações de resistência por região analisada. Região não analisada representada por x e ausência de mutação por 0. Destacados em roxo estão os pacientes virgens de tratamento. A região amplificada no estudo está representada ao lado do numero dos pacientes.

Paciente	PR	RT	CN	RH
21 POLCR	0	NNRTI: K103N	G335D	0
23 POLCR	0	NNRTI: K103N	0	0
28 POLCR	Major :I54IV, L90M	0	0	0
31 POLCR	0	0	G335D, A371V	0
33 POLCR	0	0	G335D, A376S	0
37 POLCR	0	NNRTI: K103N	0	0
39 POLCR	0	x	G335D, A360T, A400T	0
41 PRCR	0	0	A360T, A400T, G359S	0
42 RTCR	X	0	A360T, A400T, G359S	0
46 POLCR	Minor: L10V	NRTI: M184V; NNRTI: K103N, P225H; NNRTI: A98G, K101P, K103N	N348I	0
54 POLCR	0	D67N, K70R, M184V, T215F, K219Q; NNRTI: A98G, K101P, K103N	G335D	Q509L
60 POLCR	0	0	G335D, G359S	0

## CONCLUSÃO

- Os subtipos encontrados corroboram dados da literatura de acordo com o período da amostragem (2009), com alta prevalência do subtipo C e de recombinantes BC no sul do Brasil, evidenciando que no presídio não existe uma epidemia diferenciada da região.
- Cerca de 5% dos casos identificados pertencem à cadeia de transmissão.
- A presença de links com amostras clínicas de fora do presídio sugere soroconversão predominantemente prévia ao encarceramento.
- A taxa de mutações a ARVs encontradas e a adesão sub-ótima podem contribuir para a falha terapêutica.
- A alta ocorrência de múltiplas infecções evidencia a exposição ao risco aumentada destes indivíduos.