

ROBERTA BARBOSA LOPES FRANCISCO

**INFECÇÃO PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV) NA
POPULAÇÃO PRISIONAL DE CAMPO GRANDE, MATO GROSSO DO SUL:
CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR**

**CAMPO GRANDE
2009**

ROBERTA BARBOSA LOPES FRANCISCO

**INFECÇÃO PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV) NA
POPULAÇÃO PRISIONAL DE CAMPO GRANDE, MATO GROSSO DO SUL:
CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR**

Dissertação apresentada como exigência para a obtenção do grau de mestre do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, sob orientação do Prof. Dr. Renato Andreotti e Silva.

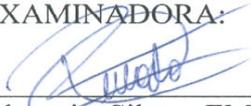
**CAMPO GRANDE
2009**



TERMO DE APROVAÇÃO

A dissertação intitulada **INFEÇÃO PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV) NA POPULAÇÃO PRISIONAL DE CAMPO GRANDE, MATO GROSSO DO SUL: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR**, apresentada à banca examinadora por **ROBERTA BARBOSA LOPES FRANCISCO**, como exigência para a obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, obteve aprovação.

BANCA EXAMINADORA:


Renato Andreotti e Silva – EMBRAPA


Mariane Martins de Araújo Stefani – UFG


Ana Rita Coimbra Motta de Castro – UFMS


Sonia Maria Oliveira de Andrade – UFMS

Campo Grande, 17 de abril de 2009.

Aos meus queridos pais, Odete e Beto,
pelo amor, ensinamentos e incentivo que
me fizeram enfrentar todos os desafios
da vida.

Ao meu esposo, Ronaldo, pelo incentivo,
paciência e apoio nesse momento
importante da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao grupo de pesquisa que tornou possível este trabalho: Alcione Cavalheiro Faro Stief, Ana Rita Coimbra Motta de Castro, Andréa de Siqueira Campo Lindenberg, Elenir Rose Jardim Cury Pontes, Gina Jonasson Mousquier, Gláucia Bigaton, Mauricio Antonio Pompilio, Paula Guerra Murat, Socorro Andrade de Lima Pompilio, Sonia Maria Oliveira de Andrade, e os técnicos de laboratório da UFMS, Maria da Conceição e Osvaldo.

Aos pesquisadores do IPTSP/UFG de Goiânia, Dra. Mariane Martins de Araújo Stefani e seus alunos Alexsander Augusto da Silveira e Ludimila Paula Vaz Cardoso, pela realização da caracterização genotípica do HIV-1 e principalmente, pelo incentivo e oportunidade de aprendizado na área da Biologia Molecular do HIV-1.

Aos funcionários dos presídios que colaboraram com o nosso trabalho: Maria José (Máxima), Célia (IPCG) e Marinês (Presídio Feminino).

À diretoria do Lacen/MS, pela compreensão e flexibilização dos horários para a realização do mestrado.

A todos os meus amigos e amigas que me apoiaram e incentivaram essa etapa da minha vida.

Aos meus queridos colegas da 1ª turma do PPGDIP da UFMS, que compartilharam todos os momentos de aprendizado, as alegrias, as lutas e ansiedades, além da troca de experiências que contribuíram muito para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Ministério da Saúde e Unesco, pelo apoio financeiro.

A Deus, que está presente em cada momento da minha vida.

RESUMO

A Aids é um problema global, com 33 milhões de pessoas vivendo com HIV e mais de dois milhões de mortes por ano no mundo. No Brasil foram identificados mais de 500 mil casos da doença, acumulando cerca de 205 mil óbitos até junho de 2008. O confinamento, o comportamento sexual de risco e história de uso de drogas injetáveis aumentam a vulnerabilidade para a aquisição do HIV, assim como outros fatores de risco, como a marginalização social e o baixo nível socioeconômico, que são características da população carcerária. O objetivo do trabalho foi caracterizar o perfil epidemiológico e molecular da infecção pelo HIV-1 na população prisional de Campo Grande-MS. O inquérito foi conduzido nas unidades prisionais de regime fechado de Campo Grande-MS (Presídio Feminino Irmã Irma Zorzi, IPCG e Presídio de Segurança Máxima) no período de novembro de 2006 a maio de 2007. Foram realizadas intervenções educativas por meio de palestras em grupo, entrevistas individuais para obtenção das características socioeconômicas, demográficas e demais variáveis de estudo. Amostras de sangue de 229 indivíduos foram coletadas para a realização do teste sorológico para HIV. As amostras positivas foram submetidas ao Ensaio da Mobilidade de Heteroduplex (HMA) para avaliar a diversidade em *gag* e sequenciamento automático para a caracterização genotípica do gene *pol* do HIV-1. Os dados obtidos foram processados através do programa Epi Info 2002. Para verificar possíveis associações entre as variáveis de estudo foram utilizados os testes Qui-quadrado, Qui-quadrado de tendência e teste exato de Fisher, e calculadas as razões de prevalência, com os respectivos intervalos de confiança de 95%. Foi utilizada a Regressão de Cox para estimar as razões de prevalência ajustadas nas variáveis com significância maior que 20% ou que apresentavam relevância clínica-epidemiológica. A prevalência do HIV foi de 5,7% (IC 95%: 2,7%-8,7%). A população estudada caracterizou-se por ser jovem, ter baixa escolaridade e renda, e a maioria não possui parceiro fixo. Tatuagem, tabagismo e alcoolismo e uso de drogas no passado são características comuns nesta população. Entre os entrevistados, 25% relataram utilizar drogas dentro do contexto prisional, e destes, 10% são usuários de drogas injetáveis. Os fatores que mostraram associação estatística significativa para a positividade pelo HIV foram: histórico de DST, baixa renda familiar e uso de droga injetável. Os subtipos do HIV-1 encontrados foram: B^{gag/pol} (43,8%), C^{gag/pol} (25%) e os recombinantes BF (25%) e C^{gag}/FB^{pol} (6,2%). Foi demonstrada com este estudo a vulnerabilidade da população carcerária de Campo Grande-MS à infecção pelo HIV, além da alta complexidade genética do vírus HIV-1 circulante nesta população, contribuindo para uma melhor compreensão da epidemiologia do HIV-1 em nosso Estado. Espera-se, a partir destes resultados, a organização de intervenções específicas para a melhoria da saúde desta população.

Palavras-chave: HIV-1; prisioneiros; epidemiologia molecular.

ABSTRACT

AIDS is a global problem, with 33 million of people living with HIV and more than two million people died of HIV causes. In Brazil more than 500 thousand cases of the disease, accumulating around 205 thousand deaths until June 2008. Confinement, were identified the sexual risk behavior and history of injecting drug use increase vulnerability to HIV acquisition, as well as other risk factors such as social marginalization and lower socioeconomic status, which are characteristics of the population in prison. The objective of this study was to characterize the molecular and epidemiological profile of HIV infection in the prison population of Campo Grande-MS. Seroepidemiological survey was performed among 229 inmates at local prisons between November 2006 and May 2007. Educational interventions and interviews were conducted to gather socioeconomic and demographic data and to identify associated risk factors. Blood samples were collected for HIV testing. The positive samples were subjected to Heteroduplex Mobility Assay (HMA) and automatic sequencing for genotypic characterization of gag and pol genes of HIV-1. Statistical analysis: Epi Info 2002; chi-squared, chi-square for trend and Fisher's exact tests and calculated prevalence ratios with 95% confidence intervals. We used a Cox regression to estimate prevalence ratios adjusted for the variables with significance greater than 20% or those with clinical and epidemiological relevance. HIV prevalence was 5.7% (95% CI: 2.7%-8.7%). The sample was characterized being younger, have lower education and income, most of which has no fixed partner. Have tattoos, make use of cigarettes and alcohol, and have used drugs in the past are common features in this population. Among the respondents, 25% confessed using drugs within the prison context, and of these, 10% are injecting drug users. The factors that showed statistically significant association for HIV positivity were: having a history of STDs, low income and use of injectable drugs. The following HIV-1 subtypes were identified: B^{gag/pol} (43.8%), C^{gag/pol} (25%) and recombinants BF (25%) and C^{gag}/FB^{pol} (6.2%). This study demonstrated the vulnerability of the prison population of Campo Grande-MS to HIV infection, in addition to the high genetic complexity of HIV-1 circulating in this population, contributing to a better understanding of the epidemiology of HIV-1 in our state. These results can contribute to specific interventions to improve the health of this population.

KEYWORDS: HIV-1; prisoners; molecular epidemiology.

LISTA DE ABREVIATURAS

- Aids – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- ARV – Anti-retroviral
- AZT – Zidovudina
- bDNA – “branched” DNA - DNA ramificado
- CDC – “Center of Disease Control” – Centro de Controle de Doenças
- cDNA – DNA complementar
- CEDIP – Centro de Doenças Infecto-Parasitárias
- CRF – “Circulating Recombinant Form” - Forma Recombinante Circulante
- CMP – Célula Mononuclear Periférica
- CPA – Colônia Penal Agrícola
- DNA – Ácido Desoxirribonucléico
- dNTP - Desoxirribonucleotídeo Fosfatado
- DST – Doença Sexualmente Transmissível
- EDTA – Ácido Etilenodiaminotetracético
- EIA – Enzima Imunoensaio
- ELISA – “Enzyme Linked Immunosorbent Assay” – Ensaio de Anticorpos Ligados à Enzima”
- GRID – “Gay-Related Immunodeficiency Disease” – Doença da imunodeficiência relacionada aos gays
- HAART – “High Active Antiretroviral Therapy” – Terapia anti-retroviral altamente eficaz
- HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
- HMA – “Heteroduplex Mobility Assay” – Ensaio da Mobilidade de Heteroduplex
- ICB-I – Instituto de Ciências Biológicas 1
- IPCG – Instituto Penal de Campo Grande
- IPTSP – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
- ITRNN – Inibidores da Transcriptase Reversa Não Nucleosídicos
- kDa – kilo Dalton (unidade de massa atômica)
- LACEN – Laboratório Central de Saúde Pública
- LAV – Vírus Associado à Linfadenopatia
- LTCD4+ – Linfócito T CD4+

LTCD8+ – Linfócito T CD8+

LTR – Repetições Terminais Longas

Nested-PCR – Reação em Cadeia da Polimerase “aninhada” ou em duas etapas

NIH – “National Institute of Health” – Instituto Nacional de Saúde

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PR – Protease

RNA – Ácido Ribonucléico

rpm – rotações por minuto (unidade de velocidade)

RT-PCR – Reação em Cadeia da Polimerase do Transcrito Reverso

SIV – Vírus da Imunodeficiência Símia

TAE – Tris-Acetato-EDTA

TBE – Tris-Borato-EDTA

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TR – Transcriptase Reversa

UDI – Usuário de Droga Injetável

UFG – Universidade Federal de Goiás

UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

UNAIDS – “United Nations Programme on HIV/AIDS” – Programa das Nações Unidas em HIV/Aids

UNIDERP – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal

URF – “Unique Recombinant Form” – Forma Recombinante Única

WHO – “World Health Organization” – Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 História do HIV/Aids	13
2.2 Classificação e estrutura do HIV	15
2.2.1 Organização genômica do HIV	15
2.3 Diversidade Genética do HIV-1	17
2.3.1 Origem da diversidade genética	18
2.3.2 Implicações do estudo da diversidade genética	19
2.3.3 Métodos utilizados para o estudo da diversidade genética do HIV-1	20
2.4 Epidemiologia da Aids	22
2.4.1 Dados mundiais sobre a prevalência do HIV/Aids	22
2.4.2 Epidemia brasileira	24
2.4.3 HIV/Aids em Mato Grosso do Sul	25
2.4.4 Epidemiologia molecular do HIV-1 no mundo	26
2.4.5 Epidemiologia molecular do HIV-1 no Brasil	28
2.5 Presídios	31
2.5.1 A infecção pelo HIV nos presídios	31
3 OBJETIVOS	34
3.1 Objetivo geral	34
3.2 Objetivos específicos	34
4 METODOLOGIA	35
4.1 Tipo de pesquisa	35
4.2 População de estudo	35
4.3 Critérios de inclusão	35
4.4 Procedimento de coleta de dados	36
4.4.1 Entrevista estruturada	36
4.4.2 Coleta de material biológico	36
4.4.3 Palestra e distribuição de preservativos	37
4.5 Processamento e análise dos dados	37
4.6 Procedimentos laboratoriais	38
4.6.1 Sorologia para HIV-1	38

4.6.2	Quantificação de Carga Viral e Contagem de Linfócitos TCD4+ e TCD8+	38
4.6.3	Caracterização genotípica do HIV-1	38
4.6.3.1	<u>Caracterização genotípica da região gag</u>	39
4.6.3.1.1	<i>Extração e purificação do DNA genômico do HIV-1</i>	39
4.6.3.1.2	<i>Amplificação do DNA proviral por Nested-PCR</i>	40
4.6.3.1.3	<i>Amplificação de cepas de referência contidas em plasmídeos</i>	40
4.6.3.1.4	<i>Eletroforese em gel de agarose 1%</i>	40
4.6.3.1.5	<i>Ensaio da Mobilidade de Heteroduplex (HMA)</i>	41
4.6.3.1.5.1	<i>Preparação do gel de poliacrilamida 5%</i>	41
4.6.3.1.5.2	<i>Identificação dos híbridos na região gag</i>	42
4.6.3.2	<u>Caracterização genotípica da região pol</u>	44
4.6.3.2.1	<i>Extração do RNA viral</i>	44
4.6.3.2.2	<i>Obtenção de cDNA através de RT-PCR para a região pol</i>	45
4.6.3.2.3	<i>Reação de Nested-PCR para a região pol</i>	45
4.6.3.2.4	<i>Eletroforese em gel de agarose 1%</i>	46
4.6.3.2.5	<i>Purificação do produto obtido através da Nested-PCR</i>	47
4.6.3.2.6	<i>Preparação para sequenciamento da região pol</i>	47
4.6.3.2.7	<i>Precipitação da placa para sequenciamento</i>	48
4.6.3.2.8	<i>Desnaturação da placa para sequenciamento</i>	48
4.6.3.2.9	<i>Sequenciamento automático da região pol</i>	48
4.6.3.2.10	<i>Análise dos cromatogramas</i>	49
4.7	Acompanhamento pós-teste	51
4.8	Aspectos éticos	51
5	RESULTADOS	52
5.1	Características sociodemográficas e epidemiológicas	52
5.2	Prevalência do HIV-1	56
5.3	Carga Viral e Contagem de Linfócitos TCD4+ e TCD8+	61
5.4	Diversidade genotípica do HIV-1	62
5.4.1	Diversidade genotípica do HIV-1 na região do gene <i>gag</i>	62
5.4.2	Diversidade genotípica do HIV-1 na região do gene <i>pol</i>	64
5.4.3	Diversidade genotípica do HIV-1 nos genes <i>gag</i> e <i>pol</i>	66
5.4.4	Características sociodemográficas e fatores associados ao risco,	67

segundo o subtipo <i>gag/pol</i>	
6 DISCUSSÃO	69
6.1 Diversidade genotípica do HIV-1	74
7 CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS	79
APÊNDICES	94
ANEXOS	98

1 INTRODUÇÃO

A epidemia causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), denominada Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Aids) é um problema global de saúde pública, com impacto nas áreas de saúde, sociais, econômicas e demográficas. Atualmente 33 milhões de pessoas no mundo vivem com este vírus, e no Brasil, são mais de 500 mil pessoas infectadas.

A caracterização da epidemiologia molecular do HIV-1 é relevante não só para monitorar a evolução da epidemia, como para o desenvolvimento de futuras vacinas, no estudo das superinfecções, no diagnóstico e monitoramento da infecção, no tratamento, na progressão da doença, na prevenção e transmissão, se tornando uma ferramenta essencial ao combate desta pandemia mundial.

Condições de confinamento aumentam o risco de algumas infecções, principalmente às relacionadas às práticas sexuais e/ou ao uso de drogas injetáveis, como é o caso do HIV-1. Vários trabalhos têm relatado altas prevalências de HIV-1 na população prisional, constituindo um sério problema de saúde pública no Brasil. Por isso, pessoas vivendo encarceradas deveriam de ter acesso à educação em relação a Aids, testagem para HIV-1, orientação pré e pós-teste e, para indivíduos HIV-1 positivos, atendimento multiprofissional, incluindo acompanhamento ou tratamento.

Considerando a importância clínica e epidemiológica da infecção pelo HIV-1 e a escassez de estudos em nossa região, é relevante a investigação da sua disseminação em população com características como as do presente estudo, que apresentam um elevado risco de exposição a este vírus. Portanto, o presente trabalho objetiva determinar a prevalência da infecção pelo HIV-1, identificar os principais subtipos do HIV-1 nesta população, bem como, investigar os principais fatores de risco associados a essa infecção, para a introdução de medidas preventivas e de controle.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 História do HIV/Aids

No ano de 1981, uma nova doença chamava a atenção dos médicos e da comunidade científica. Os primeiros casos foram descritos inicialmente em homossexuais do sexo masculino das cidades de Los Angeles, Nova Iorque, Atlanta e São Francisco, nos Estados Unidos da América. Eles apresentavam pneumonias atípicas, linfadenopatia e Sarcoma de Kaposi, além de outras manifestações relacionadas à imunodeficiência. A doença inicialmente passou a ser chamada de câncer gay ou GRID (*Gay-Related Immunodeficiency Disease*), e então em 1982 foi denominada Aids (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*) (GOTTLIEB et al., 1981; MILDVAN et al., 1982).

A identificação e isolamento do HIV envolveu dois grandes grupos de pesquisa, um liderado por Robert Gallo, do Centro para Controle e Prevenção de Doenças (*Centers for Disease Control and Prevention – CDC*), dos Estados Unidos, e o outro por Luc Montagnier, do Instituto Pasteur, em Paris. Gallo havia levantado a hipótese que aquela enfermidade seria causada por um retrovírus da família do HTLV (Vírus Linfotrópico de células T Humanas), isolando-o e o denominando de HTLV-III. Simultaneamente, em 1983, a equipe de Luc Montagnier, que estudava retrovírus associados a câncer em humanos, isolou o referido retrovírus a partir do linfonodo de um paciente com linfadenopatia persistente, através da detecção de traços da enzima transcriptase reversa presentes na cultura de linfócitos T. Inicialmente, este vírus foi chamado de LAV - Vírus Associado à Linfadenopatia. Depois de algum tempo, a comunidade científica verificou que os dois grupos de pesquisa haviam descrito o mesmo vírus. Posteriormente, então, o vírus passou a ser chamado de HIV (BARRE-SINOUSI et al., 1983; GALLO, 2002; MONTAGNIER, 2002).

Após o isolamento do vírus, em 1986, foram desenvolvidos testes para a detecção do HIV, e logo estes se tornaram comercialmente disponíveis, reduzindo a transmissão do vírus por transfusão de sangue. No ano seguinte foi desenvolvida a primeira droga anti-retroviral, a Zidovudina (AZT), que reduziu o número de mortes causadas por essa síndrome (GALLO; MONTAGNIER, 2002). A partir do ano de 1995, depois do surgimento de inúmeras drogas antiretrovirais, foi implementada a

terapia tripla, mais conhecida como HAART (High Active Antiretroviral Therapy), terapia anti-retroviral altamente eficaz, que promoveu uma sobrevida maior aos pacientes portadores do vírus (DELANEY, 2006).

No Brasil, a Aids foi primeiramente descrita em 1982, com o diagnóstico de jovens homossexuais do sexo masculino, no estado de São Paulo. Nesta época, a doença era chamada “Doença dos 5 H” - Homossexuais, Hemofílicos, Haitianos, Heroínômanos (usuários de heroína injetável), Hookers (profissionais do sexo em inglês). Em 1984, surgiu o primeiro programa brasileiro de controle da Aids, o Programa da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, e em 1986, houve a criação do Programa Nacional de DST e Aids do Ministério da Saúde. Em 1987, pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz isolaram o HIV pela primeira vez na América Latina (GALVÃO-CASTRO et al., 1987), e no mesmo ano inicia-se o uso do AZT no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Segundo dados do Ministério da Saúde (2008), em 1991, quando Brasil já acumulava mais de onze mil casos notificados da doença, o mesmo iniciou a distribuição gratuita de anti-retrovirais. Em 1993 ocorreu a implantação da Rede Nacional de Isolamento do HIV no Brasil, criada com suporte do Ministério da Saúde e da Unids/OMS para mapear a diversidade genética do vírus no país e orientar a seleção de potenciais vacinas e medicamentos anti-retrovirais a serem utilizados por brasileiros. A terapia tripla começa a ser implementada em 1996, na mesma época em que a epidemia muda de direção, atingindo cada vez mais mulheres, além de ocorrer a interiorização e a pauperização da doença.

Com a implantação da Rede Nacional de Laboratórios para o monitoramento de pacientes com HIV-1 em terapia anti-retroviral em 1997, encarregada de realizar exames de carga viral e contagem de células T CD4+, o controle da infecção pelo HIV-1 foi facilitado, e este monitoramento contribuiu para uma queda considerável no número de mortes e infecções oportunistas dos pacientes acometidos pela doença. Como o Brasil já utilizava o coquetel anti-retroviral há muitos anos, e devido ao aumento da resistência do vírus a esses medicamentos, em 2001 foi implantada a Rede Nacional de Genotipagem do HIV-1 do Ministério da Saúde, para monitorar esses pacientes. Por tudo isso, em 2003 o Programa Nacional de DST/Aids foi considerado por diversas agências de cooperação internacional como referência mundial e premiado pela Fundação Bill & Melinda Gates (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009a).

2.2 Classificação e estrutura do HIV

O Vírus da Imunodeficiência Humana pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Lentivirinae*, gênero *Lentivirus*. Sua partícula viral (Figura 1) é esférica, composta por um capsídeo viral, nucleocapsídeo protéico, duas fitas simples de RNA genômico com polaridade positiva, e as enzimas protease, integrase e transcriptase reversa, a última considerada como “marca” dos retrovírus, capaz de transcrever o RNA genômico em DNA dupla fita. O envelope viral é constituído por uma membrana bicamada lipídica derivada da célula hospedeira e das proteínas gp120 e gp41, responsáveis pelos processos de ligação e fusão do vírus à célula-alvo (BARRE-SINOUSI, 1996).

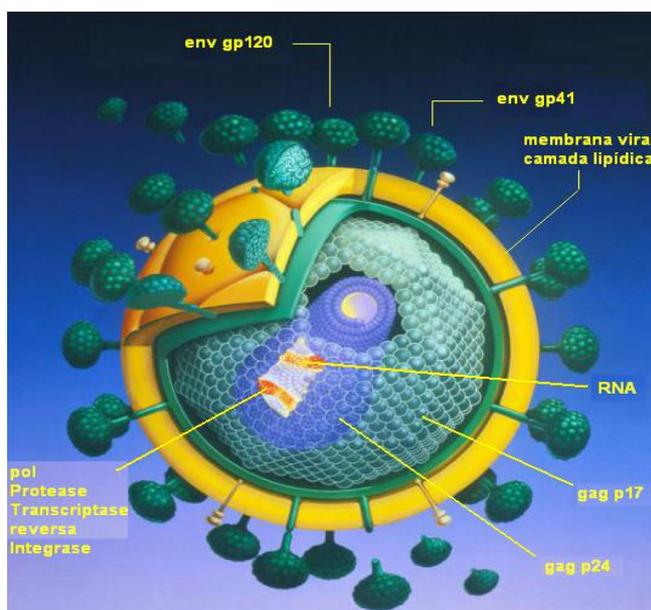


Figura 1 – Estrutura do HIV.

Fonte: adaptado de <http://www.vicolab.com/>

2.2.1 Organização genômica do HIV

O genoma do HIV (Figura 2) é formado por aproximadamente 10000 pares de bases, e é composto por três genes estruturais, *env*, *gag* e *pol*, e genes reguladores: *vif*, *vpr*, *vpu*, *tat*, *rev* e *nef*. O gene *env* é responsável pela estrutura do envelope do vírus, e codifica uma glicoproteína precursora de 160 kDa, denominada de gp160, que é clivada por enzimas celulares em gp120 e gp41, que são ligadas não-

covalentemente e encontram-se inseridas no envelope da partícula viral, mediante a gp41 (glicoproteína transmembrana). A gp120 apresenta-se exposta na membrana, ancorada na gp41 em forma de trímero. Estas duas proteínas são responsáveis pela interação com o seu receptor primário, a molécula CD4, presente em macrófagos e linfócitos T (BARRE-SINOUSI, 1996).

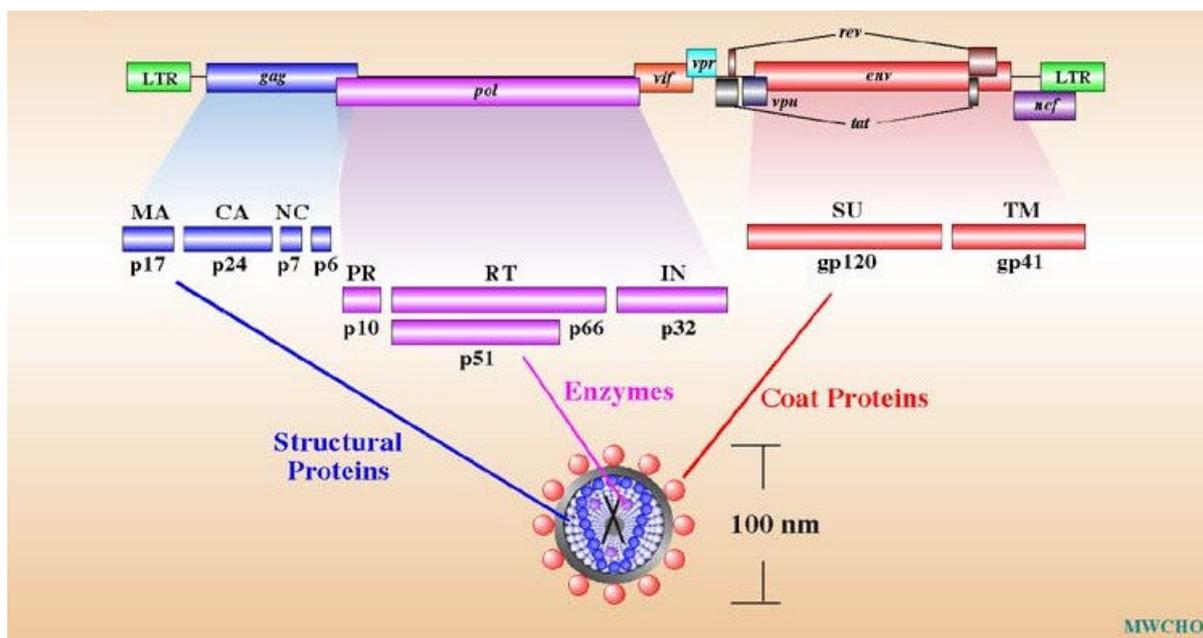


Figura 2 – Organização genômica do HIV (MA = matrix, CA = capsídeo, NC = nucleocapsídeo, PR = protease, RT = transcriptase reversa, IN = integrase, SU = superfície, TM = transmembrânica). Fonte: <http://www.stanford.edu/>

O gene *gag* codifica as proteínas que compõem o capsídeo viral, uma proteína precursora de 55 kDa a qual, durante a replicação do vírus, é clivada pela protease viral, dando origem às proteínas p24, p17, p7 e p9. A proteína p17 compõe a matriz viral e é encontrada logo abaixo do seu envelope. A proteína p24 forma o nucleocapsídeo, no interior do qual estão localizadas as duas fitas simples de RNA. O gene *pol*, por sua vez, codifica as enzimas transcriptase reversa, protease e integrase. Estas enzimas são produzidas como uma poliproteína *gag-pol* precursora que posteriormente é processada e clivada pela protease viral. Os genes *gag* e *pol* são mais conservados que o gene *env* (BARRE-SINOUSI, 1996).

Segundo a mesma autora, os genes regulatórios controlam a replicação do HIV, seja ativando a transcrição do seu genoma (gene *tat*), promovendo a exportação do RNA mensageiro viral do núcleo para o citoplasma (gene *rev*) ou potencializando a infectividade dos vírions e a liberação dos mesmos para fora da

célula infectada (*vif* e *vpu*). As regiões LTR (Repetições Terminais Longas) estão localizadas nas duas extremidades do genoma dos retrovírus e são importantes para a regulação da transcrição dos provírus (moléculas de DNA virais produzidas por transcrição reversa e integradas nas células do hospedeiro).

2.3 Diversidade Genética do HIV

Dois tipos de HIV foram descritos: o HIV-1 e o HIV-2. O primeiro, responsável pela pandemia mundial e considerado um dos patógenos que apresenta maior variabilidade genética. O HIV-2 é responsável por epidemias localizadas, principalmente na África Ocidental e na Europa, onde está relacionado a indivíduos oriundos do continente africano (GOMES, 2002; SALEMI et al., 2005).

O HIV-1 distingue-se em três grupos principais: M (*Main* ou *Major*), N (*Non-M-Non-O* ou *New*) e O (*Outlier*). O grupo N é uma forma muito distinta do vírus, e foi identificado em paciente de Camarões. O grupo O consiste em cepas altamente divergentes, e foi detectado em pessoas vivendo na África Central (LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY, 2008a; ROBERTSON et al., 1999; TAKEBE; KUSAGAWA; MOTOMURA, 2004). Os grupos N e O representam juntos menos de 5% das infecções por HIV no mundo (LAL; CHAKRABARTI; YANG, 2005).

O Grupo M, responsável pela pandemia mundial, pode ser classificado em nove subtipos geneticamente distintos: A, B, C, D, F, G, H, J e K (MCCUTCHAN, 2006; PEETERS; DELAPORTE, 1999; RAMBAUT et al., 2004; SALEMI et al., 2005). Dentro de alguns destes subtipos, variações filogenéticas adicionais foram identificadas e denominadas sub-subtipos. O HIV-1 subtipo A está subdividido em dois sub-subtipos, A1 e A2 e o subtipo F possui dois sub-subtipos, F1 e F2. A análise da sequência de nucleotídeos permitiu verificar uma divergência de aminoácidos entre os diferentes subtipos do HIV-1 do grupo M atingindo 20 a 30% no gene *env*, 15% no gene *gag* e 13% no gene *pol* (ROBERTSON et al., 1999; TAKEBE; KUSAGAWA; MOTOMURA, 2004).

Além dos subtipos e sub-subtipos, existem ainda as denominadas formas recombinantes circulantes (CRF). Por definição, os CRF devem ser identificadas em pelo menos três indivíduos sem vínculo epidemiológico e devem apresentar genomas e *breakpoints* (ponto de quebra ou ponto de recombinação) idênticos, refletindo um ancestral comum e a partir do mesmo evento de recombinação. Essas

formas recombinantes são designadas por um número de identificação, com letras indicando os subtipos envolvidos. Se o genoma recombinante for formado por mais de dois subtipos distintos é denominado cpx, sigla derivada da palavra *complex*. Para definir um novo subtipo, sub-subtipo ou CRFs, a cepa deve ser identificada em, pelo menos, três indivíduos epidemiologicamente desvinculados (LAL; CHAKRABARTI; YANG, 2005; TAKEBE; KUSAGAWA; MOTOMURA, 2004). Até o ano de 2008 haviam sido descritos 43 CRF (LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY, 2009).

O HIV-2 tem uma variação genômica de 55% em relação ao HIV-1 e é geneticamente mais semelhante ao SIV (Vírus da Imunodeficiência Símia) dos chimpanzés. O HIV-2 é classificado em 7 grupos: A, B, C, D, E, F e G e predomina no continente Africano, com casos esporádicos de infecção em outros continentes. O continente Africano é o único em que todos os tipos, subtipos e grupos do HIV co-circulam (GOMES, 2002; LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY, 2008b).

2.3.1 Origem da diversidade genética

Por ser um retrovírus, o HIV-1 necessita da atuação da sua enzima transcriptase reversa (TR) para poder converter seu RNA genômico em DNA e realizar a produção de proteínas para formar novos vírions. Porém, durante o processo de replicação, a TR não possui propriedade corretiva, isto é, não corrige seus eventuais erros de transcrição, ocasionando substituições nucleotídicas, deleções, recombinações, repetições e/ou inserções. Sua taxa de erro na incorporação de nucleotídeos é de aproximadamente 10^{-3} a 10^{-5} por sítio, por ciclo de replicação. Portanto, a cada ciclo replicativo, o genoma do HIV-1 adquire uma substituição de nucleotídeo. Fazendo um comparativo, as DNA polimerases têm uma taxa aproximada de 10^{-8} mutações/sítio/ciclo de replicação. Considerando que, a cada dia, 10^{10} novas partículas de HIV-1 são produzidas pelo organismo, e estimando a população de HIV-1 positivos em torno de 10^7 , teríamos em torno de 10^{17} variantes genéticas únicas de HIV-1 em circulação (PINTO; STRUCHINER, 2006; REQUEJO, 2006).

Além dos erros da TR, outro importante processo que contribui para a variabilidade genética do HIV-1 é a recombinação homóloga. Esse fenômeno ocorre somente em indivíduos que foram infectados simultaneamente por duas variantes

virais diferentes. O mecanismo da recombinação acontece no momento da transcrição reversa, onde a TR salta de uma fita de RNA para outra, produzindo então uma fita de DNA com segmentos dos dois RNA iniciais, distintos ou não. O fato do alto número de vírus recombinantes existirem atualmente mostra que o fenômeno da co-infecção com cepas divergentes de HIV-1 é mais frequente do que se acreditava. Esse tipo de infecção ocorre geralmente em regiões onde múltiplos subtipos co-circulam (LAL; CHAKRABARTI; YANG, 2005; RAMBAUT et al., 2004).

Além das propriedades intrínsecas do vírus, outros fatores podem contribuir para a diversidade genética do HIV-1. O primeiro deles é exercido pelo sistema imune, fazendo com que o vírus desenvolva mecanismos de escape e se adapte às novas células-alvo, a fim de manter a infecção naquele organismo. Outro fator que atua de maneira semelhante são as drogas anti-retrovirais, provocando uma alteração no ambiente onde o vírus se replica e causando uma seleção natural das cepas, fazendo com que algumas sejam eliminadas e outras sofram mutações e se tornem aptas a sobreviver neste meio (LAL; CHAKRABARTI; YANG, 2005; PINTO; STRUCHINER, 2006; REQUEJO, 2006).

2.3.2 Implicações do estudo da diversidade genética

A caracterização molecular das variantes virais do HIV-1 é relevante não só para monitorar a origem e evolução da epidemia. Através da análise filogenética, permite-se verificar o momento em que foram introduzidas determinadas variantes em uma população. Já o estudo da filodinâmica infere a dinâmica da evolução da interação hospedeiro-parasita, bem como a diversidade dos patógenos em diferentes escalas (PINTO; STRUCHINER, 2006).

Sabe-se que alguns subtipos possuem polimorfismos naturais específicos, gerando uma assinatura própria em sua sequência de nucleotídeos. Essas variações inter-subtipos podem chegar a até 50% dependendo do gene analisado, e podem conferir a estas cepas vantagens e desvantagens, como por exemplo, melhorar a capacidade replicativa do vírus (LAL; CHAKRABARTI; YANG, 2005). Vários estudos relatam diferenças entre os subtipos B e não-B (SALEMI et al., 2005). Outros mostram a existência de variações intra-subtipos, como por exemplo, o subtipo C, que possui diferenças entre 3,5 e 5,8% entre as variantes da África, Índia e América do Sul (HOLGUIN et al., 2006; WAINBERG, 2004). O HIV-2 e o HIV-1 grupo O são

naturalmente resistentes aos Inibidores da Transcriptase Reversa Não Nucleosídicos (ITRNN) (TAKEBE; KUSAGAWA; MOTOMURA, 2004; THOMSON; PEREZ-ALVAREZ; NAJERA, 2002).

A variabilidade genética do HIV-1 também traz implicações para o desenvolvimento de futuras vacinas (MORGADO; GUIMARÃES; GALVÃO-CASTRO, 2002; RAMBAUT et al., 2004), para o estudo das superinfecções (THOMSON; NAJERA, 2005), no diagnóstico e monitoramento da infecção (LAL; CHAKRABARTI; YANG, 2005; SWANSON et al., 2005; THOMSON; PEREZ-ALVAREZ; NAJERA, 2002), na progressão da doença (KANKI et al., 1999), na transmissão e patogenicidade do vírus (THOMSON; PEREZ-ALVAREZ; NAJERA, 2002).

Para os algoritmos de resistência genotípica, que foram inicialmente desenhados para pacientes HIV-1 subtipo B, nota-se que há diferenças na interpretação dos resultados, que são baseados nas combinações de mutações subtipo-dependentes. A frequência e os padrões de mutações associadas a resistência podem diferir entre os subtipos de HIV-1. Mutações silenciosas ou polimorfismos que ocorram em determinadas regiões de um subtipo e levam à resistência, podem não ter o mesmo impacto em outro subtipo (HOLGUIN et al., 2006).

Diversos estudos apontam a correlação entre os subtipos do HIV-1 e a resposta imune, e com mutações associadas à resistência às drogas, que trazem implicações no tratamento. Verificou-se que HIV-1 não-B desenvolvem resistência derivadas de mutações em posições que não estão associadas à resistência nos vírus subtipo B (DUMANS et al., 2004; KANTOR et al., 2005; OSMANOV et al., 2002; WAINBERG, 2004).

Portanto, conhecimentos sobre a epidemiologia molecular do HIV-1 são ferramentas essenciais para o controle da pandemia da Aids (PINTO; STRUCHINER, 2006).

2.3.3 Métodos utilizados para o estudo diversidade genética do HIV-1

O Ensaio da Mobilidade de Heteroduplex, do inglês Heteroduplex Mobility Assay (HMA) foi muito utilizado para a realização da triagem molecular do HIV-1. Esse método permite a identificação do subtipo viral nos genes *env* e *gag* do HIV-1 do grupo M. O HMA se baseia na migração de híbridos de DNA amplificados por

PCR. Estes híbridos anelados aleatoriamente podem ser heteroduplexes que migram com menor velocidade à eletroforese quando comparados aos homoduplexes. Os produtos de amplificação por PCR de amostras desconhecidas são misturados com cepas-referência (selecionadas entre os subtipos mais representativos da região estudada) e anelados. O híbrido entre DNA da cepa desconhecida que tiver maior similaridade genética com a cepa-referência irá migrar com maior velocidade na eletroforese em gel de poliacrilamida, permitindo a identificação do subtipo do HIV-1 (DELWART et al., 1993; HEYNDRICKX et al., 2002).

Uma das vantagens da utilização do HMA é a variedade de espécimes clínicos que podem ser utilizados nesta técnica (sangue total adsorvido em papel, lisado de células mononucleares periféricas, plasma, soro e fluidos genitais). Outra vantagem é a alta concordância com resultados de sequenciamento e a análise filogenética, além do menor custo, utilização de equipamentos menos sofisticados e rapidez. A desvantagem deste método é que, por depender da amplificação de uma região genômica por PCR, os *primers* utilizados podem não ser capazes de reconhecer sequências complementares no caso de vírus especialmente divergentes, e devido a diversidade crescente do HIV-1, esta técnica de triagem molecular não permite a confirmação de formas recombinantes entre os isolados com subtipos discordantes em duas regiões genômicas, e tem aplicação limitada em sítios com alta frequência de formas recombinantes (PINTO; STRUCHINER, 2006; THOMSON; PEREZ-ALVAREZ; NAJERA, 2002).

A análise do polimorfismo de restrição também pode ser utilizada para a caracterização dos subtipos do HIV-1. Geralmente, a região da protease é mais utilizada neste tipo de técnica, mas também pode ser aplicada à região *env* para a caracterização da variante BBr (apresenta na alça V3 da gp120 do envelope a sequência de aminoácido GWGR ao invés de GPGR, forma mais comum encontrada do subtipo B) (PINTO; STRUCHINER, 2006).

O sequenciamento de nucleotídeos é considerado o “padrão ouro” para estudos de diversidade genética do HIV-1, principalmente devido ao fenômeno da recombinação em regiões onde co-circulam diferentes formas genéticas. Programas de computação foram desenvolvidos para análise de seqüências de nucleotídeos e identificação de recombinações, como o “Simplot” ou “Programa de Identificação de Recombinação (RIP)”. Estes permitem a análise de similaridades ou relações

filogenéticas com seqüências de referências dos subtipos do HIV-1. Sequenciamento e a análise filogenética, não só permitem a identificação do subtipo do HIV-1, como também possibilitam relações filogenéticas entre seqüências virais de diferentes áreas geográficas (THOMSON; PEREZ-ALVAREZ; NAJERA, 2002).

A maioria dos estudos de subtipagem caracterizam isolados em genes específicos do genoma. Devido ao grande número de cepas recombinantes, é recomendado que se indique o segmento utilizado na análise, bem como a identificação de mais de uma região do genoma do vírus (PINTO; STRUCHINER, 2006).

2.4 Epidemiologia da Aids

2.4.1 Dados mundiais sobre a prevalência do HIV/Aids

Globalmente a epidemia do HIV se estabilizou, embora com níveis elevados de novas infecções por HIV e mortes por Aids. Em 2007, a estimativa era de 33 milhões de pessoas vivendo com HIV. O número anual de novas infecções por HIV caiu de 3 milhões em 2001 para 2,7 milhões em 2007 e dois milhões de pessoas morreram devido à doença, comparado a um valor 1,7 milhões em 2001. Apesar desta estabilização desde 2000, o número de pessoas vivendo com HIV têm aumentado continuamente com novas infecções a cada ano. Têm sido observados aumentos de novas infecções em países populosos tais como Indonésia, Rússia e vários outros países de renda alta (UNAIDS, 2008).

Segundo dados da United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) (2008), as mulheres representam metade das pessoas que vivem com o HIV em todo mundo, e quase 60% das infecções por HIV na África Subsaariana. Nos últimos dez anos, a porcentagem de mulheres vivendo com HIV manteve-se estável. Os jovens com idades compreendidas entre 15 e 24 anos representam 45% das novas infecções por HIV em todo o mundo. A Unaid, no ano de 2008, estimou que 370.000 crianças menores de 15 anos seriam infectadas pelo HIV e 270.000 morreriam de Aids. Mundialmente, o número de crianças vivendo com HIV aumentou de 1,6 milhões em 2001 para dois milhões em 2007, sendo que quase 90% delas viviam na África Subsaariana.

O mesmo boletim da UnaidS posiciona a África do Sul como líder no ranking dos países mais afetados pela epidemia: 35% das infecções pelo HIV e 38% de mortes por Aids no mundo em 2007 ocorreram nessa região. No total, a África Subsaariana concentra 67% das pessoas que vivem com o HIV no mundo e 75% de todas as mortes por Aids. Estimava-se que 1,9 milhões de pessoas foram infectadas com HIV em 2007, elevando para 22 milhões o número de pessoas que vivem com o HIV nessa área geográfica. A transmissão heterossexual continua sendo o principal meio de transmissão do HIV na região. Esta alta taxa de transmissão sexual também deu origem à maior população mundial de crianças que vivem com o HIV. A epidemia atinge também os usuários de drogas injetáveis (UDI), os homens que fazem sexo com homens (HSH) e profissionais do sexo.

Na Ásia, a UnaidS (2008) relata que cerca de 5 milhões de pessoas viviam com o HIV em 2007, incluindo as 380.000 pessoas que se infectaram recentemente. Outras 380.000 morreram de doenças relacionadas à Aids. As frequências mais elevadas ocorrem no Sudeste da Ásia, sendo que o consumo de drogas injetáveis é um importante fator de risco nas epidemias de vários países asiáticos.

Já na Europa Oriental e Ásia Central o número de portadores do HIV aumentou para 1,5 milhão em 2007; quase 90% das pessoas infectadas vivem na Federação Russa (69%) ou na Ucrânia (29%). Estimou-se um aparecimento de 110000 novos casos nessa região em 2007, e cerca de 58.000 óbitos por Aids. A epidemia de HIV nesta região é concentrada, em grande parte, entre os usuários de drogas injetáveis, profissionais do sexo e seus vários parceiros sexuais.

O boletim também mostra que a América Latina apresentou 140.000 novas infecções em 2007, elevando para 1,7 milhões o número de pessoas vivendo com o HIV na região. Um total de 63.000 pessoas morreram em consequência da Aids neste período. A transmissão do HIV nesta região está ocorrendo principalmente entre os HSH, trabalhadores do sexo e, em menor extensão, usuários de drogas injetáveis. No Caribe, 230.000 pessoas são portadoras do HIV (cerca de três quartos deles na República Dominicana e Haiti), ao passo que um número estimado de 20000 pessoas foram recentemente infectadas com o HIV na região, com aproximadamente 14.000 mortes por Aids. A principal forma de contágio do HIV no Caribe são as relações heterossexuais desprotegidas, pagas ou não. No entanto, o sexo entre homens, embora geralmente negadas pela sociedade, também é um fator significativo em várias epidemias nacionais.

O Programa das Nações Unidas em HIV/AIDS, no ano de 2007, estimou que 2,0 milhões de pessoas viviam com HIV na América do Norte, Europa Ocidental e Central, sendo que 1,2 milhões estão nos Estados Unidos da América. Nessas regiões, 81000 pessoas foram recentemente infectadas com o HIV neste ano. Entretanto, poucas pessoas, 31.000 morreram de Aids neste mesmo período. Em geral, os HSH ainda representam mais da metade dos casos nos Estados Unidos e 40% dos casos no Canadá; o uso de drogas injetáveis representa uma percentagem menor de novas infecções pelo HIV.

As informações disponíveis da infecção pelo HIV no Oriente Médio e na África do Norte indicam que aproximadamente 380.000 pessoas viviam com o HIV em 2007, incluindo 40.000 recém-infectados com o vírus. Diferentes combinações de fatores de risco estão associadas à epidemia, liderada pelo sexo pago sem proteção e o uso de drogas injetáveis com equipamentos contaminados (UNAIDS, 2008).

Finalmente, na Oceania estimou-se que 74.000 pessoas estariam vivendo com o HIV em 2007, cerca de 13.000 recentemente infectadas. A forma de transmissão mais comum nesta região é a heterossexual (UNAIDS, 2008).

2.4.2 Epidemia brasileira

Dados do Programa Nacional de DST/Aids apontam que até junho de 2008 haviam sido notificados 506.499 casos de Aids, com 205.409 óbitos. A taxa de incidência até 2007 chegou a 17,8/100000 habitantes. A região Sudeste concentra 60,4% dos indivíduos com Aids no Brasil, com 305.725 casos notificados, seguido pelas regiões Sul (95.552), Nordeste (58.348), Centro-Oeste (28.719) e Norte (18.155) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007/2008).

Entre os pacientes com Aids, o sexo masculino é mais atingido pela doença, com 65,8% de homens e 34,2% de mulheres. O número de mulheres infectadas pelo HIV vem se elevando ao longo da epidemia, podendo se fazer uma comparação do ano de 1983, no qual a relação homem:mulher era de 40:1, em 1993 passou a ser 3,5:1 e a partir de 2003 era 1,5:1, mantendo esta proporção até a atualidade. A faixa etária mais acometida pela doença varia entre 20 e 39 anos, com 64,7% dos casos. Existem ainda 17304 crianças com idade até 12 anos notificadas até o primeiro semestre de 2008, segundo o boletim do Programa Nacional DST/Aids 2007/2008.

Entretanto, uma faixa etária vem chamando atenção dentro da epidemia de Aids brasileira: os indivíduos acima de 50 anos. No ano de 2007 foram registrados 4715 casos, mais que o dobro do registrado há dez anos, no ano de 1997, que foi de 1966 casos. Hoje, já são 47.437 casos acumulados entre 1980 e 2008, sendo que, até o ano de 1995, havia pouco mais de 7000 casos. Entre as mulheres maiores de 50 anos, os dados são ainda mais preocupantes, pois a incidência de Aids praticamente dobrou nessa população nos últimos dez anos (de 7,3 em 1996 para 14,5 em 2006), além do aumento da taxa de mortalidade (de 5,5 em 1996 para 6,1 em 2006) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b).

Quanto à forma de transmissão, a heterossexual predomina no sexo feminino, com 90,4% dos casos, enquanto no sexo masculino esta forma de transmissão é responsável por apenas 29,7% dos casos. As outras formas compreendem transmissão homo/bissexual masculina (32,9%), uso de droga injetável (27,5%), além de poucos casos de transmissão através de transfusão sanguínea, transmissão vertical e hemofílicos (1,5% juntas). A transmissão vertical (11.796 casos) vem sendo reduzida a cada ano, graças às campanhas de prevenção, acompanhamento pré-natal e tratamento das gestantes e recém-nascidos. No ano de 1997 foram registrados 11.019 casos de crianças infectadas pela mãe, e após 10 anos, houve a redução deste número para 323 casos notificados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007/2008).

Segundo o Ministério da Saúde (2007/2008), a Aids no Brasil acomete, em sua maior parte, a classe menos privilegiada da população, confirmando a tendência de pauperização da doença dos últimos anos. Segundo informações do Ministério da Saúde, 50,2% das pessoas vivendo com Aids possuem até 7 anos de estudo. Somente 7,9% destes pacientes têm escolaridade superior a 12 anos.

2.4.3 HIV/Aids em Mato Grosso do Sul

O primeiro caso de Aids do Mato Grosso do Sul foi diagnosticado no ano de 1984. Atualmente, com a epidemia estabilizada desde 2006, ocupa o 15º lugar em nível nacional de casos acumulados, totalizando 5567 casos notificados entre 1980 e 2008, e 1981 óbitos atribuídos a esta doença. A taxa de incidência no Estado é de 17,3/100.000 habitantes (MATO GROSSO DO SUL, 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007/2008).

Segundo dados da Secretaria Estadual de Saúde de Mato Grosso do Sul (2007b), o município de Campo Grande ocupa o primeiro lugar entre os municípios do Estado com 2715 casos notificados até dezembro de 2007 (representando 58,9% do total de casos do Estado), seguido dos municípios de Dourados (300 casos), Três Lagoas (251 casos), Corumbá (228 casos) e Ponta Porã (127 casos) entre os municípios com maior número de casos. Quando se analisa a incidência de casos de Aids, o município de Ponta Porã ocupa o primeiro lugar, com uma taxa de 43,2/100.000 habitantes, enquanto Campo Grande ocupa o 9º lugar, com 20,11/100.000 habitantes, taxas maiores que a nacional. A faixa etária mais acometida está entre 20 e 39 anos, constituindo 66,9% dos casos. Dentre os casos notificados, 68,5% são do sexo masculino e 31,5% acometem o sexo feminino.

A categoria de exposição mais acometida pela Aids em Mato Grosso do Sul é a heterossexual, com 37% dos casos, além da heterossexual onde se tem parceiro de risco (12%), homossexual (9%), heterossexual/drogas (8%), bissexual (6%), drogas (5%) e transmissão vertical (3%). No ano de 2007 foram notificados cinco casos entre crianças com até 5 anos, e até junho de 2008 nenhum caso havia sido notificado (MATO GROSSO DO SUL, 2007b).

2.4.4 Epidemiologia molecular do HIV-1 no mundo

Atualmente, o HIV-1 do grupo M subtipo C é responsável por 50% dos infectados no mundo, seguido pelos subtipos A, B, D e G, com 12%, 10%, 3% e 6%, respectivamente. Os subtipos F, H, J e K juntos somam 0,94% das infecções. As formas recombinantes circulantes CRF01_AE e CRF02_AG, cada, são responsáveis por 5% dos casos, e o CRF03_AB por 0,1%. Outros recombinantes somam 8% para o restante das infecções. Todas as formas recombinantes juntas são responsáveis por 18% das infecções mundiais (HEMELAAR et al., 2006; KHAN et al., 2006).

A prevalência dos subtipos varia conforme a região estudada. O subtipo A é responsável por 80% das infecções da África Ocidental e 30% da África Oriental, mas também é encontrado na Europa Oriental, como a Rússia e Ucrânia. Estudo realizado no Quênia apontou uma frequência de 56,5% do subtipo A, seguidos pelos subtipos D, C, CRF01_AE, G, além de recombinantes AD, AC e AG (KHOJA et al., 2008). Já o subtipo B encontra-se distribuído mundialmente, sendo o principal componente da epidemia na Europa Ocidental, Américas, Austrália e países

Asiáticos como a Coréia, Índia e Singapura. No Japão o subtipo B é predominante (74%), mas também outros subtipos, como o C (3,5%), A (2%) e F (1%) circulam (REQUEJO, 2006). Um trabalho realizado recentemente em Portugal apontou a prevalência do subtipo B em 41,7% dos indivíduos estudados, mas também encontrou uma diversidade de outros subtipos, como o G, C, F, A, D e J, além de 16,1% de formas recombinantes, sendo o CRF02_AG responsável por 41,4% destas infecções (PALMA et al., 2007). Na China também foi encontrado um padrão peculiar entre os HSH, quando em 2005, 77,5% dos indivíduos eram classificados como subtipo B, e apenas dois anos depois houve uma mudança na distribuição dos subtipos, reduzindo o percentual de subtipo B para 41,9% e crescendo a forma recombinante CRF01_AE de 3,7% para 30,2% (WANG et al., 2008).

O subtipo C predomina no Leste e Sul da África e Sul da Ásia, mas tem sido encontrado em diversas regiões do globo, como Malásia, Sul da China, Índia, Nepal, além de alguns países da Europa, como o Reino Unido. Já o subtipo D é mais restrito ao continente Africano, presente em países do Leste da África como Uganda e Quênia, e do oeste africano, como Camarões. No sul da África há uma recente epidemia por este subtipo, envolvendo inclusive CRF originados desta variante, como o CRF05_DF e CRF10_CD (REQUEJO et al., 2006; THOMSON; NAJERA, 2005).

O subtipo F é restrito a Europa Oriental, principalmente na Romênia, e também em países Sul-americanos, como o Brasil. A variante G é originária da Galícia, no noroeste da Espanha, mas já foi encontrada em Portugal, Cuba, e alguns países africanos, como Camarões, Gabão e Nigéria (REQUEJO et al., 2006; THOMSON; NAJERA, 2005). Os subtipos H, J e K são menos representativos na epidemia e ficam restritos a países da África Central, como a Republica Democrática do Congo, Camarões, Gabão e Angola (THOMSON; NAJERA, 2005).

Algumas Formas Recombinantes Circulantes são mais freqüentes do que subtipos puros em determinadas regiões. O CRF01_AE predomina no sudeste da Ásia, e é responsável por 20% dos casos no Japão. Já o CRF02_AG é predominante no oeste e centro-oeste da África (HEMELAAR et al., 2006; TAKEBE; KUSAGAWA; MOTOMURA, 2004). Estudo realizado com mineiros no Gabão, África Central, apontou uma prevalência de 57% desta variante, seguidos pelos subtipos A (9%) e CRF01_AE ou B (4%) (CARON et al., 2008).

Os países da América Latina apresentam alta frequência dos subtipo B e F, recombinantes BF e do subtipo C, em diferentes proporções. No Chile, o subtipo B é predominante, com 91,4% dos infectados e apenas 8,6% de subtipo F (RIOS et al., 2005). Resultados semelhantes foram encontrados na Venezuela, onde a frequência do subtipo B foi superior a 90%, além de uma forma recombinante BF encontrada (CASTRO et al., 2003). Já Argentina apresenta uma epidemia com perfil diferente, estreitamente relacionada à UDI, e onde os recombinantes BF já são a maioria, além da presença dos subtipos B e F em menor proporção. Além disso, foi isolado neste país o CRF12_BF, e a maioria dos recombinantes BF isolados nos estudos são altamente relacionados com esta variante (CARR et al., 2001; DILERNIA et al., 2007; ESPINOSA et al., 2004). O Uruguai apresenta uma diversidade semelhante à da Argentina, com grande prevalência de recombinantes BF. Outros países como Equador, Peru, Bolívia e Paraguai têm o subtipo B como o mais prevalente (AGUAYO et al., 2008; HIERHOLZER et al., 2002).

2.4.5 Epidemiologia molecular do HIV-1 no Brasil

O primeiro trabalho a relatar a diversidade molecular do HIV-1 no Brasil foi realizado em 1992, com pacientes provenientes do Rio de Janeiro, São Paulo e Bahia (COUTO-FERNANDEZ et al., 1992). Quatro anos depois, Galvão-Castro et al. (1996) descreveu pela primeira vez a prevalência do subtipo B no Brasil, além de um paciente caracterizado como subtipo F. A partir destes dois estudos, vários outros se sucederam com o intuito de monitorar a diversidade genética do HIV-1 no país.

Estudos subsequentes demonstraram a presença de outros subtipos além dos já caracterizados B e F. Em Salvador, Couto-Fernandez et al. (1999) encontraram uma prevalência de 95% do subtipo B e 3,4% do subtipo BF no grupo de transmissão sexual e 89,5% do subtipo B, 3% do subtipo F e 7,5% do subtipo BF no grupo de usuários de drogas injetáveis, além de uma amostra com perfil B/F/E. No ano seguinte, um grupo do Rio de Janeiro, estudando amostras de pacientes provenientes de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, mostrou a presença de 82,9% de subtipo B, 14,3% de subtipo F e 2,9% de amostras do subtipo C. Neste trabalho também foi descrita a variante B brasileira (B^B), caracterizada pela sequência de aminoácidos GWGR no topo da alça V3 do gene *env* (BONGERTZ et al., 2000).

A maior parte dos estudos de diversidade genética do HIV-1 são provenientes do Sudeste. No estado do Rio de Janeiro já foram descritos diversos subtipos, entre eles os subtipos A, C, D e o CRF02_AG, além de recombinantes BF com prevalência variando entre 3,3% e 14,3% (BONGERTZ et al., 2007; CARIDE et al., 2001; COUTO-FERNANDEZ et al., 2005; EYER-SILVA; COUTO-FERNANDEZ; MORGADO, 2007; TEIXEIRA et al., 2004). Em São Paulo, o subtipo B é o mais prevalente, seguido pelos subtipos F, recombinantes BF e C. Alguns trabalhos mais recentes, porém, tem mostrado um aumento na frequência dos recombinantes BF. Dois autores que realizaram trabalho na cidade de Santos relataram altas prevalências de recombinantes BF, 28,9% e 47,4%. Algumas formas recombinantes BC também foram descritas neste estado (GONSALEZ et al., 2007; SÁ-FILHO et al., 2005; SÁ-FILHO et al., 2008; SOUZA et al., 2008; SUCUPIRA et al., 2007).

Cabral et al. (2006) realizaram estudo da prevalência dos subtipos do HIV-1 no estado do Espírito Santo, onde 75,3% dos indivíduos apresentaram o subtipo B, 9,3% o subtipo F, 3,1% o subtipo C e 12,4% de recombinantes BF. Além destes subtipos já descritos, quatro CRFs também foram isolados na Região Sudeste, CRF28_BF e CRF29_BF em São Paulo (SÁ-FILHO et al., 2006), e CRF39_BF e CRF40_BF no Rio de Janeiro (GUIMARÃES et al., 2008).

A região Nordeste apresenta diversidade molecular do HIV-1 semelhante à região Sudeste, com prevalência do subtipo B variando entre 72,6% e 84%, além da presença dos subtipos C, D, F e recombinantes BF, BD e FD (CAVALCANTI et al., 2007; GADELHA et al., 2003; MEDEIROS et al., 2006; MONTEIRO et al., 2009). Há escassez de dados disponíveis da região Norte sobre a diversidade genética do HIV-1 nesta região. Vicente et al. (2000) caracterizaram os subtipos do HIV-1 circulantes na Amazônia, e encontrou uma prevalência maior do subtipo B, seguido pelo F, além de vírus mosaicos BF e BC.

Já na Região Sul, encontra-se uma distribuição diferente do restante do Brasil. No ano de 2002, Martinez et al. (2002) descreveram uma população majoritária de subtipo B, porém com grande número de infecções pelo subtipo C (22%), sendo esta maior que as do subtipo F (3%). No ano de 2003, dois estudos comprovaram este achado e constataram um aumento da circulação do subtipo C, com porcentagem superior a 40% dos pacientes estudados (SOARES et al., 2003a; SOARES et al., 2003b). Os mesmos autores, em 2005, mostraram claramente a inversão de prevalência, agora maior do subtipo C, seguidos dos subtipos B, F e D,

além dos recombinantes FB, DB e BC. Neste trabalho, a infecção pelo subtipo C acometia mais o sexo feminino e pessoas em estágios menos evoluídos da doença (SOARES et al., 2005).

Uma CRF foi descrita na região Sul em 2006, o CRF31_BC, mostrando que esta variante já representava 11% das formas circulantes nesta área (SANTOS et al., 2006). Estudos evolutivos apontam que a variante C brasileira (C_{BR}) possui assinatura própria e provavelmente foi fruto de uma única introdução no sul do país, no início da década de 80. Quando se realiza análise filogenética deste subtipo, verifica-se que o subtipo C_{BR} forma grupo monofilético com amostras provenientes de Burundi, na África (BELLO et al., 2008; SOARES et al., 2003b).

Finalmente, o Centro-Oeste brasileiro tem distribuição similar à região Sudeste. O primeiro trabalho que caracterizou a epidemiologia molecular do HIV-1 nesta região foi realizado em gestantes de Goiás no ano de 2000, demonstrando maior frequência do subtipo B (74,6%) entre a população estudada, bem como os estudos subsequentes deste estado (PEREIRA et al., 2004; PEREIRA et al., 2006; STEFANI et al., 2000). Outro trabalho reuniu amostras provenientes dos estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul e apontou prevalência do subtipo B em 69,9% dos pacientes, seguidos pelos subtipos F (1,7%) e C (1%), e um alto percentual de formas recombinantes diversas, BF, BD, BC e CD, totalizando 14,5% das amostras (STEFANI et al., 2007). O Distrito Federal tem uma distribuição um pouco diferente dos outros Estados, com relatos de subtipo B predominando em cerca de 90% dos pacientes, e o restante de recombinantes BF (CERQUEIRA et al., 2004a; CERQUEIRA et al., 2004b; VERAS et al., 2007).

A diversidade genética do HIV-1 em Mato Grosso do Sul foi descrita em alguns trabalhos, porém com números reduzidos de amostras. Em 2003, Brindeiro et al. realizaram estudo com amostras provenientes de várias regiões brasileiras, incluindo sete do Mato Grosso do Sul, mas apresentou seus resultados em conjunto com a região Norte, demonstrando prevalência do subtipo B (70,59%), F (23,53%) e 5,88% de amostras divergentes. De maneira semelhante, outro estudo publicado no mesmo ano que utilizou 8 amostras deste Estado apontou 62,5% da variante B, 25% de subtipo F e um paciente com a forma recombinante CB (SOARES et al., 2003b). O trabalho mais consistente já apresentado até a atualidade, com dados da variabilidade molecular do HIV-1 no MS foi publicado em 2007, e utilizou 85 amostras de pacientes HIV-1 positivos; os resultados mostraram que Mato Grosso

do Sul apresentava uma imensa variabilidade genética, com 57,6% de pacientes do subtipo B, raros subtipos F (3,5%) e quase 20% de potenciais inter-subtipos mosaicos (STEFANI et al., 2007).

2.5 Presídios

A população carcerária possui características que a torna grupo priorizado do ponto de vista social e epidemiológico (SINGH, 2007a). Segundo De Groot (1999), a prisão é o “lado negro” da civilização, considerando as peculiaridades de vida dessa população. O estilo de vida e o uso de drogas nos presídios implicam um nível de saúde e de cuidados mais precários que na população como um todo, tornando o sistema prisional local de maior risco para vários agravos à saúde (DOLAN et al., 2007; JURGENS, 2004; LOPES et al., 2001; MARTIN, 2000; SINGH, 2007b).

A maior parte dos presidiários vem de setores menos privilegiados da sociedade, com cuidados precários de saúde, encontrando-se, nesses grupos, elevados índices de doenças tais como: hepatite, tuberculose e Aids, com frequências superiores às encontradas na população geral (DAY, 2004; FORD et al., 1995; FORD; WOBESER, 2000; MACALINO et al., 2004; WHO, 2005; WHO/JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME IN HIV/AIDS, 2006). Estudo realizado no Canadá demonstrou maior risco para displasia cervical em mulheres encarceradas comparado às mulheres em geral (MARTIN, 2000). Outro estudo específico realizado por Ford et al. (2000) no Canadá mostrou que 1/3 dos presidiários tinham história de uso de drogas injetáveis e destes, 73% tiveram resultado positivo para hepatite C.

2.5.1 A infecção pelo HIV nos presídios

Condições de confinamento aumentam o risco de infecções relacionadas às práticas sexuais e ao uso de drogas injetáveis, como é o caso do HIV. Vários trabalhos têm relatado altas prevalências de HIV na população prisional, constituindo um sério problema de Saúde Pública no Brasil (BURATTINI et al., 2000; CATALAN-SOARES; ALMEIDA; CARNEIRO-PROIETTI, 2000; LOPES et al., 2001; MASSAD et al., 1999; MIRANDA et al., 2000; OSTI; CASTRO; RICCI, 1999; STRAZZA et al., 2004). Além do confinamento, outros fatores de risco como a marginalização social,

o baixo nível socioeconômico e a escolaridade contribuem para a alta prevalência observada desta infecção (SINGH, 2007b).

Com relação aos dados nacionais, sabemos que o tempo médio de permanência nas prisões de São Paulo é de cerca de 30 meses e a reincidência é grande, caracterizando uma alta rotatividade (BURATTINI et al., 2000; CATALAN-SOARES; ALMEIDA; CARNEIRO-PROIETTI, 2000; HELLARD; AITKEN, 2004). Blanco et al. (2005) realizaram um estudo sobre a aderência ao tratamento com antiretrovirais nas prisões da Espanha, revelando que 54,8% dos indivíduos HIV positivos em tratamento não tomam corretamente seus medicamentos, e enumerando diversos fatores que os levam à falha no tratamento relacionadas às características do sistema prisional.

Estudos conduzidos no exterior que avaliaram a prevalência do HIV em detentos mostram valores situados entre 2,3% e 6%: Canadá 2,0%, 2,1% e 2,3% (CALZAVARA et al., 2007; FORD et al., 2000; POULIN et al., 2007); Austrália 2,1% (HELLARD; AITKEN, 2004); Tailândia 1,5% (WILSON, 2007) e Índia 1,3% e 1,9% (SINGH, 2007b); Estados Unidos 1,8% (MACALINO et al., 2004); Portugal 6,0% (PASSADOURO, 2004). Os estudos brasileiros que avaliaram a prevalência do HIV apontaram valores compreendidos entre 3,2% e 16% (BURATTINI et al., 2000; CATALAN-SOARES; ALMEIDA; CARNEIRO-PROIETTI, 2000; COELHO et al., 2007; KALLAS et al., 1998; LOPES et al., 2001; MASSAD et al., 1999; MIRANDA et al., 2000; OSTI; CASTRO; RICCI, 1999; STRAZZA et al., 2003; STRAZZA et al., 2004).

Diante deste quadro, é fundamental que pessoas vivendo encarceradas tenham acesso à educação em relação a AIDS, testagem para HIV, orientação pré e pós-teste e, para indivíduos HIV positivos, atendimento multiprofissional (WHO, 2006).

De acordo com dados da Agência Estadual de Administração do Sistema Penitenciário do Estado de Mato Grosso do Sul (MATO GROSSO DO SUL, 2007a) existem atualmente cerca de 3300 indivíduos cumprindo pena nas unidades prisionais de regime fechado de Campo Grande/MS. Considerando que não há testagem compulsória na admissão ao sistema prisional, acredita-se que estes dados encontram-se subestimados.

Mato Grosso do Sul se diferencia dos demais estados da federação em relação à população prisional. Quando se considera a proporção de presos por

habitante, o estado ocupa o primeiro lugar no ranking brasileiro. A população carcerária oficial registrada no censo penitenciário de 2007 é de 9304 presos e a estimativa populacional para 2007 é de 2.336.058 habitantes; assim há uma proporção de 4 presos para cada 1000 habitantes (IBGE, 2008; MINISTÉRIO DA JUSTIÇA, 2008).

Considerando a importância clínica e epidemiológica da infecção pelo HIV, é relevante o estudo da sua disseminação nestas populações com características como as do presente estudo, que apresentam elevado risco de exposição a este vírus. Este trabalho teve como objetivos avaliar aspectos epidemiológicos e moleculares da infecção pelo HIV-1 em grupo populacional específico constituído de presidiários do município de Campo Grande/MS. O subtipo genético do HIV-1 foi identificado e analisado juntamente com as informações sociodemográficas e com os principais fatores de risco associados a esta infecção.

Esta análise poderá contribuir para definir melhores estratégias de prevenção e controle da infecção pelo HIV-1 nesta população. Espera-se que os resultados obtidos sirvam de subsídios para as autoridades competentes implementarem novas políticas públicas que tragam melhoria na prevenção, assistência e no tratamento, além de contribuir para o futuro desenvolvimento de vacinas.

Com isso, estará se proporcionando o desenvolvimento técnico e científico do nosso Estado e da nossa região, fornecendo informações a respeito da epidemia do HIV/Aids na população prisional e trazendo uma metodologia de investigação molecular para futuros estudos na nossa população.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo do estudo foi caracterizar o perfil soropidemiológico e molecular da infecção pelo HIV-1 na população prisional de Campo Grande-MS.

3.2 Objetivos específicos

Para o alcance do objetivo geral foram estabelecidos como objetivos específicos:

- a) determinar a prevalência da infecção pelo HIV-1;
- b) identificar os principais fatores associados ao risco de infecção pelo HIV-1 nesta população; e
- c) caracterizar os subtipos genéticos do HIV-1 nesta população.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de Pesquisa

A pesquisa configurou-se como descritiva, quantitativa, de corte transversal.

4.2 População de estudo

O estudo foi realizado no município de Campo Grande-MS e conduzido nos seguintes unidades prisionais de regime fechado: Presídio de Segurança Máxima, Instituto Penal de Campo Grande (IPCG) e Presídio Feminino Irmã Irma Zorzi.

A população das unidades prisionais de regime fechado de Campo Grande, no ano de 2005, totalizava 2640 pessoas, sendo 1912 homens (72,4%) e 728 mulheres (27,6%). Utilizando uma prevalência estimada apresentada em outros estudos de 16% ($\pm 6\%$) (BURATTINI et al., 2000; LOPES et al., 2001; MASSAD et al., 1999; OSTI; CASTRO; RICCI, 1999; STRAZZA et al., 2004), ao nível de significância de 1%, a amostra foi definida em 226 sujeitos. Para a seleção da amostra foi utilizada a técnica de amostragem por conveniência, através da participação voluntária, e o critério de estratificação segundo sexo, sendo a amostra composta de 62 mulheres e 164 homens.

A coleta de dados e das amostras de sangue foi realizada no período de novembro de 2006 a maio de 2007, totalizando 229 indivíduos, sendo 166 homens e 63 mulheres.

Para a caracterização genotípica do HIV-1, além dos 13 pacientes diagnosticados durante o estudo, foram acrescentados 17 pacientes encarcerados com diagnóstico de HIV-1 previamente realizado, totalizando a amostra em 30 indivíduos, para maior contribuição ao conhecimento.

4.3 Critérios de inclusão

Foram utilizados os seguintes critérios para inclusão no presente estudo:

- a) estar recluso em regime fechado nas unidades prisionais anteriormente citadas;

- b) após informação verbal sobre os objetivos e metodologia do trabalho a ser realizado, consentirem na sua participação por escrito;
- c) responder ao formulário padrão para obtenção das informações necessárias, sobre as variáveis a serem estudadas;
- d) submeter-se a coleta de sangue para realização da sorologia para o HIV-1 e posteriormente, para os positivos, a caracterização do subtipo do HIV-1.

4.4 Procedimento de coleta de dados

4.4.1 Entrevista estruturada

Para a identificação dos principais fatores associados ao risco de infecção pelo HIV-1 na população prisional, foi elaborado um formulário (Apêndice A) com informações referentes a: dados pessoais (características sócio-econômicas e demográficas), fatores de risco associados às infecções pelo HIV-1 (antecedente de transfusão sanguínea, cirurgia, tatuagem, piercing, hábitos de higiene pessoal, compartilhamento de objetos pessoais/cortantes, tratamento dentário, uso de drogas inalatórias e injetáveis, alcoolismo, orientação sexual, número de parceiros, uso de preservativos e doenças sexualmente transmissíveis), além de antecedentes pessoais de hepatite/icterícia e vacinação contra hepatite B.

A entrevista foi realizada individualmente, em local reservado, mantendo a privacidade do entrevistado e o sigilo destas informações.

4.4.2 Coleta de material biológico

Após a entrevista, para a identificação do status sorológico, realizou-se a coleta de 10mL de sangue através de punção venosa de veia periférica. As amostras obtidas (soro, sangue total e plasma, os dois últimos utilizando como anticoagulante EDTA K3) foram transferidas para o Laboratório de Imunologia Clínica da UFMS onde foram processadas em temperatura ambiente. O sobrenadante (soro) foi transferido para criotubos de poliestireno (1,5mL), previamente identificados com o número do registro, as iniciais do nome do participante e a data da coleta (dados constantes no formulário de entrevista,

numerado igualmente ao tubo de sangue no momento da coleta). Esse material foi estocado em freezer a -20°C até a realização dos ensaios sorológicos no Laboratório de Imunologia Clínica da UFMS.

Os pacientes com resultado positivo foram submetidos à nova coleta de sangue (10 mL) para a realização de testes confirmatórios. Foi realizada a coleta de sangue para a realização do teste de Quantificação de Carga Viral, Contagem de Linfócitos TCD4+ e TCD8+ e análise genotípica do HIV-1. Foram coletados 5 tubos com 5mL de sangue cada, utilizando como anticoagulante EDTA K3. As amostras para sorologia foram encaminhadas para o Laboratório de Imunologia Clínica da UFMS e as amostras com EDTA foram encaminhadas para o Laboratório Central de Saúde Pública do Mato Grosso do Sul (Lacen/MS) para a realização dos testes de Quantificação de Carga Viral, Contagem de Linfócitos TCD4+ e TCD8+ e separação das alíquotas de sangue total e plasma para análise genotípica do HIV-1. Estas alíquotas foram armazenadas em freezer -80°C , no Lacen/MS e posteriormente enviadas em gelo seco para o Laboratório de Imunologia da AIDS e Hanseníase do IPTSP/UFG, em Goiânia/GO, onde esta etapa foi realizada.

4.4.3 Palestra e distribuição de preservativos

Na ocasião da visita à instituição penal, foram realizadas pela equipe de pesquisadores (médicos, farmacêuticos, psicólogo e alunos de graduação de Farmácia e Medicina) palestras educativas sobre DST e AIDS e distribuição de preservativos para os grupos de internos selecionados para a entrevista.

4.5 Processamento e análise dos dados

Os dados referentes às entrevistas foram organizados e tabulados em formulário eletrônico (Planilha do Microsoft Excel) para o agrupamento e construção de tabelas/figuras com vistas à interpretação dos dados, gerando informações sobre os fatores associados à ocorrência de HIV. Foi utilizado o programa EPI Info 3.4.1 (DEAN et al., 2007) para cálculos de frequências, médias e medianas das principais variáveis. Para verificar possíveis associações entre as variáveis de estudo foram utilizados os testes Qui-quadrado, Qui-quadrado de tendência e teste exato de Fisher, e calculadas as razões de prevalência, com os respectivos intervalos de

confiança de 95%. Para estimar as razões de prevalência ajustadas, foi utilizada a Regressão de Cox (com tempo igual a uma unidade), tendo sido selecionadas as variáveis com significância $>$ que 20% ou que apresentavam relevância clínica-epidemiológica.

4.6 Procedimentos laboratoriais

4.6.1 Sorologia para HIV-1

As amostras coletadas nas unidades prisionais anteriormente citadas foram encaminhadas ao Laboratório de Imunologia Clínica da UFMS e inicialmente testadas para detecção do antígeno p24 por meio do ensaio imunoenzimático (ELISA), empregando-se reagente comercial (Bio-Rad Genetic Systems HIV-1 Antigen EIA - HIV-Ag detection, France). Os resultados positivos e indeterminados foram confirmados pelo método Western Blot (Bio-Rad New Lav Blot I, France), conforme instruções do fabricante e obedecendo a Portaria nº 59 de 28 de janeiro de 2003, MS, Brasil, que padroniza o conjunto de procedimentos seqüenciados para detecção de anticorpos anti-HIV em indivíduos com idade acima de 02 (dois) anos (BRASIL, 2003).

4.6.2 Quantificação de Carga Viral e Contagem de Linfócitos TCD4+ e TCD8+

Os exames para monitoramento da infecção pelo HIV-1 foram realizados no Lacen/MS, sendo a quantificação de Carga Viral através da metodologia bDNA (VERSANT HIV-1 RNA 3.0 Assay, Siemens) e a contagem de linfócitos TCD4+ e TCD8+ pela técnica de citometria de fluxo (FACSCalibur™ system, Becton, Dickinson and Company).

4.6.3 Caracterização genotípica do HIV-1

A caracterização dos subtipos do HIV-1 foi realizada mediante análise das regiões genômicas *gag* e *pol*. A região *gag* foi analisada utilizando o Ensaio de Mobilidade de Heteroduplex (HMA) (HEYNDRICKX et al., 2002). Para análise da

região do gene *pol* foi realizado sequenciamento automatizado (SANGER; NICKLEN; COULSON, 1977).

4.6.3.1 Caracterização genotípica da região *gag*

O ensaio de HMA da região *gag* foi realizado utilizando-se iniciadores e plasmídeos contendo DNA de cepas de referências fornecidos pelo “AIDS Reagent Program” do “National Institute of Health (NIH)/AIDS Research and Reference Reagent Program, USA”. O HMA e a identificação do subtipo do HIV-1 foram realizados segundo protocolo do “AIDS Reagent Program”, “Heteroduplex Mobility Analysis – “HIV-1 group M *gag* Heteroduplex Mobility Analysis (HMA) Subtyping Kit” (HEYNDRICKX et al., 2002).

O HMA baseia-se na mobilidade eletroforética de híbridos de DNA obtidos mediante a associação de DNA proviral do HIV-1 de pacientes com seqüências de DNA de cepas de referências. Os híbridos formados são analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida 5%, corados por brometo de etídio e analisados sob luz ultravioleta.

4.6.3.1.1 Extração e purificação do DNA genômico do HIV-1

A obtenção do DNA genômico foi feita a partir de sangue total, onde inicialmente são lisadas as hemácias e em seguida as células mononucleares periféricas (CMP). O sangue total (500µL) foi acrescentado a 2mL de solução lítica (solução A: Triton X-100, MgCl₂ 1M, Tris HCl 1M e Sucrose 1M) para lise das hemácias, depois centrifugado a 4000rpm por 15 minutos. A lise das CMP foi realizada através da utilização de 1mL da solução lítica DNAzol – Tiocianato de guanidina, Isocianato de guanidina, Monotiocianato de guanidina e ácido tiocianato (Molecular Research Center Inc. Cincinnati, Ohio, USA). Aguardou-se 15 minutos para a lise das CMP.

O DNA genômico foi precipitado com 500µL de etanol 100% e resfriado a -80°C durante 1 hora. O material foi centrifugado a 14000rpm em temperatura ambiente durante 25 minutos. O precipitado foi lavado duas vezes com etanol 80%, secado a 60°C por 30 minutos e solubilizado com um volume de 50µL de tampão Tris-EDTA 1X (Tris HCl 1M, pH 8,0 e EDTA 0,1M).

4.6.3.1.2 Amplificação do DNA Proviral por “Nested-PCR”

Na primeira etapa de amplificação do gene *gag*, foram empregados os iniciadores H1G777 (5' TCACCTAGAACTTTGAATGCATGGG 3') e H1P202 (5' CTAATACTGTATCATCTGCTCCTGT 3') que amplificam um fragmento de 1,1kb. O fragmento gerado compreende a região que codifica a partir do aminoácido 16 da proteína do capsídeo p24 até o aminoácido 33 da enzima protease.

Na segunda etapa os iniciadores utilizados foram H1Gag1584 (5' AAAGATGGATAATCCTGGG 3') e g17 (5' TCCACATTTCCAACAGCCCTTTTT 3') que amplificam um fragmento de 460 pb correspondendo à região que codifica para o aminoácido 132 da proteína p24 até o aminoácido 40 da proteína do nucleocapsídeo p7 (tendo como referência o genoma do isolado ELI).

O iniciador alternativo HGHMA822 (5' GCTTTCAGCCCAGAAGTAATACC 3') e o iniciador g17 foram utilizados na segunda etapa do PCR quando a amostra não foi amplificada pelos iniciadores anteriormente citados. Nas duas etapas de amplificação do fragmento *gag* o seguinte programa de ciclagem foi utilizado no termociclador (Perkin Elmer – GeneAmp PCR Systems 2400, Connecticut, USA; MJ Research – PTC – 150 Minicycler version 3.0, CA, USA): 94°C 2 minutos, 35 ciclos a 94°C 30 segundos, 50°C 30 segundos, 72°C 90 segundos, 1 ciclo 72°C 7 minutos, 4°C por tempo indeterminado.

4.6.3.1.3 Amplificação de Cepas de Referência Contidas em Plasmídeos

Cepas de referência contidas em plasmídeos foram amplificadas na região *gag* com os iniciadores do segundo ciclo da “Nested-PCR”. Os plasmídeos contendo cepas de referência foram utilizados na concentração de 10 ng/μL (10 mM de tris HCl pH 7,4 e 0,1 mM de EDTA pH 8,0). Para a subtipagem genética do HIV-1 na região *gag* foram empregadas as seguintes cepas de referência, representando os subtipos genéticos mais prevalentes no Brasil: B₁, B₂, B₃, C₁, C₂, D₁, D₂, F₁, F₂.

4.6.3.1.4 Eletroforese em Gel de Agarose 1%

Para confirmação de amplificação dos fragmentos *gag* do HIV-1 e das cepas de referências, os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de

agarose 1% (GIBCO - Life Technologies, USA), preparado em TAE - Tris Acetato EDTA (GIBCO - Life Technologies, USA).

As amostras (5 μ L de material amplificado + 2 μ L de corante marcador da corrida: Sacarose 40% e Xileno Cianol 0,2% + 5 μ L de Água Milli-Q) foram aplicadas no gel de agarose em paralelo com o padrão de peso molecular (100 pb DNA Ladder, GIBCO - Life Technologies, USA). A corrida eletroforética foi realizada em cuba horizontal (Horizon 11-14 and 25-25 Gel Electrophoresis Apparatus, GIBCO – Life Technologies, USA) durante uma hora a 100V (Bio - RAD Power Pac 300, USA), em tampão TAE com brometo de etídio 0,005%.

Os produtos de amplificação foram analisados em gel de agarose 1%, sob luz ultravioleta ao comprimento de onda de 310 nm (Foto/Prepl Preparative DNA Transilluminator - Fotodyne; Hartland, USA). A visualização de bandas fluorescentes de aproximadamente de 500 pb em relação ao padrão de peso molecular, foram interpretadas como positivas na amplificação.

4.6.3.1.5 Ensaio da Mobilidade do Heteroduplex (HMA)

O HMA consiste na análise da mobilidade eletroforética de híbridos ou “heteroduplexes” em gel de poliacrilamida 5%. Os “heteroduplexes” (híbridos de amostras HIV-1 dos pacientes e as cepas de referência) são formados após a desnaturação por calor a uma temperatura de 94°C, durante 2 minutos e a renaturação rápida por resfriamento em gelo, durante 10 minutos. No reanelamento são gerados “homoduplexes”, mediante renaturação das fitas originais de DNA da amostra de HIV-1 do paciente e das fitas de DNA das cepas de referências. Além disso, híbridos ou “heteroduplexes” são formados pela renaturação de uma das fitas de DNA da cepa de referência com uma das fitas de DNA proveniente do HIV-1 do paciente.

4.6.3.1.5.1 Preparação do Gel de Poliacrilamida 5%

A solução estoque de acrilamida/bisacrilamida foi preparada com 30% Acrilamida, 0,8% Bisacrilamida e Água Milli-Q®. O TBE 10X foi preparado a partir de ácido bórico 5,5%, tris-base 10,8%, 40mL de EDTA pH 8,0 e água Milli-Q® quantidade suficiente para 1000 mL. Para a subtipagem genética do HIV-1 na região

gag, o gel de poliacrilamida 5% foi preparado com 20% de uréia (Invitrogen – Life Tech, CA, USA)

O gel de poliacrilamida foi polimerizado durante 60 minutos em placas de vidro (16cm de altura X 19,5cm da placa anterior e 19cm X 19,5cm da placa posterior, com espaçadores de 1,5 mm de espessura e pentes com 20 canaletas).

4.6.3.1.5.2 Identificação dos híbridos na região *gag*

Os “homoduplexes” e “heteroduplexes” de HIV-1 nas regiões *gag* foram separados por eletroforese (V16-2 Vertical Gel Apparatus, GIBCO - Life Technologies, USA) com tampão TBE 1X (Tris-Borato-EDTA) a 250V (Power Pac 300, BIO-RAD Laboratories, Inc., USA), durante 3 horas em gel de poliacrilamida 5%. Os géis foram corados com brometo de etídio 0,005% por vinte minutos e os “homoduplexes” e “heteroduplexes” de *gag* foram visualizados no transluminador sob luz ultravioleta de comprimento de onda igual a 310nm (FOTO/Prepl Preparative DNA Transilluminator - Fotodyne; Hartland, USA) e fotografados com câmera digital (DC290 Zoom KODAK Digital Câmera, Rochester, NY, USA). As imagens obtidas foram analisadas através do programa 1D Image Analysis Software Windows Limited Edition, version 3.5, NY, USA e arquivadas no computador do Laboratório de Imunologia da Aids/Hanseníase do IPTSP.

A identificação do subtipo do HIV-1 nas amostras dos pacientes baseia-se no fato de que os “heteroduplexes” de *gag* formados entre a amostra de HIV-1 teste e a cepa de referência com maior homologia genética exibem maior mobilidade no gel de poliacrilamida.

Na região de *gag*, que é uma região mais conservada, alguns subtipos geneticamente próximos, como os subtipos B e D, podem apresentar semelhantes perfis de migração eletroforética no HMA *gag*. Neste caso, para melhor discriminação dos subtipos, foi realizada eletroforese em gel de poliacrilamida 5% com 30% de uréia. De acordo com o protocolo da “AIDS Reagent Program”, a concentração aumentada de uréia permite a distinção entre subtipos que são filogeneticamente muito próximos, o que possibilita uma maior mobilidade de migração ao “heteroduplex” de maior homologia.

A figura 3 mostra um fluxograma que resume as etapas da caracterização genotípica da região *gag*.

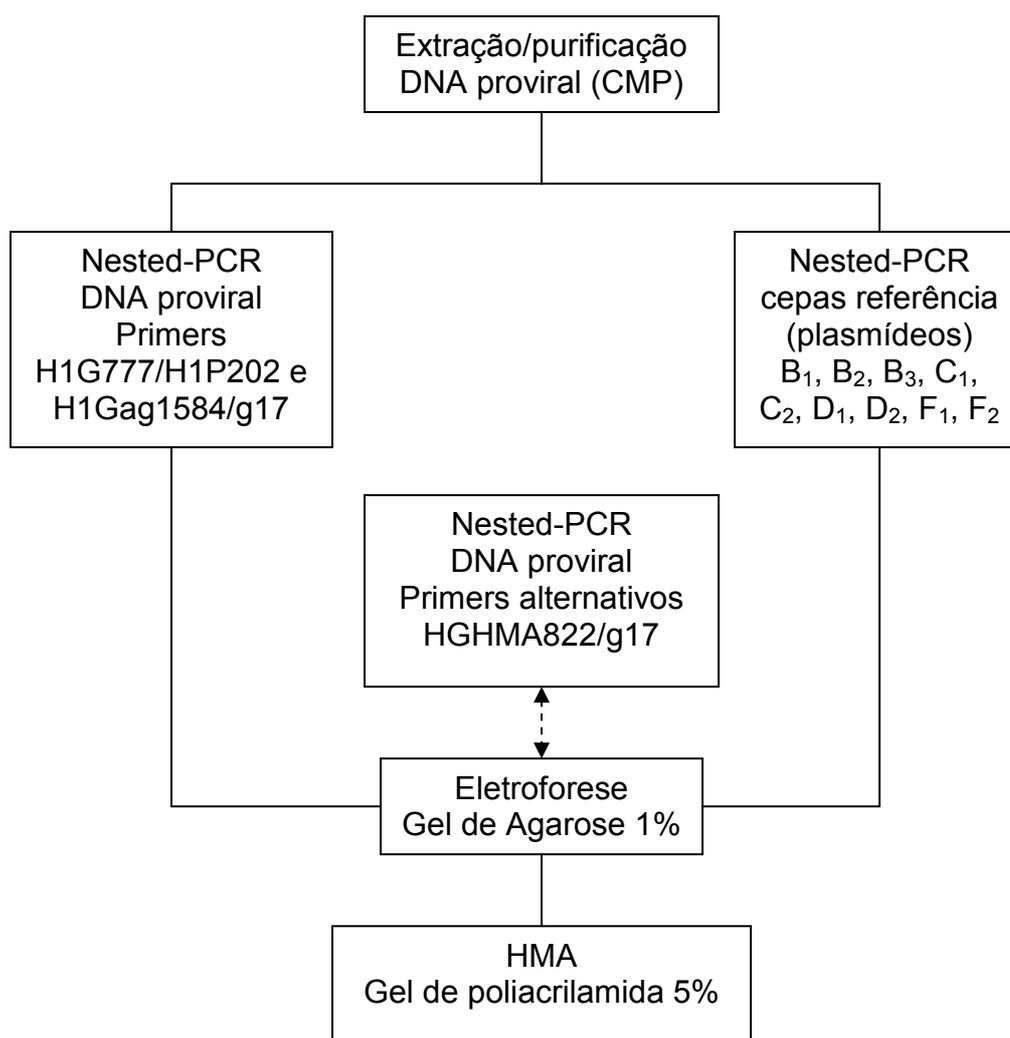


Figura 3 - Fluxograma da caracterização genotípica da região *gag*

4.6.3.2 Caracterização Genotípica da Região *pol*

O seqüenciamento da região genômica *pol* consiste em obter a sequência nucleotídica das regiões alvo estudadas, protease e transcriptase reversa, através da amplificação por “Nested-PCR” utilizando iniciadores específicos para cada região, e submeter esta sequência à programas de bioinformática que farão a análise e interpretação do genótipo desta amostra, baseado na disposição dos seus aminoácidos comparado à uma cepa de referência.

Esta técnica envolve diversas etapas, que serão descritas individualmente a seguir.

4.6.3.2.1 Extração do RNA viral

A obtenção do RNA viral foi realizada a partir do plasma. Para esta etapa foi utilizado o kit comercial QIAamp[®] Viral RNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). Nesta técnica, a amostra é primeiramente lisada em altas condições de desnaturação para inativar RNases e garantir o isolamento intacto do RNA viral. As condições de tamponamento são então ajustadas para promover uma ótima ligação do RNA à membrana e então a amostra é carregada dentro das colunas. O RNA se liga às membranas de gel de sílica e os contaminantes são eficientemente lavados em duas etapas usando dois diferentes tampões de lavagem. O RNA de alta qualidade é eluído em um tampão especial, livre de RNase, e pronto para ser usado ou estocado. O RNA purificado é livre de proteínas, nucleases e outros contaminantes e inibidores.

A amostra (140µL de plasma) foi adicionada à solução de lise (560µL de RNA carreador dissolvido em tampão AVE - preparado segundo instruções do fabricante) e incubada por 10 minutos à temperatura ambiente (15-25°C). Após a lise completa das partículas virais, o RNA foi precipitado com 560µL de etanol (96-100%) e posteriormente transferido para a coluna (QIAamp Spin Column), onde foi centrifugado a 8000 rpm por 1 minuto. Na etapa seguinte, realizou-se duas lavagens com tampões específicos do kit, para retirar as proteínas e outros contaminantes e obter ao final do processo um RNA purificado. A eluição do RNA extraído foi realizada adicionando 60µL de tampão AVE à coluna e centrifugando a 8000 rpm por 1 minuto. O produto da extração foi armazenado em freezer a -80°C.

4.6.3.2.2 Obtenção de cDNA através de RT-PCR para a região pol

A reação de transcrição reversa para obtenção do DNA complementar foi realizada a partir das amostras de RNA anteriormente citadas. Para esta etapa foram preparados dois mixes, o primeiro (Mix 1) contendo, para cada amostra, 4µL de tampão (5x *First Stand Buffer* - Invitrogen[®]), 1µL de agente redutor ditioneitol (DTT) 0,1M, 1µL de RNase out 40 U/mL, 1µL de enzima Super Script III RT 200 U/µL e 1 µl de água ultra pura (Gibco). O Mix 2 era composto por 1µL de iniciadores randômicos 150ng/µL e 1µL de dNTP mix 10mM.

Em microtubo para PCR foram adicionados 3 μ L de Mix 2 e 10 μ L de amostra extraída, e incubado a temperatura de 65°C por 5 minutos, sendo realizado em seguida um choque térmico em gelo durante 1 minuto. Foi distribuído aos mesmos microtubos de PCR (já contendo o Mix 2 e as amostras) 7 μ L do Mix 1 e levado ao termociclador (Perkin Elmer - GeneAmp PCR Systems 2400, Connecticut, USA; MJ Research - PTC - 150 Minicycler version 3.0, CA, USA), programado com a seguinte ciclagem: 25°C por 5 minutos, 50°C por 60 minutos e 70°C por 15 minutos. O cDNA sintetizado foi armazenado à -80°C até o momento do uso.

4.6.3.2.3 Reação de Nested-PCR para a região *pol*

O cDNA do HIV-1 foi amplificado por meio de “Nested-PCR”, utilizando um conjunto de iniciadores específicos para duas regiões diferentes do gene *pol*: o gene completo da Protease (nucleotídeos 2253-2549, relativo a sequência referência HXB2, número de acesso ao GenBank, K03455) e o fragmento de 750 pb do gene da Transcriptase Reversa (HXB2, 2550-3299).

A PCR foi realizada em um volume final de 50 μ L, contendo 5 μ L de tampão 10x (Invitrogen), 3,5 μ L de MgCl₂ 50mM (Invitrogen), 0,8 μ L de dNTP 25mM (Invitrogen), primers externos: 1 μ L de Kozal-1 (5'-CAGAGCCAACAGCCCCACCA-3') e 1 μ L de Kozal-2 (5'-TTTCCCCACTAACTTCTGTATGTCATTGACA-3') a 10 pmol/ μ L cada (Gibco) (KOZAL et al., 1996), 0,25 μ L de enzima Taq polimerase 5 U/ μ L (Invitrogen), 5 μ L do cDNA obtido por RT-PCR e 33,45 μ L água ultra pura (Gibco), gerando um produto de amplicon de 1192 bp. A reação foi amplificada em um termociclador (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems Inc, Foster City, CA, USA), programado com o seguinte ciclo térmico: 1 ciclo 94°C por 1 minuto, 35 ciclos 94°C por 45 segundos, 55°C por 45 segundos, 72°C por 2 minutos, 1 ciclo 72°C por 10 minutos e 4°C por tempo indeterminado.

Na segunda etapa da “Nested-PCR” do gene *pol* (HXB2, 2197-3321) foram utilizados 5 μ L do produto da PCR gerado no 1° ciclo, adicionados a uma mistura de 71,9 μ L de água ultra-pura, 10 μ L de tampão 10x (Invitrogen), 7 μ L de MgCl₂ 50mM (Invitrogen), 1,6 μ L de dNTP 25mM (Invitrogen), primers internos: 2 μ L de DP10 (5'-TAACTCCCTCTCAGAAGCAGGAGCCG-3') e 2 μ L de Frenkel-2 (5'-GTATGTCATTGACAGTCCAGC-3') a 10 pmol/ μ L cada (Gibco) (FRENKEL et al.,

1995), 0,5 μ L de enzima Taq polimerase 5 U/ μ L (Invitrogen). As amostras foram amplificadas no mesmo termociclador e com o mesmo ciclo referido anteriormente. O produto gerado foi um amplicon de 1125 bp.

4.6.3.2.4 Eletroforese em gel de agarose 1%

Para confirmação de amplificação dos fragmentos *pol* do HIV-1, os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% (Gibco), preparado em tampão Tris-Acetato-EDTA (TAE 1x, Gibco) na presença de brometo de etídio 0,005%.

As amostras (4 μ L de material amplificado + 1 μ L de corante marcador da corrida - azul de bromofenol puro) foram aplicadas no gel de agarose em paralelo com o padrão de peso molecular (100 bp Low DNA Mass Ladder, Invitrogen). Este marcador de peso molecular consiste em uma mistura de fragmentos de 2000, 1200, 800, 400, 200 e 100 bp contendo 200, 120, 80, 40, 20, e 10 ng de DNA, respectivamente.

A corrida eletroforética foi realizada em cuba horizontal (Horizon 11-14 e 25-25 Gel Electrophoresis Apparatus, Gibco-Life Technologies, USA) durante 60 minutos a 100V e 400 mA. Os produtos de amplificação foram analisados no gel de agarose 1% sob luz ultravioleta de 310 nm (Foto/Prepl Preparative DNA Transilluminator - Fotodyne; Hartland, USA).

4.6.3.2.5 Purificação do produto obtido através da Nested-PCR

A fim de eliminar impurezas contidas no produto de amplificação obtido, e evitar picos inespecíficos durante a fase de seqüenciamento, foi realizada a purificação do produto de Nested-PCR para todas as amostras.

Foi utilizado o kit comercial QIAquick[®] PCR Purification Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany), que utiliza o método da absorção da amostra de DNA pela membrana de sílica na presença de alta concentração de sais caotrópicos e de pH $\leq 7,5$ favorecido pelos tampões de ligação. Os contaminantes (iniciadores, sais, enzimas, nucleotídeos não incorporados, óleos e detergentes) passam através da coluna e são eficientemente descartados durante as etapas de lavagem. O DNA

puro é eluído com tampão Tris ou água, que provoca a redução do pH e redução da concentração de sais.

Foram adicionados 96µL de amostra a 480µL de tampão PBI (fornecido pelo fabricante), e esta mistura transferida à coluna, que após centrifugação rápida a 13000 rpm, permitiu a ligação do DNA à coluna de sílica. Em seguida, realizou-se lavagem com tampão fornecido pelo fabricante, descartando os contaminantes presentes. Finalmente, fez-se a eluição do DNA com 50µL de Tampão EB (10 mM Tris Cl, pH 8,5) e centrifugada a 13000 rpm por 60 segundos. Ao término da centrifugação, o DNA purificado foi armazenado a -20°C.

4.6.3.2.6 Preparação para sequenciamento da região pol

Os produtos de PCR foram seqüenciados automaticamente (SANGER; NICKLEN; COULSON, 1977), utilizando o kit DYEnamic ET Dye Terminator (GE Healthcare) e os seguintes primers internos:

Primer	Sequência nucleotídica	Localização HXB2*
DP10	5' TAACTCCCTCTCAGAAGCAGGAGCCG 3'	2198-2223
DP11	5' CCATTCCTGGCTTTAATTTTACTGGTA 3'	2572-2598
DP16	5' CCTCAAATCACTCTTTGGCAAC 3'	2253-2274
DP17	5' AAAATTTAAAGTGCAGCCAAT 3'	2529-2549
RT1	5' CCAAAAGTTAAACAATGGCCATTGACAGA 3'	2604-2632
RT9	5' GTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTC 3'	2469-2598
F2	5' GTATGTCATTGACAGTCCAGC 3'	3301-3321
F3	5' TATCAGGATGGAGTTCATAAC 3'	3241-3261

* Localização dos primers relativo à sequência referência do HIV-1 (HXB2 n° de acesso ao GeneBank K03455)

Em placas de 96 poços (Applied Biosystems Inc, Foster City, CA, USA) foram adicionados 2µl de produto de PCR purificado, 3µl de tampão de sequenciamento 5x (Applied Biosystems Inc, Foster City, CA, USA), 4µl de cada um dos 8 primers separadamente a 1,5 pmol/µL (Gibco) (DP10, DP11, DP16, DP17, RT9, RT1, F2 e F3), 1 µl de DyeNamic ET Dye Terminator (GE Healthcare) e 5µl de água ultra pura (Gibco). A placa foi levada ao termociclador (GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems Inc, Foster City, CA, USA), com o seguinte programa de ciclagem: 25 ciclos de 95°C 20 segundos, 50°C 15 segundos, 60°C 60 segundos.

4.6.3.2.7 Precipitação da placa para sequenciamento

Este procedimento foi realizado sob proteção da luz com papel alumínio para evitar a degradação do BigDye, que é fotossensível. O processo de precipitação utilizou o Isopropanol 65% (Merck), seguido de incubação a temperatura ambiente por 20 minutos e centrifugação por 45 minutos a 20°C. Ao final do processo, descartou-se o sobrenadante e foi realizada a lavagem da placa com etanol 60% (Merck) e centrifugação por 10 minutos. Após descarte do sobrenadante, e secagem da placa em termociclador (95°C, 2 minutos) ou estufa 37°C por 15 minutos.

4.6.3.2.8 Desnaturação da placa para sequenciamento

Para a realização da desnaturação das fitas de DNA, à placa seca adicionou-se 10µL de formamida Hi-Di (Applied Biosystems Inc, Foster City, CA, USA) por poço e levou-se a mesma ao termociclador por 5 minutos a 95°C, e em seguida foi colocada em gelo. A partir deste momento a placa pode ser levada ao sequenciador automático para leitura.

4.6.3.2.9 Sequenciamento automático da região pol

A leitura dos eletroferogramas foi realizada em sequenciador automático (ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer, Applied Biosystems) do Laboratório de Genética e Genômica de Plantas, Instituto de Ciências Biológicas 1 (ICB-I/UFG) sob responsabilidade do Professor Doutor Alexandre Siqueira Guedes Coelho.

4.6.3.2.10 Análise dos cromatogramas

Após a obtenção dos cromatogramas, as sequências foram submetidas ao programa Phred (EWING et al., 1998) para serem avaliadas quanto à qualidade. As sequências foram editadas manualmente por comparação de complementaridade dos contigs e alinhadas com a sequência de referência HXB2 através do programa *Staden Package* 1.6 para Windows (<http://staden.sourceforge.net/>). Este programa consiste em uma série de ferramentas para preparação das sequências (pregap4),

montagem e edição (gap4) e análise de sequências de DNA e proteínas (spin) e foi obtido gratuitamente através do site <http://staden.sourceforge.net/>.

Todas as seqüências geradas através da edição manual no programa *Staden Package* foram submetidas a análises de controle de qualidade para garantir ausência de possíveis contaminações entre as amostras. Esta análise foi realizada através do programa de bioinformática HIV Quality Analysis Pipeline (LEHVASLAIHO; HIDE; OLIVEIRA, 2009), que testa as seqüências para possíveis existências de contaminações usando BLAST (comparação) com um banco de dados público no GenBank de aproximadamente 200.000 seqüências de HIV publicadas e um BLAST com o banco de dados interno do laboratório. Em adição, as sequências também foram submetidas à inspeção visual através do alinhamento realizado pelo programa Bioedit para garantir ausência de possíveis contaminações entre as amostras (HALL, 1999).

A definição dos subtipos genéticos do HIV-1 dos isolados estudados foi realizada empregando diversas ferramentas de subtipagem do HIV-1 como: programa REGA HIV-1 versão 2.0 (OLIVEIRA et al., 2005) através do site <http://www.bioafrica.net/subtypetool/html/>, programa Jumping Profile Hidden Markov Model (jpHMM-HIV) (ZHANG et al., 2006) através do site <http://jphmm.gobics.de/> e por inferência filogenética.

A figura 4 mostra o fluxograma da etapa de caracterização genotípica do gene *pol* através da técnica de sequenciamento.

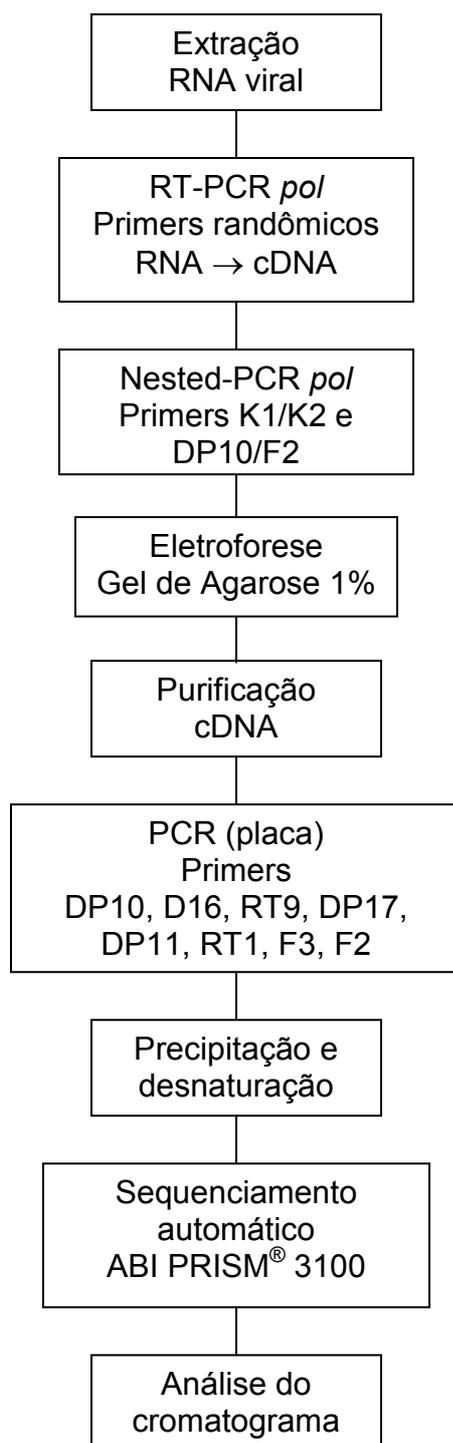


Figura 4 - Fluxograma da caracterização genotípica da região *pol*

4.7 Acompanhamento pós-teste

Após a realização dos testes laboratoriais, os participantes tiveram acesso aos resultados. A divulgação foi realizada individualmente (diretamente ao paciente, garantindo o sigilo das informações contidas no exame), em local reservado, por um médico integrante da equipe de pesquisadores do projeto, que fez as devidas orientações ao paciente conforme o resultado do exame.

No caso dos pacientes que foram diagnosticados como HIV-1 positivos, os mesmos foram encaminhados para um serviço especializado (CEDIP/Hospital-Dia Nova Bahia) para avaliação clínica e laboratorial, e, se necessário, tratamento.

4.8 Aspectos éticos

Este trabalho faz parte de um estudo mais amplo intitulado “Estudo clínico, epidemiológico e molecular do HIV/AIDS em usuários de drogas injetáveis e presidiários de Mato Grosso do Sul e caminhoneiros de Goiás, Brasil Central”, aprovado pelo Ministério da Saúde/Unesco em janeiro de 2006, chamada n° 03/2005, processo licitatório n° 324/2005), cujo projeto foi submetido à análise do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal (UNIDERP) através do protocolo n° 059/05, aprovado em 17/11/2005.

O projeto também foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), protocolo n° 1143, sendo aprovado em 04 de junho de 2008 (Anexo A).

Por se tratar de pesquisa envolvendo seres humanos, e em atendimento às recomendações contidas na Resolução 196/96 (BRASIL, 2005), o presente estudo contém o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B).

5 RESULTADOS

5.1 Características sociodemográficas e epidemiológicas

Os dados sociodemográficos da população encarcerada de Campo Grande-MS incluídos neste estudo estão descritos na Tabela 1.

A amostra foi composta por 229 indivíduos, sendo 166 homens (72,5%) e 63 mulheres (27,5%). A faixa etária mais prevalente foi entre 21 e 30 anos (91/229, 39,7%), com maior concentração da população estudada na faixa etária entre 21 e 40 anos, com 172 pessoas (75,1%). Indivíduos com idade superior a 60 anos representaram 1,7% (4/229) e 2,6% (6/229) possuíam entre 18 e 20 anos.

A escolaridade desta população apresentou-se baixa, com 70,7% das pessoas possuindo apenas o ensino fundamental, e na maior parte, incompletos. Alguns entrevistados são analfabetos (10/229), enquanto que 2,6% relataram ter completado o ensino superior (6/229), e 20,5% completaram o ensino médio (47/229).

A renda familiar apresentou-se diversificada, com 34,9% dos indivíduos com renda menor que 2 salários mínimos (80/229), 47,6% com renda de 2 a 5 salários (109/229), 4,8% com rendimentos de 6 a 9 salários (11/229) e 0,9% relatando renda superior a 9 salários mínimos (2/229).

Quanto ao estado civil da população carcerária, observamos que 51,5% (118/229) dos indivíduos não têm parceiro fixo. Destes, 40,2% relataram ser solteiros (92/229), 7,4% separados (17/229) e 3,9% viúvos (9/229). Entre os que possuem parceiros fixos (110/229), 14,8% revelaram ser casados (34/229) e 33,2% se dizem amasiados (76/229).

A maior parte dos presidiários do município de Campo Grande-MS, 68,1%, é natural da região Centro-Oeste (156/229). Destes, 144 são do estado de Mato Grosso de Sul. Em segundo lugar observamos indivíduos do Sudeste, com 20,1% dos entrevistados (46/229), seguidos pela região Sul com 7% (16/229), Norte e Nordeste juntos com 3,1% (7/229) e ainda 1,3% de estrangeiros (3/229), procedentes do Paraguai, Uruguai e Peru.

Tabela 1 - Distribuição da população prisional segundo características sociodemográficas, Campo Grande - 2009 (n=229)

Variáveis	Nº.	%
Sexo		
Masculino	166	72,5
Feminino	63	27,5
Idade		
Sem informação	1	0,5
18 - 20 anos	6	2,6
21 - 30 anos	91	39,7
31 - 40 anos	81	35,4
41 - 50 anos	33	14,4
51 - 60 anos	13	5,7
Acima de 60 anos	4	1,7
Grau de Instrução		
Sem informação	4	1,8
Analfabeto	10	4,4
Ensino Fundamental	162	70,7
Ensino Médio	47	20,5
Ensino Superior	6	2,6
Renda familiar (Salários Mínimos)		
Sem informação	27	11,8
Menos que 2	80	34,9
2 a 5	109	47,6
6 a 9	11	4,8
Acima de 9	2	0,9
Estado Civil		
Sem informação	1	0,4
Solteiro	92	40,2
Amasiado	76	33,2
Casado	34	14,9
Separado	17	7,4
Viúvo	9	3,9
Naturalidade		
Sem informação	1	0,4
Centro-Oeste	156	68,1
Sudeste	46	20,1
Sul	16	7,0
Norte/Nordeste	7	3,1
Estrangeiros	3	1,3
MS ⁽¹⁾	144	62,9

⁽¹⁾ Os indivíduos do MS estão inseridos no total do Centro-Oeste.

Os dados constantes na tabela 2 mostram a população carcerária estudada e os principais fatores associados à ocorrência do HIV-1.

Tabela 2 – Distribuição da população carcerária segundo fatores associados à ocorrência do HIV-1, Campo Grande - 2009 (n=229)

Variáveis	N°.	%
N° de prisões		
1	101	44,1
2	56	24,5
3 – 5	60	26,2
6 – 10	8	3,5
Acima de 10	4	1,7
Já teve alguma DST		
Sem informação	7	3,1
Não	132	57,6
Sim	90	39,3
Tatuagem		
Não	100	43,7
Sim	129	56,3
Piercing		
Sem informação	2	0,9
Não	199	86,9
Sim	28	12,2
Transfusão de sangue		
Sem informação	6	2,6
Não	175	76,4
Sim	48	21,0
Relação homossexual		
Sem informação	2	0,9
Não	173	75,5
Sim	54	23,6
Preservativo		
Sem informação	2	0,9
Sempre	48	21,0
Ocasionalmente	128	55,9
Nunca	51	22,2
Teve relação sexual nos últimos 6 meses		
Sem informação	3	1,3
Não	84	36,7
Sim	142	62,0

A população estudada foi investigada quanto ao número de prisões, e a maioria, 44,1% (101/229) relatou ser o primeiro episódio. Já 24,5% (56/229) disseram estar presos pela segunda vez, enquanto que 26,2% (60/229) já foi preso entre 3 e 5 vezes. Poucos encarcerados relataram ter mais de 6 aprisionamentos (3,5% - 8/229), e apenas 1,7% dos indivíduos (4/229) já estiveram na prisão mais de 10 vezes.

Foi avaliada também a ocorrência de doenças sexualmente transmissíveis (DST) entre a população carcerária. A minoria, 39,3% (90/229), relatou ter tido alguma DST durante a vida. Tatuagem foi reportado por 56,3% (129/229) dos aprisionados. Já a presença de piercing ocorreu em 12,2% (28/229) dos entrevistados. O procedimento de transfusão de sangue foi relatado por 21% dos participantes.

A prática de relações sexuais com pessoas do mesmo sexo foi relatada por 6% (54/229) dos entrevistados, e 21% (48/229) dos entrevistados relataram o uso frequente de preservativo, sendo que 55,9% dizem utilizá-lo ocasionalmente e 22,3% relataram nunca utilizar preservativo durante as relações sexuais. Verificou-se que 62% (142/229) dos pacientes estudados tiveram relações sexuais nos últimos 6 meses.

A utilização de drogas lícitas e ilícitas foi questionada aos entrevistados, e estão descritas na tabela 3.

O tabagismo foi relatado por 56,3% (129/229) dos entrevistados, enquanto que a ingestão de bebida alcoólica foi relatada por 50,7% (116/229). O uso de droga ilícita no passado foi de 68,6% (157/229), uma porcentagem maior do que na atualidade, onde apenas 25,8% (59/229) continuam utilizando-as dentro da prisão. Entre os que utilizam droga ilícita, 7,4% (17/229) são usuários de droga injetável (UDI).

Tabela 3 – Distribuição da população carcerária segundo o uso de drogas lícitas e ilícitas, Campo Grande - 2009 (n=229)

Variáveis	N°.	%
Fuma		
Não	100	43,7
Sim	129	56,3
Bebe		
Sem informação	1	0,4
Não	112	48,9
Sim	116	50,7
Usou droga (passado)		
Sem informação	2	0,9
Não	70	30,6
Sim	157	68,5
Uso atual de droga		
Sem informação	28	12,2
Não	142	62,0
Sim	59	25,8
Uso de droga injetável		
Sem informação	71	31,0
Não	135	59,0
Sim	23	10,0

5.2 Prevalência do HIV-1

Entre os 229 indivíduos do estudo, inicialmente 21 tiveram resultado positivo no teste de triagem para o HIV-1. Quando do retorno aos presídios para nova coleta de sangue para a confirmação dos resultados, foram encontrados apenas 13 destes 21 pacientes (61,9%), que confirmaram seus resultados positivos. Esses presos não encontrados provavelmente foram transferidos para outras unidades prisionais ou foram soltos nesse intervalo de tempo. Obteve-se, portanto, uma prevalência de 5,7% (IC 95%: 2,7%-8,7%) de HIV-1 positivos nesta população. As mulheres apresentaram prevalência 6,4% (IC 95%: 4,4%-8,3%) e os homens de 5,4% (IC 95%: 2,0%-8,9%), portanto as prevalências foram semelhantes.

Para avaliar estatisticamente os dados dos pacientes HIV positivos, foram comparadas informações sociodemográficas e fatores associados à ocorrência do HIV. As informações socioeconômicas estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 – Distribuição de presidiários segundo informações socioeconômicas e diagnóstico de HIV-1, Campo Grande - 2009 (n=229)

Variáveis	Positivo		Negativo		Total		p	RP (IC95%)
	N ^o .	%	N ^o .	%	N ^o .	%		
Sexo								
Feminino	4	6,4	59	93,6	63	27,5	⁽¹⁾ 0,756	1,17 (0,37-3,67)
Masculino	9	5,4	157	94,6	166	72,5		
Estado civil								
Sem informação	-	-	1	100,0	1	0,5	⁽²⁾ 0,113	3,11 (0,88-11,00)
Solteiro/separado/Viúvo	10	8,5	108	91,5	118	51,5		
Casado ou amasiado	3	2,7	107	97,3	110	48,0		
Idade								
Sem informação	-	-	1	100,0	1	0,5	⁽³⁾ 0,826	a/b 1,04 (0,29-3,76) a/c 0,43 (0,12-1,49)
18 – 30 anos	^a 5	5,4	92	94,6	97	42,3		
31 – 40 anos	^b 4	4,9	77	95,1	81	35,4		
41 – 50 anos	^c 4	1,2	29	98,8	33	14,4		
Acima de 50 anos	-	-	17	100,0	17	7,4		
Grau de instrução								
Sem informação	1	25,0	3	75,0	4	1,7	⁽³⁾ 0,168	a/b 4,05 (0,99-16,62) a/c 5,30 (0,84-33,37)
Analfabeto	^a 2	20,0	8	80,0	10	4,4		
Ensino fundamental	^b 8	4,9	154	95,1	162	70,7		
Ensino médio e superior	^c 2	3,9	51	96,1	53	23,1		
Renda familiar								
Sem informação	3	11,5	23	88,5	26	11,4	⁽¹⁾ 0,052	3,59 (0,96-13,47)
Menos de 2 salários mínimos	7	8,8	73	91,2	80	34,9		
2 ou mais salários mínimos	3	2,4	120	97,6	123	53,7		

Nota: RP = Razão de Prevalência; se $p < 0,05$ diferença estatisticamente significativa. Quando presente, a categoria “sem informação” foi suprimida do cálculo do teste.

⁽¹⁾ Teste exato de Fisher.

⁽²⁾ Teste Qui-quadrado.

⁽³⁾ Teste Qui-Quadrado de tendência.

A renda familiar, apesar de não mostrar associação estatística, teve maior concentração de casos HIV positivos entre os encarcerados com renda inferior a um salário mínimo. Não houve associação entre a ocorrência do HIV e as variáveis estado civil, idade e grau de instrução.

A análise dos fatores associados à infecção pelo HIV-1 encontra-se na Tabela 5.

Tabela 5 – Distribuição de presidiários segundo fatores associados à infecção e o diagnóstico de HIV, Campo Grande - 2009 (n=229)

Fatores	Positivo		Negativo		Total		p	RP (IC95%)
	N ^o .	%	N ^o .	%	N ^o .	%		
Transfusão de sangue								
Sem informação	-	-	6	100,0	6	2,6	⁽¹⁾ 0,484	1,62 (0,52-5,03)
Sim	4	8,3	44	91,7	48	21,0		
Não	9	5,1	166	94,9	175	76,4		
Tatuagem								
Sim	8	6,2	121	93,8	129	56,3	⁽²⁾ 0,919	1,24 (0,42-3,68)
Não	5	5,0	95	95,0	100	43,7		
Piercing								
Sem informação	-	-	2	100,0	2	0,9	⁽¹⁾ 1,000	0,59 (0,08-4,38)
Sim	1	3,6	27	96,4	28	12,2		
Não	12	6,0	187	94,0	199	86,9		
Quantidade de prisões								
3 ou mais vezes	^a 7	9,7	65	90,3	72	31,4	⁽³⁾ 0,226	^{a/b} 5,44 (0,69-42,97)
2 vezes	^b 1	1,8	55	98,2	56	24,5		
1 vez	^c 5	5,0	96	95,0	101	44,1		
DST								
Sem informação	-	-	7	100,0	7	3,1	⁽²⁾ 0,002	8,07 (1,83-35,53)
Sim	11	12,2	79	87,8	90	39,3		
Não	2	1,5	130	98,5	132	57,6		

Nota: RP = Razão de Prevalência; se $p < 0,05$ diferença estatisticamente significativa. Quando presente, a categoria "sem informação" foi suprimida do cálculo do teste.

⁽¹⁾ Teste exato de Fisher.

⁽²⁾ Teste Qui-quadrado.

⁽³⁾ Teste Qui-Quadrado de tendência.

A variável DST apresentou-se associada estatisticamente ao HIV-1, sendo que a infecção pelo mesmo foi oito vezes mais prevalente nos que tinham histórico deste tipo de doença ($p = 0,002$, RP = 8,07 IC95%: 1,83-35,53).

A presença de tatuagem, apesar de não ter apresentado significância estatística, foi relatada por 8 dos 13 pacientes HIV-1 positivos. Já a transfusão de sangue e presença de piercing não mostraram ser fatores associados à aquisição do vírus nesta população carcerária.

As variáveis relacionadas à vida sexual dos encarcerados não apresentaram significância estatística, porém merecem algumas considerações. Entre os pacientes HIV-1 positivos, 38,4% tiveram mais de dez parceiros sexuais ao longo da vida. Ter um parceiro do mesmo sexo também não demonstrou ser um fator de vulnerabilidade, pois a maioria dos pacientes HIV-1 positivos relatou ser heterossexual (8/13).

O uso consistente de preservativo foi relatado por apenas um paciente soropositivo, indicando baixa adesão ao uso do mesmo e maior vulnerabilidade em adquirir ou transmitir o vírus do HIV-1, uma vez que a maioria deles (53,8%, 7/13) confirmou ter se relacionado sexualmente nos últimos seis meses.

O uso de drogas ilícitas e injetáveis representou fator associado à ocorrência do HIV-1 entre presidiários de Campo Grande (Tabela 6).

A utilização de droga ilícita no passado apresentou-se estatisticamente significativa, mostrando que todos os presidiários infectados pelo HIV-1 confessaram ter sido usuários de droga. A prevalência de positivos para HIV-1 foi quatro vezes maior entre os usuários de droga injetável.

O tabagismo, apesar de não ser demonstrada a mesma relação, foi relatado por 11 dos 13 pacientes HIV-1 positivos. O consumo de bebida alcoólica e o uso atual de droga não se constituíram como fator de vulnerabilidade para a aquisição do HIV-1.

Tabela 6 – Distribuição de presidiários segundo o uso de drogas lícitas/ilícitas e o diagnóstico de HIV, Campo Grande - 2009 (n=229)

Drogas	Positivo		Negativo		Total		p	RP (IC95%)
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%		
Tabagismo								
Sim	11	8,5	118	91,5	129	56,3	⁽²⁾ 0,067	4,26 (0,97-18,80)
Não	2	2,0	98	98,0	100	43,7		
Bebida alcoólica								
Sem informação	-	-	1	100,0	1	0,4	⁽²⁾ 0,948	0,83 (0,29-2,39)
Sim	6	5,2	110	94,8	116	50,7		
Não	7	6,3	105	93,7	112	48,9		
Droga no passado								
Sim	13	8,3	144	91,7	157	68,6	⁽¹⁾ 0,011	-
Não	-	-	70	100,0	70	30,6		
Uso atual de droga								
Sem informação	1	3,6	27	96,4	28	12,2	⁽¹⁾ 0,340	1,72 (0,57-5,20)
Sim	5	8,5	54	91,5	59	25,8		
Não	7	4,9	135	95,1	142	62,0		
Droga injetável								
Sem informação	-	-	71	100,0	71	31,0	⁽¹⁾ 0,024	3,67 (1,31-10,24)
Sim	5	21,7	18	78,3	23	10,0		
Não	8	5,9	127	94,1	135	59,0		

Nota: RP = Razão de Prevalência; se $p < 0,05$ diferença estatisticamente significativa. Quando presente, a categoria "sem informação" foi suprimida do cálculo do teste.

⁽¹⁾ Teste exato de Fisher.

⁽²⁾ Teste Qui-quadrado.

Os resultados da regressão de Cox (Tabela 7) mostraram associações estatisticamente significativas entre positividade para HIV e as variáveis: renda familiar em salário mínimo, história pregressa de DST e o uso de drogas injetáveis.

Tabela 7 – Análise multivariada para a prevalência de HIV positivos em presidiários de acordo com as variáveis incluídas no modelo, Campo Grande, MS - 2009.

Variáveis	<i>p</i>	Razão de prevalência (RP)	IC 95% (RP)
Sexo	0,837	0,88	0,25 - 3,07
Idade	0,883	1,00	0,95 - 1,06
Estado civil	0,267	2,21	0,55 - 8,93
Grau de instrução	0,559	0,61	0,12 - 3,20
Renda familiar baixa (< 2 salários mínimos)	0,041	4,32	1,06 - 17,60
História pregressa de DST	0,032	5,35	1,16 - 24,72
Tabagismo	0,260	2,60	0,49 - 13,64
Droga no passado	0,977	2,50	0,00 - 5,55
Uso de drogas injetáveis	0,046	3,37	1,02 - 11,08

Nota: Regressão de Cox – se $p < 0,05$ diferença estatisticamente significativa.

5.3 Carga Viral e Contagem de Linfócitos TCD4+ e TCD8+

Os 30 pacientes selecionados para a realização da subtipagem do HIV-1 realizaram o exame de Quantificação de Carga Viral e Contagem de Linfócitos TCD4+ e TCD8+, e os resultados estão apresentados na Tabela 8.

A mediana de CD4+ foi de 246 células/mm³, com limite mínimo de 128 células/mm³ e limite máximo de 1095 células/mm³. Já a mediana de Carga Viral foi de 6046 cópias/mL, com limite mínimo de < 50 cópias/mL (Carga Viral indetectável) e limite máximo de 243.422 cópias/mL. Em 23,3% dos pacientes avaliados (7/30), a Carga Viral encontrada ficou abaixo do limite de detecção da técnica, 50 cópias/mL.

Tabela 8 – Resultados da Contagem de Linfócitos TCD4+ e TCD8+ e Carga Viral dos pacientes HIV-1 positivos, Campo Grande - 2009 (n=30).

Paciente	CD4 (cél/mm ³)	CD8 (cél/mm ³)	CD4/CD8	Carga Viral (cópias/mL)	Log
01	271	958	0,28	< 50	<1,70
02	241	869	0,28	375	2,57
03	927	838	1,11	< 50	<1,70
04	246	580	0,42	102414	5,01
05	227	1370	0,17	28319	4,45
06	409	900	0,45	22339	4,35
07	232	569	0,41	24208	4,38
08	664	1706	0,39	2194	3,34
09	-	-	-	136187	5,13
10	455	1761	0,26	8600	3,93
11	233	897	0,26	38957	4,59
12	206	976	0,21	243422	5,39
13	221	912	0,24	62122	4,79
14	315	648	0,49	2258	3,35
15	128	1022	0,13	41836	4,62
16	164	460	0,36	5868	3,77
17	196	1030	0,19	46219	4,66
18	1095	662	1,65	< 50	<1,70
19	200	1130	0,18	71914	4,86
20	299	848	0,35	< 50	<1,70
21	376	1364	0,28	2509	3,40
22	300	1432	0,21	< 50	<1,70
23	269	983	0,27	2126	3,33
24	737	589	1,25	< 50	<1,70
25	197	899	0,22	6224	3,79
26	251	262	0,96	< 50	<1,70
27	348	453	0,77	2009	3,30
28	179	597	0,30	346	2,54
29	240	1410	0,17	7967	3,90
30	149	701	0,21	27491	4,44

5.4 Diversidade genotípica do HIV-1

5.4.1 Diversidade genotípica do HIV-1 na região do gene *gag*

Amostras de DNA proviral extraídas de células mononucleares periféricas de 30 pacientes foram utilizadas para identificação do subtipo do HIV-1 na região *gag*, através do Ensaio da Mobilidade do Heteroduplex (HMA).

O produto de PCR na região *gag* foi obtido em 70% das amostras (21/30). As 9 amostras não amplificadas com os iniciadores H1Gag1584/ g17 da segunda etapa

da “Nested-PCR” foram submetidas à nova amplificação com iniciadores alternativos HGHMA822/ g17, porém em nenhuma delas obtivemos produto de amplificação.

Entre as amostras amplificadas (n=21), 19 (90,5%) foram subtipadas com sucesso. Obtivemos, portanto, 63,3% das amostras subtipadas na região *gag* com o HMA (19/30). A Figura 5 mostra o fluxograma de identificação do subtipo HIV-1 na região *gag* e a eficiência de amplificação por Nested-PCR e por HMA *gag*.

A maioria das amostras subtipadas por HMA *gag* era do subtipo B (57,9% - 11/19). O subtipo C foi o segundo mais prevalente, observado em 31,6% das amostras (6/19) e o subtipo F foi encontrado em 10,5% das amostras (2/19).

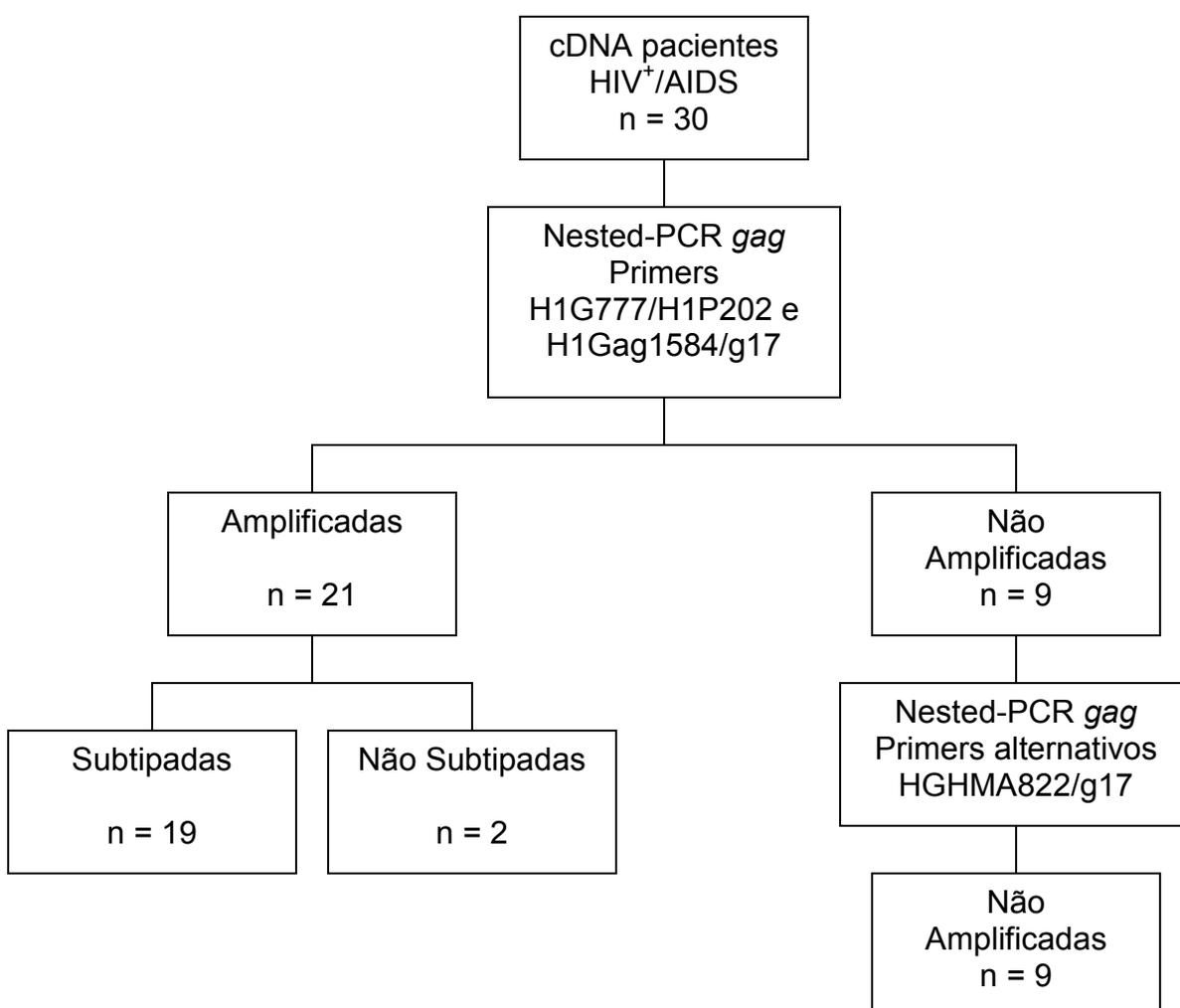


Figura 5 - Fluxograma das etapas de Nested-PCR *gag* e HMA *gag*

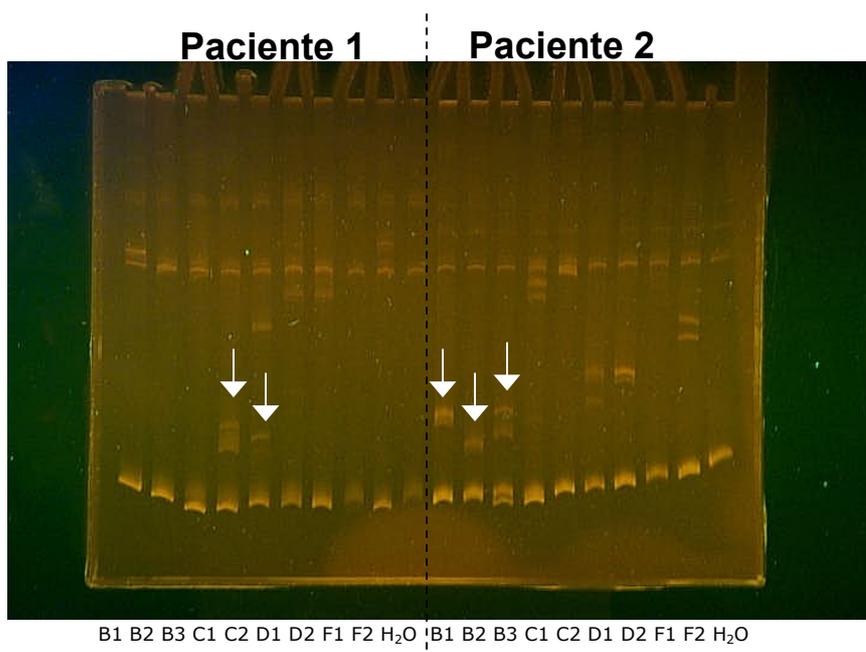


Figura 6 - Gel de poliacrilamida HMA *gag*. Paciente 1: HIV-1 subtipo C; paciente 2: HIV-1 subtipo B.

5.4.2 Diversidade genotípica do HIV-1 na região do gene *pol*

Para identificar o subtipo do HIV-1 na região do gene *pol*, foi realizado sequenciamento automatizado, utilizando amostras de RNA extraídas do plasma dos 30 pacientes HIV-1 positivos. As regiões alvo eleitas deste gene para análise da diversidade genética foram o gene da protease e 2/3 do gene da transcriptase reversa.

Foram amplificadas com sucesso 22 amostras (73,3%). O subtipo mais prevalente na região do gene *pol* foi o B, com 59,1% das amostras (13/22). O genótipo híbrido FB foi observado em 22,7% dos pacientes (5/22), seguido do subtipo C, com 18,2% (4/22) das amostras.

A Figura 7 mostra o fluxograma de identificação do subtipo HIV-1 na região *pol* e a eficiência de amplificação por Nested-PCR e do sequenciamento automatizado.

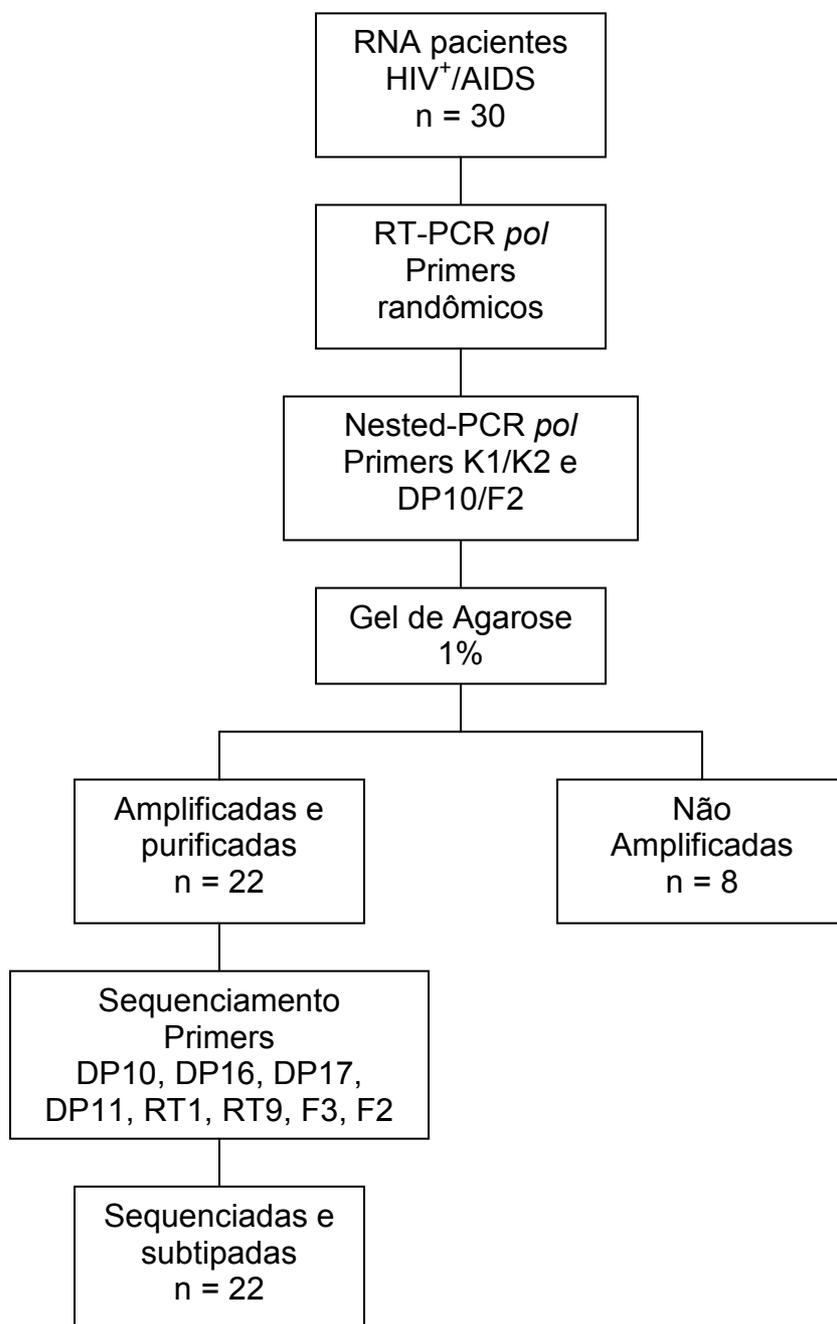


Figura 7 - Fluxograma das etapas de sequenciamento da região *pol*

5.4.3 Diversidade genotípica do HIV-1 nos genes *gag* e *pol*

Na Tabela 9 são apresentados os resultados dos subtipos do HIV-1 identificados por HMA *gag* e seqüenciamento automático *pol*, analisando simultaneamente as duas regiões genômicas.

Uma porcentagem de 53,3% de amostras foram subtipadas em ambas as regiões (16/30), sendo que destas, 68,8% são genótipos puros (11/16) e 31,2% se apresentaram como genótipos híbridos (5/16).

Analisando-se simultaneamente as regiões *gag* e *pol* do HIV-1, observou-se o predomínio do subtipo B^{*gag/pol*} em 43,8% dos pacientes (7/16). Já o subtipo C^{*gag/pol*} foi identificado em 25% das amostras (4/16). Os demais pacientes estudados apresentaram padrão genotípico híbrido, com subtipos discordantes em *gag* e *pol*. Isolados com subtipos discordantes BF foram encontrados em 25% dos pacientes (4/16) e o subtipo C^{*gag*}FB^{*pol*} foi observado em 6,2% das amostras (1/16).

Tabela 9 - Diversidade do HIV-1 nas regiões *gag* e *pol* do genoma viral entre os pacientes encarcerados, Campo Grande - 2008 (n=16)

Subtipo <i>gag/pol</i>	N°.	%
B	7	43,8
C	4	25,0
BF	4	25,0
C ^{<i>gag</i>} FB ^{<i>pol</i>}	1	6,2

Outros pacientes (9/30) foram caracterizados em apenas uma das regiões estudadas: em três deles foi identificado apenas o subtipo da região *gag*, sendo duas amostras caracterizadas como B^{*gag*} (6,7%) e uma amostra identificada como C^{*gag*} (3,3%). Inversamente, seis amostras foram subtipadas somente na região *pol*: o isolado B^{*pol*} foi identificado em 16,7% das amostras (5/30) e FB^{*pol*} foi observado em 3,3% das amostras (1/30). Verificou-se ainda que 16,7% (5/30) do total de amostras não foram amplificadas em nenhuma das duas regiões do gene.

5.4.4 Características sociodemográficas e fatores associados ao risco, segundo o subtipo *gag/pol*

A amostra foi composta por 76,7% de homens (23/30) e 23,3% de mulheres (7/30). Todos os pacientes caracterizados como subtipo B^{gag/pol} eram homens. Já entre as mulheres, duas foram caracterizadas como subtipo C^{gag/pol} em ambas as regiões do gene e uma com o subtipo C apenas na região *gag*. Assim como foi observado entre os encarcerados como um todo, a maior parte destes entrevistados afirmou que não possui parceiro fixo (73,4% - 22/30). Destacam-se neste grupo os indivíduos caracterizados com o subtipo C^{gag/pol}, onde 3/4 destes possuem esta característica, assim como a maioria dos pacientes com subtipos discordantes (83,3% - 5/6).

Fazendo uma análise da idade dos participantes, observou-se que a distribuição dos subtipos foi equivalente, com exceção do subtipo C^{gag/pol}, que se restringiu na faixa etária mais jovem, até os 40 anos.

Entre os quatro indivíduos caracterizados como subtipo C^{gag/pol}, um relatou ser natural de Porto Alegre-RS, região onde se concentra a maior prevalência de subtipo C do Brasil. Quanto ao sexo, duas eram mulheres; uma delas teve apenas um parceiro durante a vida, mesmo relatando ser solteira atualmente. A outra teve múltiplos parceiros sexuais.

Semelhante à população carcerária estudada, 66,7% destes 30 indivíduos já teve alguma DST durante a vida. Entre estes, todos os pacientes caracterizados como subtipo C^{gag/pol} declaram ter histórico de DST, assim como os pacientes em que a região da polimerase era subtipo FB. Entre os caracterizados como subtipo B^{gag/pol}, 57,1% declararam já ter alguma doença sexualmente transmissível.

A opção sexual dos pacientes constituiu-se em variável estudada, e 16,7% assumiram têm relações homossexuais. No entanto, nenhuma relação pode ser estabelecida entre subtipos do HIV-1 e opção sexual.

O tabagismo foi relatado por 76,7% dos participantes. Todos os pacientes do subtipo C^{gag/pol} fumam, assim como 85,7% dos B^{gag/pol}. Quanto ao uso de droga ilícita, 90% (27/30) já utilizaram droga no passado, enfatizando que em todos os subtipos caracterizados haviam indivíduos que já utilizaram algum tipo de droga, com destaque para 100% do subtipo C^{gag/pol} e B^{gag/pol}. Nove presos declararam ser UDI (30%), e entre estes, observamos maior percentual de pacientes do subtipo

C^{gag/pol} utilizando este tipo de droga (2/4 - 50%) comparado aos pacientes com subtipo B^{gag/pol} (1/7 - 14,3%).

6 DISCUSSÃO

Este trabalho analisou as características socioeconômicas, epidemiológicas e fatores associados ao risco de infecção pelo HIV-1, e caracterizou os subtipos circulantes do HIV-1 em população carcerária de Campo Grande-MS.

Estes resultados, quando comparados a outros estudos realizados em população prisional, apontam características semelhantes entre a população carcerária estudada e de outros estados brasileiros, assim como de outros países.

A população carcerária em estudo foi constituída essencialmente de jovens. A faixa etária da população estudada concentrou-se, na sua maioria, entre 21 e 40 anos (75,1%), assemelhando-se a estudos internacionais realizados na Itália por Babudieri et al. (2005), por Ford et al. (1995) e Poulin et al. (2007) no Canadá, bem como nos estudos brasileiros de Massad et al. (1999), Miranda et al. (2000) e Strazza et al. (2007) nos estados de São Paulo e Espírito Santo.

As baixas condições socioeconômicas, no que se refere à escolaridade e renda, são características da população carcerária, como bem afirmam Adjei et al. (2008), Coelho et al. (2007), Lopes et al. (2001), Poulin et al. (2007) e Singh (2007b). Este grupo já adentra o ambiente prisional em condições de saúde desfavoráveis, o que, segundo WHO (2005), se agrava quando se consideram os vários empecilhos para a saúde originados pela reclusão, incluindo o fato de serem as prisões espaços de alto risco para aquisição do HIV-1, além de outros agravos. No presente estudo, essas informações se confirmam, considerando que 75,1% das pessoas possuem menos de oito anos de estudo, e a renda familiar (em salários mínimos) de 34,9% dos indivíduos é menor que um salário mínimo, e a maioria, 47,6%, entre 2 e 5 salários.

Assim como no estudo de Miranda et al. (2000), quando se considera o estado civil da população carcerária de Campo Grande-MS, a maior parte destes não têm parceiro fixo, sendo solteiros, separados ou viúvos.

Observou-se neste trabalho que a maior parte dos presidiários é proveniente do próprio estado de Mato Grosso do Sul. Também se pode observar nesse grupo a presença de 1,3% de estrangeiros presos em nossas cadeias, procedentes do Paraguai, Uruguai e Peru. Por ser um estado de fronteira com outros países, ter um fluxo constante de imigrantes provenientes dos mesmos, além de ser considerado

como rota de tráfico de drogas entre estes países, é esperado que existam pessoas de outra nacionalidade encarceradas nesta capital.

Esta população também foi investigada quanto ao número de prisões, e chamou atenção o fato de 44,1% (101/229) ter relatado ser seu primeiro episódio de encarceramento, o que é similar ao apresentado por Miranda et al. (2000) e Strazza et al. (2004), em estudos realizados com grupos prisionais femininos. A dimensão da problemática se amplia quando se verifica que 55,9% dos encarcerados têm mais de um evento prisional.

Quanto aos fatores associados ao risco de ter infecção pelo HIV-1, a ocorrência de DST foi relatada por menos da metade dos entrevistados (39,3%), confirmando o que Coelho et al. (2007) e Lopes et al. (2001) encontraram em seus estudos. Ter tatuagem prevaleceu entre os encarcerados, resultado similar ao descrito por Miranda et al. (2000) e Poulin et al. (2007).

Adjei et al. (2008), Burattini et al. (2000), Dolan et al. (2007), Singh (2007b) e Strazza et al. (2007) apontam o comportamento sexual de risco como um dos principais fatores associados à infecção pelo HIV-1. Quando investigamos a vida sexual dos encarcerados participantes do estudo, verificamos que 23,6% têm relações com pessoas do mesmo sexo; este perfil já havia sido relatado por Hellard e Aitken (2004) e Strazza et al. (2004). Por outro lado, apenas 21% (48/229) dos entrevistados relataram o uso frequente de preservativo e 22,3% nunca o utilizam.

O histórico de uso de drogas é primordial quando se investiga a possibilidade de ocorrência de doenças sexualmente transmissíveis, como a infecção pelo HIV-1. Uso de drogas consideradas lícitas, como o cigarro e a bebida alcoólica, foi relatado por 56,3% e 50,7% dos entrevistados, respectivamente. Estes valores são inferiores aos encontrados em dois estabelecimentos penais estudados por Catalan-Soares, Almeida e Carneiro-Proietti (2000) e Lopes et al. (2001). Já o uso de droga ilícita dentro do presídio é uma realidade para 25,8% dos encarcerados. Entre estes, 10% são usuários de droga injetável. A maior parte dos estudos internacionais, como os de Calzavara et al. (2007), Dolan et al. (2007), Ford e Wobeser (2000), Macalino et al. (2004) e Passadouro (2004), mostram a transmissão parenteral através das drogas injetáveis como o principal fator de risco para a infecção pelo HIV-1 dentro das prisões. Trabalhos brasileiros como os de Coelho et al. (2007) e Miranda et al. (2000) também identificaram este fator de risco.

Foi encontrada nesse estudo uma prevalência geral de 5,7% de pacientes HIV-1 positivos, sendo 6,4% para a população feminina e 5,4% na masculina. Estudos brasileiros realizados por Burattini et al. (2000), Catalan-Soares, Almeida e Carneiro-Proietti (2000), Kallas et al. (1998), Osti, Castro e Ricci (1999), Coelho et al. (2007) e Massad et al. (1999) apontam prevalências variando entre 3,2% e 16%. Trabalhos que avaliaram apenas a população carcerária feminina, realizados por De Groot (1999) nos Estados Unidos, Ford et al. (1995), Poulin et al. (2007) e Calzavara et al. (2007) no Canadá e por Adjei et al. (2008) em Gana apontaram valores compreendidos entre 1,8% e 20%. Já no Brasil, Lopes et al. (2001), Miranda et al. (2000) e Strazza et al. (2003), que consideraram mulheres encarceradas, mostraram uma prevalência média de 12,7%, superior à encontrada neste estudo. A prevalência encontrada de 5,7% da infecção pelo HIV-1 foi igual à obtida por Coelho et al. (2007), na cidade de Ribeirão Preto-SP.

Andrade, Pompilio e Vinha (2004), em um estudo prévio que buscou avaliar o nível de conhecimento e a prevalência de DST/HIV e Aids nesse mesmo contexto, encontrou prevalência de 3,4% para HIV. Apesar de este trabalho apresentar uma prevalência aparentemente inferior a do presente estudo (5,7%), não há diferença estatística significativa entre estes dois percentuais, uma vez observado seu intervalo de confiança (IC 95%: 2,7%-8,7%).

Lopes et al. (2001) destacam que a rápida disseminação de DST se dá em grupos de menor poder aquisitivo e este fato é mais bem caracterizado quando se considera a população confinada. Esta condição se confirma no presente estudo visto que 53,8% dos portadores do HIV-1 têm ganhos de até um salário mínimo, e através da análise multivariada verificou-se a associação estatística entre a renda familiar baixa (inferior a 2 salários mínimos) e a soropositividade para o HIV-1 ($p = 0,041$). Adjei et al. (2008) e Singh (2007b) também descreveram em seus estudos a associação entre o baixo nível socioeconômico e a infecção pelo HIV.

Outra variável que apresentou associação estatística com a infecção pelo HIV-1 foi o histórico de DST ($p = 0,032$), com 84,6% de frequência entre os portadores do vírus. Lopes et al. (2001), Miranda et al. (2000), Strazza et al. (2003) e Strazza et al. (2004) avaliaram a prevalência de DST entre detentas do sexo feminino, sendo que o maior valor encontrado foi de 70%, no estudo de Miranda et al. (2000).

Apesar de não ter apresentado significância estatística, a presença de tatuagem foi relatada por 8 dos 13 pacientes HIV-1 positivos. Os estudos de Poulin et al. (2007) e Wilson et al. (2007) apontam a associação entre tatuagem e HIV, mas neste estudo não foi observado o mesmo resultado. O mesmo pode-se afirmar quanto à transfusão de sangue, contraditoriamente ao estudo de Miranda et al. (2000), onde o procedimento foi considerado fator de risco.

A importância do comportamento sexual no contexto da Aids assume dimensão primordial, considerando a importância do sexo desprotegido e o risco de aquisição do HIV e de doenças sexualmente transmissíveis. Estudo realizado por Strazza et al. (2007), aponta que características do comportamento sexual apresentam-se associados ao risco de infecção pelo HIV, notadamente relações sexuais sem o uso do preservativo. Observou-se nesse trabalho que 23,6% dos entrevistados relataram ter relação sexual com parceiro do mesmo sexo, e entre os HIV-1 positivos, 30,8% tem relações homossexuais. Estes números ultrapassam, e muito, os encontrados em pesquisas realizadas por Hellard e Aitken (2004) na Austrália – 4%, Babudieri et al. (2005) na Itália – 0,6%, Calzavara et al. (2007) no Canadá – 2,%, e no Brasil, 3,4% relatado por Massad et al. (1999) e 11% por Catalan-Soares, Almeida e Carneiro-Proietti (2000).

A utilização de preservativo pelos encarcerados estudados mostrou-se falha, onde 92,3% relatam uso ocasional ou não usam preservativo, aumentando a vulnerabilidade em transmitir o vírus do HIV-1. Adjei et al. (2008), Singh (2007b) e Passadouro (2004) afirmam que práticas sexuais desprotegidas são associadas ao risco de infecção pelo HIV.

É fato bem conhecido que o uso de drogas ilícitas dentro das prisões proporciona um aumento na vulnerabilidade ao HIV-1, ocasionada principalmente pelas práticas de injeção não seguras, com o compartilhamento de seringas e agulhas, segundo WHO (2005), Okie (2007), Jurgens (2004), Wood, Montaner e Kerr (2005). A totalidade (100%) dos detentos HIV-1 positivos identificados neste estudo fizeram uso de drogas ilícitas no passado. Coelho et al. (2007), no Brasil, relataram o mesmo fato.

O tabagismo, considerado um “facilitador” para o consumo de drogas ilícitas, mostrou estar relacionado com o HIV-1, onde 84,6% pacientes HIV-1 positivos relatam consumo de cigarro. Dois trabalhos, de Catalan-Soares, Almeida e Carneiro-Proietti (2000) e Lopes et al. (2001), observaram o alto consumo de cigarros pela

população prisional estudada (75% e 86%, respectivamente), porém nenhum dos estudos relacionou este hábito com a infecção pelo HIV. O uso de álcool foi referido por 46,2% dos detentos soropositivos e por cerca de metade dos soronegativos. Os percentuais encontrados por Lopes et al. (2001), Miranda et al. (2000) e Strazza et al. (2007) referentes ao uso de álcool se assemelham aos encontrados nos sujeitos desta pesquisa. Além disso, o trabalho de Strazza et al. (2007) aponta que o uso de álcool melhora o desejo e o prazer sexual, configurando-se como um elemento estimulador de comportamentos típicos de risco, visto que as relações sexuais desprotegidas, prevalentes na população estudada estão, indiscutivelmente, associadas ao risco de infecção pelo HIV-1.

A análise multivariada mostrou que o uso de drogas injetáveis foi estatisticamente relacionado ao HIV-1 ($p = 0,046$), sendo relatado por 38,5% dos portadores de HIV-1. Esta porcentagem foi superior à observada por Massad et al. (1999), Miranda et al. (2000), Strazza et al. (2004) e Strazza et al. (2007) no Brasil e por Poulin et al. (2007) no Canadá.

Strazza et al. (2004) discutem que a diferença entre gêneros pode refletir diferentes hábitos sociais e comportamentos de risco, o que parece desempenhar um importante papel na transmissão do HIV-1. Porém, no presente estudo, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os sexos masculino e feminino.

Ao estudar parte da situação de saúde da população carcerária, pudemos compreender um pouco da vida e do comportamento destas pessoas, que, além de expostas ao risco de terem Aids, o “lado negro” da vida, ainda se encontram confinadas, compondo o “lado negro” da civilização, como afirmam Sontag (1995) e De Groot (1999). A vulnerabilidade, assim, se dá em dupla dimensão: social e da saúde.

6.1 Diversidade genotípica do HIV-1

O Brasil, por ser um país de dimensão continental, apresenta diferentes padrões genotípicos do HIV-1 distribuídos entre suas regiões. No entanto, a maior parte destes estudos foi realizada nas regiões Sul e Sudeste, com poucos dados publicados da região Centro-Oeste. A maioria dos trabalhos publicados são provenientes de Goiás (LINS, 2005; PEREIRA et al., 2004; PEREIRA et al., 2006;

STEFANI et al., 2000; STEFANI et al., 2007) e do Distrito Federal (CERQUEIRA et al., 2004a; CERQUEIRA et al., 2004b; VERAS, 2006; VERAS et al., 2007). Dois estudos brasileiros de Brindeiro et al. (2003) e Stefani et al. (2007) relataram a diversidade genética do HIV-1 no estado de Mato Grosso do Sul, relacionados à população geral. Esta é primeira caracterização dos subtipos do HIV-1 em uma população prisional brasileira. Apenas um estudo realizado na Itália (LONGO et al., 2008) caracterizou a diversidade genética do HIV-1 em prisioneiros.

Os resultados da diversidade genética do HIV-1 para as regiões *gag* e *pol* na população carcerária de Campo Grande-MS indicaram a prevalência do HIV-1 subtipo B (43,8%). Esses dados são semelhantes aos estudos realizados na região Centro-Oeste por Cerqueira et al. (2004a), Cerqueira et al. (2004b), Lins (2005), Pereira et al. (2004), Pereira et al. (2006), Stefani et al. (2000), Stefani et al. (2007), Veras (2006) e Veras et al. (2007), que indicam uma maior prevalência deste subtipo. Este achado também é similar com outros estudos brasileiros que apontam o subtipo B como o mais prevalente em nosso país, como relatado por Bongertz et al. (2000), Cabral et al. (2006), Eyer-Silva, Couto-Fernandez e Morgado (2007), Gadelha et al. (2003), Monteiro et al. (2009), Souza et al. (2008) e Vicente et al. (2000).

O resultado também está de acordo com os relatos de estudos realizados em países da América do Sul como o Paraguai, Equador, Peru, Bolívia, Uruguai, Argentina, Venezuela e Chile, onde a prevalência do subtipo B foi descrita por Cabello et al. (1995), Velarde-Dunois et al. (2000), Hierholzer et al. (2002), Castro et al. (2003) e Rios et al. (2005). Segundo Hemelaar et al. (2006), a América Latina concentra a maior proporção de HIV-1 subtipo B no mundo, com 31,2% dos infectados.

O percentual de isolados de subtipos não-B, como o subtipo C, foi prevalente em 25% dos encarcerados. Este achado é peculiar, uma vez que o subtipo C, exceto no Rio Grande do Sul, é pouco encontrado na maioria das regiões do Brasil, aparecendo depois do subtipo F e dos recombinantes BF. Esta prevalência é superior ao encontrado por Bongertz et al. (2000), Cabral et al. (2006), Couto-Fernandez et al. (2005) e Souza et al. (2008), onde a prevalência do subtipo C variou entre 0,4% a 6,2%.

No presente trabalho o subtipo C foi o segundo mais prevalente, juntamente com os subtipos recombinantes BF, ambos com 25%. De maneira semelhante,

Martinez et al. (2002) descreveram em 2002 pela primeira vez o aumento da prevalência do subtipo C no estado do Rio Grande do Sul, onde o mesmo apareceu em maior quantidade que o subtipo F, que era o segundo mais prevalente em todo país. Soares et al. (2003a) e Soares et al. (2003b) confirmaram este achado no ano seguinte, e após dois anos, Soares et al. (2005) apontaram uma inversão da prevalência, mostrando o subtipo C já em primeiro lugar nessa região. Stefani et al. (2007), ao descreverem a diversidade genética do HIV-1 em Mato Grosso do Sul, relataram não ter encontrado o subtipo C neste estado, apenas um recombinante B^{env}/C^{gag} . Os atuais resultados mostram uma realidade diferente, e indicam que este subtipo está se disseminando em Mato Grosso do Sul, na possibilidade de se tornar o mais prevalente como ocorreu na região Sul.

Não foi encontrado nessa população o subtipo F “puro”; obteve-se apenas padrões genotípicos híbridos, como B^{gag}/B^{pol} , F^{gag}/B^{pol} , F^{gag}/F^{pol} e C^{gag}/F^{pol} . Estes achados estão de acordo com os últimos trabalhos publicados sobre a diversidade genética do HIV-1, mostrando que a recombinação entre os subtipos vem ocorrendo com maior frequência, como descrito por Eyer-Silva, Couto-Fernandez e Morgado (2007), Monteiro et al. (2009), Souza et al. (2008) e Veras et al. (2007). Os recombinantes entre os subtipos B e F já representam a forma mais prevalente no Uruguai e Argentina desde 2002, segundo Hierholzer et al. (2002). Como já havia sido descrito por Stefani et al. (2007), confirmou-se uma alta porcentagem de genótipos recombinantes BF circulando entre pacientes do Mato Grosso do Sul.

A ocorrência de genótipos recombinantes em nossa região nos permite discutir sobre o conceito de Formas Recombinantes Circulantes. O primeiro CRF descrito na América do Sul foi o CRF12_BF, por Carr et al. (2001) e Thomson et al. (2002) na Argentina. Já no Brasil, foram descritos cinco padrões de Formas Recombinantes Circulantes, quatro delas envolvendo os subtipos B e F: CRF28_BF e CRF29_BF por Sá Filho et al. (2006) e os CRF39_BF e CRF40_BF por Guimarães et al. (2008). Para avaliar se algum desses pacientes com genomas HIV-1 recombinantes BF pertencem a algum CRF já descrito, será necessária a realização do sequenciamento genômico completo destes isolados.

Na busca de relações entre os fatores associados ao risco do HIV-1 com os subtipos encontrados, podem-se identificar algumas diferenças entre os indivíduos subtipo B, C e os recombinantes BF. Todos os participantes caracterizados como B^{gag}/B^{pol} no estudo eram homens, e três das sete mulheres foram identificadas como

subtipo C. Estes achados se assemelham aos de Soares et al. (2005), que em seu estudo, encontrou maior prevalência do subtipo C em mulheres e em pessoas mais jovens no Rio Grande do Sul. Já Vicente et al. (2000) associaram o sexo masculino com subtipos recombinantes BF no Amazonas, como também observado no presente trabalho. Nove presos declararam ser UDI, e entre estes, observamos maior percentual de pacientes do subtipo C^{gag/pol} utilizando este tipo de droga (2/4 - 50%) comparado aos pacientes com subtipo B^{gag/pol} (1/7 - 14,3%), semelhantemente ao que afirmou Martinez et al. (2002) em seu trabalho. Porém, outros autores descreveram padrões genotípicos diferentes entre os UDI, como Espinosa et al. (2004) e Teixeira et al. (2004), na Argentina e no Rio de Janeiro, respectivamente, que associaram o subtipo BF com UDI, além de Couto-Fernandez et al. (1999) na Bahia, que encontraram maior prevalência do subtipo F entre os UDI. Isso mostra que em cada região do país há prevalência de diferentes subtipos em diferentes grupos que possuem comportamento de risco para o HIV-1, mostrando a complexidade da diversidade genética do HIV-1.

A múltipla parceria é um dos principais fatores associados ao risco de adquirir HIV-1. Wang et al. (2008) associaram URF (Forma Recombinante Única) com múltiplas parcerias sexuais. Não foi possível estabelecer essa associação entre os encarcerados, devido a uma grande proporção de indivíduos que não responderam sobre este quesito (18/30).

As impossibilidade de subtipar isolados por HMA foi superior ao relatado em literatura. Realizando apenas a técnica de HMA, Gadelha et al. (2003) não puderam subtipar 8% das amostras na região *gag*, enquanto Martinez et al. (2002) não puderam subtipar 35,5% dos isolados. Geralmente, os fatores que influenciam na eficiência da técnica de HMA dependem da amplificação do material genômico. Carga viral reduzida da amostra, baixo percentual de linfócitos T CD4+, mutações na região do genoma estudado, degradação do RNA viral, subtipo viral muito divergente, além da presença de fatores de inibição da amplificação, como descreve Silveira (2007). A técnica de sequenciamento automático possibilitou subtipar um número maior de isolados, além de ser o método de escolha para caracterização molecular do HIV-1 (STEFANI et al., 2007).

O Ensaio da Mobilidade de Heteroduplex, foi implementado pela UNAIDS em países em desenvolvimento por apresentar menor custo quando comparado ao sequenciamento, além de ser confiável para o monitoramento do HIV-1. Bongertz et

al. (2000) demonstraram em seu estudo que o HMA apresenta resultados 100% concordantes ao sequenciamento, confirmando a confiabilidade do HMA molecular para estudos epidemiológicos, assim como Osmanov et al. (2002), que afirmaram ser um método bom e barato. HMA e sequenciamento tem alta concordância dos resultados, como demonstrou Heyndrickx et al. (2002). Já Teixeira et al. (2004) mostraram a importância em se analisar mais de uma região genômica para a melhor compreensão da diversidade genética do HIV-1, o que nos fez optar por analisar duas regiões genômicas simultaneamente, *gag* e *pol*. Rios et al. (2005) e Monteiro et al. (2009), porém, relataram que o HMA não é um método sensível para detectar recombinantes, podendo ser inadequado em regiões onde subtipos diferentes co-circulam.

Portanto, os resultados obtidos a partir de duas técnicas em conjunto, HMA e sequenciamento automatizado, contribuem para uma melhor compreensão da diversidade genética do HIV-1 na população prisional de Campo Grande-MS.

7 CONCLUSÕES

A população prisional de Campo Grande-MS caracterizou-se por ser jovem e ter baixa escolaridade e renda, sendo que a maioria não possui parceiro fixo. Ter tatuagem, fazer uso de cigarro e bebida alcoólica, e ter utilizado drogas no passado são características comuns nesta população. Entre os entrevistados, 1/4 relataram utilizar drogas dentro do contexto prisional, e destes, 10% são usuários de drogas injetáveis.

A prevalência do HIV-1 na população encarcerada foi de 5,7%, porcentagem semelhante à encontrada em estudo anterior realizado na mesma população.

Os fatores que mostraram associação estatisticamente significativa para a positividade pelo HIV-1 foram: ter histórico de DST durante a vida, baixa renda familiar e uso de droga injetável.

A diversidade genotípica do HIV-1 nas regiões genômicas *gag* e *pol* foi analisada pelas técnicas de HMA e sequenciamento automatizado, respectivamente, e 53,3% das amostras foram subtipadas em ambas as regiões. O subtipo B foi identificado como o mais prevalente (43,8%), e os subtipos C e os recombinantes BF (B^{gag}/B^{pol} , F^{gag}/B^{pol} e F^{gag}/B^{pol}) apareceram em segundo lugar como os mais frequentes entre os encarcerados (25% cada). Além disso, um isolado discordante C^{gag}/B^{pol} foi identificado (6,2%). Estes resultados confirmam a disseminação do subtipo C em algumas regiões brasileiras e a forte tendência de recombinação deste vírus entre cepas que co-circulam numa mesma região.

Demonstrou-se com este estudo a vulnerabilidade da população carcerária de Campo Grande-MS à infecção pelo HIV-1, além da alta complexidade genotípica do vírus HIV-1 circulante nesta população. Estes dados contribuem para uma melhor compreensão da epidemiologia molecular do HIV-1 no Mato Grosso do Sul. Espera-se que estes resultados possam se reverter em intervenções específicas para a melhoria da saúde desta população.

REFERÊNCIAS

- ADJEI, A. A.; ARMAH, H. B.; GBAGBO, F.; AMPOFO, W. K.; BOAMAH, I.; ADU-GYAMFI, C.; ASARE, I.; HESSE, I. F. A.; MENSAH, G. Correlates of HIV, HBV, HCV and syphilis infection among prison inmates and officers in Ghana: a national multicenter study. **BMC Infectious Diseases**, v. 8, n. 33, p. 1-12, 2008.
- AGUAYO, N.; LAGUNA-TORRES, V. A.; VILLAFANE, M.; BARBOZA, A.; SOSA, L.; CHAUCA, G.; CARRION, G.; COENCA, B.; PEREZ, J.; GALEANO, A.; BAUTISTA, C. T.; SANCHEZ, J. L.; CARR, J. K.; KOCHER, T. Epidemiological and molecular characteristics of HIV-1 infection among female commercial sex workers, men who have sex with men and people living with AIDS in Paraguay **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 3, p. 225-231, May/June 2008.
- ANDRADE, S. M. O.; POMPILIO, M. A.; VINHA, J. M. **População carcerária de Campo Grande, MS: conhecimento e práticas de risco em DST e Aids**. Relatório de Pesquisa. Campo Grande, 2004.
- BABUDIERI, S.; LONGO, B.; SARMAI, L.; STARNINI, G.; DORI, L.; SULIGOI, B.; CARBONARA, S.; MONARCA, R.; QUERCIA, G.; FLORENZANO, G.; NOVATI, S.; SARDU, A.; IOVINELLA, V.; CASTI, A.; ROMANO, A.; UCCELLA, I.; MAIDA, I.; BRUNETI, V.; MURA, M. S.; ANDREONI, M.; REZZA, G. Correlates of HIV, HVB, and HCV infections in a prison inmate population: results from a multicentre study in Italy. **Journal of Medical Virology**, v. 76, n. 3, p. 311-317, May 2005.
- BARRÉ-SINOUSSE, F. HIV as the cause of AIDS. **The Lancet**, v. 348, n. 9019, p. 31-35, July 1996.
- BARRE-SINOUSSE, F.; CHERMANN, J. C.; REY, F.; NUGEYRE, M. T.; CHAMARET, S.; GRUEST, J.; DAUGUET, C.; AXLER-BLIN, C.; VEZINET-BRUN, F.; ROUZIOUX, C.; ROZENBAUM, W.; MONTAGNIER, L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, v. 220, n. 4599, p. 868-871, May 1983.
- BELLO, G.; PASSAES, C. P. B.; GUIMARAES, M. L.; LORETE, R. S.; ALMEIDA, S. E. M.; MEDEIROS, R. M.; ALENCASTRO, P. R.; MORGADO, M. G. Origin and evolutionary history of HIV-1 subtype C in Brazil. **AIDS**, v. 22, n. 15, p. 1993-2000, Oct. 2008.
- BLANCO, J. M. S.; PEREZ, I. R.; LIMA, A. O. L.; RECIO, J. M. C.; LOPEZ, E. G.; LASANTA, J. J. A. Adherence to antiretroviral treatment in prisons. **AIDS Research and Human Retroviruses** v. 21, n. 8, p. 683-688, Aug. 2005.
- BONGERTZ, V.; BOU-HABIB, D. C.; BRIGIDO, L. F.; CASEIRO, M.; CHEQUER, P. J.; COUTO-FERNANDEZ, J. C.; FERREIRA, P. C.; GALVAO-CASTRO, B.; GRECO, D.; GUIMARAES, M. L.; LINHARES DE CARVALHO, M. I.; MORGADO, M. G.; OLIVEIRA, C. A.; OSMANOV, S.; RAMOS, C. A.; ROSSINI, M.; SABINO, E.; TANURI, A.; UEDA, M. HIV-1 diversity in Brazil: genetic, biologic, and immunologic characterization of HIV-1 strains in three potential HIV vaccine evaluation sites.

Brazilian network for HIV isolation and characterization. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 23, n. 2, p. 184-93, Feb. 2000.

BONGERTZ, V.; OUVENERY, E. P.; FERNANDEZ, S. C.; GRINSZTEJN, B.; VELOSO, V.; COUTO-FERNANDEZ, J. C.; PILOTTO, J. H.; MORGADO, M. G. Anti-human immunodeficiency virus type 1 humoral immune response and highly active antiretroviral treatment. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 7, p. 817-825, Nov. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 59 de 28 de Janeiro de 2003**. 2003. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMIS59BBE9C1PTBRIE.htm>>. Acesso em: 10 set. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. **Normas de pesquisa envolvendo seres humanos**. (Resolução 196/96 e outras). 2. ed. ampl. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/editora/produtos/livros/pdf/03_0559_MP.pdf>. Acesso em: 09 abr. 2007.

BRINDEIRO, R. M.; DIAZ, R. S.; SABINO, E. C.; MORGADO, M. G.; PIRES, I. L.; BRIGIDO, L.; DANTAS, M. C.; BARREIRA, D.; TEIXEIRA, P. R.; TANURI, A. AND THE BRAZILIAN NETWORK FOR DRUG RESISTANCE SURVEILLANCE. Brazilian network for HIV drug resistance surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. **AIDS**, v. 17, n. 7, p.1063-1069, 2003.

BURATTINI, M. N.; MASSAD, E.; ROZMAN, M.; AZEVEDO, R. S.; CARVALHO, H. B. Correlation between HIV and HCV in Brazilian prisoners: evidence for parenteral transmission inside prison. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 431-436, Oct. 2000.

CABELLO, A.; CABRAL, M.; VERA, M. E.; KIEFER, R.; MORENO AZORERO, R.; EBERLE, J.; GURTLER, L.; VON BRUNN, A. Analysis of the V3 loop sequences from 10 HIV type 1-infected AIDS patients from Paraguay. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 11, n. 9, p. 1135-1137, Sept. 1995.

CABRAL, V. P.; CUNHA, C. B.; MAGALHÃES, E. F. L.; PINTO-NETO, L. F.; COUTO-FERNANDEZ, J. C.; DIETZE, R.; MORGADO, M. G.; RIBEIRO-RODRIGUES, R. Human immunodeficiency virus type-1 subtypes of infected patients in Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 8, p. 881-885, Dec. 2006.

CALZAVARA, L.; RAMUSCAK, N.; BURCHELL, A. N.; SWANTEE, C.; MYERS, T.; FORD, P.; FEARON, M.; RAYMOND, S. Prevalence of HIV and hepatitis C virus infections among inmates of Ontario remand facilities. **Canadian Medical Association Journal**, v. 177, n. 3, p. 252-256, July 2007.

CARIDE, E.; HERTOOGS, K.; LARDER, B.; DEHERTOGH, P.; BRINDEIRO, R.; MACHADO, E.; DE SÁ, C. A. M.; EYER-SILVA, W. A.; SION, F. S.; PASSIONI, L. F. C.; MENEZES, J. A.; CALAZANS, A. R.; TANURI, A. Genotypic and phenotypic evidence of different drug-resistance mutation patterns between B and non-B

subtypes isolates of human immunodeficiency virus type 1 found in Brazilian patients failing HAART. **Virus Genes**, v. 23, n. 2, p. 193-202, 2001.

CARON, M.; MAKUWA, M.; SOUQUIÈRE, S.; DESCAMPS, D.; BRUN-VÉZINET, F.; KAZANJI, M. Human immunodeficiency virus type 1 seroprevalence and antiretroviral drug resistance-associated mutations in miners in Gabon, Central Africa. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 24, n. 9, p. 1225-1228, 2008.

CARR, J. K.; AVILA, M.; CARRILLO, M. G.; SALOMON, H.; HIERHOLZER, J.; WATANAVEERADEJ, V.; PANDO, M. A.; NEGRETE, M.; RUSSELL, K. L.; SANCHEZ, J.; BIRXD, D. L.; ANDRADE, R.; VINOLES, J.; MCCUTCHAN, F. E. Diverse BF recombinants have spread widely since the introduction of HIV-1 into South America. **AIDS**, v. 15, n. 15, p. F41-F47, 2001.

CASTRO, E.; ECHEVERRÍA, G.; DEIBIS, L.; DE SALMEN, B. G.; MOREIRA, A. S.; GUIMARÃES, M. L.; BASTOS, F. I.; MORGADO, M. G. Molecular epidemiology of HIV-1 in Venezuela: high prevalence of HIV-1 subtype B and identification of a B/F recombinant infection. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 32, n. 3, p. 338-344, Mar. 2003.

CATALAN-SOARES, B. C.; ALMEIDA, R. T.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B. Prevalence of HIV-1/2, HTLV-I/II, hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), *Treponema pallidum* and *Trypanosoma cruzi* among prison inmates at Manhuaçu, Minas Gerais State, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 1, p. 27-30, Jan./Feb. 2000.

CAVALCANTI, A. M. S.; LACERDA, H. R.; BRITO, A. M.; PEREIRA, S.; MEDEIROS, D.; OLIVEIRA, S. Antiretroviral resistance in individuals presenting therapeutic failure and subtypes of the human immunodeficiency virus type 1 in the Northeast Region of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 7, p. 785-792, Nov. 2007.

CERQUEIRA, D. M.; AMORIM, R. M. S.; SILVA, R. R.; CAMARA, G. N. L.; BRÍGIDO, M. M.; MARTINS, C. R. F. Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the Federal District, Central Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 8, p. 877-882, Dec. 2004a.

CERQUEIRA, D. M.; RAMALHO, E. D.; OLIVEIRA, C. P.; SILVA, R. R.; FRANCHINI, M.; FELIPE, M. S. S.; MARTINS, C. R. F. HIV-1 subtypes and mutations associated to antiretroviral drug resistance in human isolates from Central Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 3, p. 187-192, July/Sept. 2004b.

COELHO, H. C.; PERDOND, G. C.; NEVES, F. R.; PASSOS, A. D. C. HIV prevalence and risk factors in a Brazilian penitentiary. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 9, p. 2197-2204, Sept. 2007.

COUTO-FERNANDEZ, J. C.; MORGADO, M. G.; IVO-DOS-SANTOS, J.; GALVÃO-CASTRO, B. Molecular and biological diversity of HIV-1 in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 2, p. 249-255, Apr./June 1992.

COUTO-FERNANDEZ, J. C.; MORGADO, M. G.; BONGERTZ, V.; TANURI, A.; ANDRADE, T.; BRITES, C.; GALVÃO-CASTRO, B. HIV-1 Subtyping in Salvador, Bahia, Brazil: a city with african sociodemographic characteristics. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 22, n. 3, p. 288-293, 1 Nov. 1999.

COUTO-FERNANDEZ, J. C.; SILVA-DE-JESUS, C.; VELOSO, V. G.; RACHID, M.; GRACIE, R. S. G.; CHEQUER-FERNANDEZ, S. L.; OLIVEIRA, S. M.; ARAKAKI-SANCHEZ, D.; CHEQUER, P. N. J.; MORGADO, M. G. Human Immunodeficiency vírus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtipo and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 1, p. 73-78, Feb. 2005.

DAY, R. F. HIV/AIDS in prison: crisis of the confined. **Body positive**, v. 3, p. 18-27, 2004.

DEAN, A. G.; ARNER, T. G.; SUNKI, G. G.; FRIEDMAN, R.; LANTINGA, M.; SANGAM, S.; ZUBIETA, J. C.; SULLIVAN, K. M.; BRENDEL, K. A.; GAO, Z.; FONTAINE, N.; SHU, M.; FULLER, G.; SMITH, D. C.; FAGAN, R. F.; NITSCHKE, D. A. Epi Info™, a database and statistics program for public health professionals. **Centers for Disease Control and Prevention**, Atlanta, Georgia, USA, 2007.

DE GROOT, A. S. Legacy of light for women living with HIV in prison. **The Lancet**, v. 353, n. 9158, p. 1107-1108, Mar. 1999.

DELANEY, M. History of HAART – the true story of how effective multi-drug therapy was developed for treatment of HIV disease. **Retrovirology**, v. 3, suppl. 1, p. S6, Dec. 2006.

DELWART, E. L.; SHAPER, E. G.; LOUWAGIE, J.; MCCUTCHAN, F. E.; GREZ, M.; RÜBSAMEN-WAIGMANN, H.; MULLINS, J. I. Genetic relationships determined by a DNA Heteroduplex Mobility Assay: analysis of HIV-1 *env* genes. **Science**, v. 262, p. 1257-61, 1993.

DILERNIA, D. A.; GOMEZ, A. M.; LOURTAU, L.; MARONE, R.; LOSSO, M. H.; SALOMÓN, H.; GÓMEZ-CARRILLO, M. HIV type 1 genetic diversity surveillance among newly diagnosed individuals from 2003 to 2005 in Buenos Aires, Argentina. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 23, n. 10, p. 1201-1207, Oct. 2007.

DOLAN, K.; KITE, B.; BLACK, E.; ACEIJAS, C.; STIMSON, G. V.; REFERENCE GROUP ON HIV/AIDS PREVENTION AND CARE AMONG INJECTING DRUG USERS IN DEVELOPING AND TRANSITIONAL COUNTRIES. HIV in prison in low-income and middle-income countries. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 7, n. 1, p. 32-41, Jan. 2007.

DUMANS, A.T.; SOARES, M. A.; MACHADO, E. S.; HUÉ, S.; BRINDEIRO, R. M.; PILLAY, D.; TANURI, A. Synonymous genetic polymorphisms within brazilian human immunodeficiency virus type 1 subtypes may influence mutational routes to drug resistance. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 189, p. 1232-1238, 2004.

ESPINOSA, A.; VIGNOLES, M.; CARRILLO, M. G.; SHEPPARD, H.; DONOVAN, R.; PERALTA, L. M.; ROSSI, D.; RADULICH, G.; SALOMÓN, H.; WEISSENBACHER, M. Intersubtype BF recombinants of HIV-1 in a population of injecting drug users in Argentina. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 36, n. 1, p. 630–636, May 2004.

EWING, B.; HILLIER, L.; WENDL, M. C.; GREEN, P. Base-calling of automated sequencer traces using *Phred*. accuracy assessment. **Genome Research**, v. 8, n. 3, p. 175-85, Mar. 1998.

EYER-SILVA, W. A.; COUTO-FERNANDEZ, J. C.; MORGADO, M. G. Molecular epidemiology of HIV type 1 in inner Rio de Janeiro State, Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 23, n. 2, p. 303–308, 2007.

FORD, P. M.; WOBESER, W. L. Health care problems in prisons. **Canadian Medical Association Journal**, v. 162, n. 5, p. 664-665, 2000.

FORD, P. M.; PEARSON, M.; SANKAR-MISTRY, P.; STEVENSON, T.; BELL, D.; AUSTIN, J. HIV, hepatitis C and risk behaviour in a canadian medium-security penitentiary. **QJM: An International Journal of Medicine** v. 93, p. 113-119, 2000.

FORD, P. M.; WHITE, C.; KAUFMANN, H.; MACTAVISH, J.; PEARSON, M.; FORD, S.; SANKAR-MISTRY, P.; CONNOP, P. Voluntary anonymous linked study of the prevalence of HIV infection and hepatitis C among inmates in a federal penitentiary for women. **Canadian Medical Association Journal**, v. 153, n. 1, p. 1605-9, Dec. 1995.

FRENKEL, L. M., WAGNER, L. E., ATWOOD, S. M., CUMMINS, T. J., DEWHURST, S. Specific, sensitive, and rapid assay for human immunodeficiency virus type 1 pol mutations associated with resistance to zidovudine and didanosine. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 2, p. 342-347, Feb. 1995.

GADELHA, S. R.; SHINDO, N.; CRUZ, J. N. M.; MORGADO, M. G.; GALVÃO-CASTRO, B. Molecular epidemiology of human immunodeficiency virus-1 in the State of Ceará, northeast, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 4, p. 461-464, Jun. 2003.

GALLO, R. C. The early years of HIV/AIDS. **Science**, v. 298, n. 5599, p. 1728-1730, Nov. 2002.

GALLO, R. C.; MONTAGNIER, L. Prospects for the future. **Science**, v. 298, n. 5599, p. 1730-1731, Nov. 2002.

GALVÃO-CASTRO, B.; COUTO-FERNANDEZ, J. C.; MELLO, M. A.; LINHARES-DE-CARVALHO, M. I.; CASTELLO-BRANCO, L. R.; BONGERTZ, V.; FERREIRA, P. C. P.; MORGADO, M.; SABINO, E.; TANURI, A.; THE BRAZILIAN NETWORK FOR THE HIV-1 ISOLATION AND CHARACTERIZATION. A nationwide effort to systematically monitor HIV-1 diversity in Brazil: preliminary results. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 3, p. 335-338, May/June 1996.

GALVÃO-CASTRO, B.; IVO-DOS-SANTOS, J.; COUTO-FERNANDEZ, J. C.; MORGADO, M. G.; BONGERTZ, V.; CHEQUER-BOU-HABIB, D.; SION, F. S.; BARTH, O. M.; PEREIRA, H.; PEREIRA, M. S. Isolation and antigenic characterization of human immunodeficiency virus (HIV) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, p. 453-456, Dec. 1987.

GOMES, P. **Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 2 (HIV-2)**, 2002. Disponível em: <<http://www.aidscongress.net.pdf/142.pdf>> Acesso em: 22 nov. 2006.

GONSALEZ, C. R.; ALCALDE, R.; NISHIYA, A.; BARRETO, C. C.; SILVA, F. E. S.; ALMEIDA, A.; MENDONÇA, M.; FERREIRA, F.; FERNANDES, S. S.; CASSEB, J.; DUARTE, A. J. S. Drug resistance among chronic HIV-1-infected patients naïve for use of anti-retroviral therapy in Sao Paulo city. **Virus Research**, v. 129, n. 2, p. 87-90, Nov. 2007.

GOTTLIEB, M.; SCHANKER, H. M.; FAN, P. T.; SAXON, A.; WEISMAN, J. D.; DIV OF CLINICAL IMMUNOLOGY-ALLERGY; DEPT OF MEDICINE, UCLA SCHOOL OF MEDICINE; POZALSKI, I.; CEDARS-MT. SIANI HOSPITAL, LOS ANGELES; FIELD SERVICES DIV, EPIDEMIOLOGY PROGRAM OFFICE, CDC. Pneumocystis pneumonia – Los Angeles. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 30, n. 21, p. 250-2, June 1981.

GUIMARAES, M. L.; EYER-SILVA, W. A.; COUTO-FERNANDEZ, J. C.; MORGADO, M. G. Identification of two new CRF_BF in Rio de Janeiro State, Brazil. **AIDS**, v. 22, n. 3, p. 433-435, Jan. 2008.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-8, 1999.

HELLARD, M. E.; AITKEN, C. K. HIV in prison: what are the risks and what can be done? **Sex Health**, v. 1, n. 2, p. 107-13, 2004.

HEMELAAR, J.; GOUNWS, E.; GHYS, P. D.; OSMANOV, S. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. **AIDS**, v. 20, n. 16, p. W13-23, Oct. 2006.

HEYNDRICKX, L.; VAN DER AUWERA, G.; JANSSENS, W.; VAN DER GROEN, G. HIV-1 group M gag Hetroduplex Mobility Analysis (HMA) subtyping kit (Protocol Version 5, February 2002), 2002.

HIERHOLZER, J.; MONTANO, S.; HOELSCHER, M.; NEGRETE, M.; HIERHOLZER, M.; AVILA, M. M.; CARRILLO, M. G.; RUSSI, J. C.; VINOLES, J.; ALAVA, A.; ACOSTA, M. E.; GIANELLA, A.; ANDRADE, R.; SANCHEZ, J. L.; CARRION, G.; SANCHEZ, J. L.; RUSSELL, K.; ROBB, M.; BIRX, D.; MCCUTCHAN, F.; CARR, J. K. Molecular epidemiology of HIV type 1 in Ecuador, Peru, Bolivia, Uruguay, and Argentina. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 18, n. 18, p. 1339-1350, Dec. 2002.

HOLGUIN, A.; RAMIREZ DE ARELLANO, E.; RIVAS, P.; SORIANO, V. Efficacy of antiretroviral therapy in individuals infected with HIV-1 non-B subtypes. **AIDS Reviews**, v. 8, n. 2, p. 98-107, Apr./June 2006.

IBGE. **Estimativa populacional de Mato Grosso do Sul**, 2008. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?ibge/cnv/popms.def>>. Acesso em: 18. jun. 2008.

JURGENS, R. Is the world finally waking up to HIV/Aids in prison? A report from the XV International Aids Conference. **Infectious Disease Corretions Report**, v. 7, n. 9, p. 1-5, Sept. 2004.

KALLAS, E. G.; VARELLA, D.; CENEVIVA, A. C.; CASTELO, A. HIV seroprevalence and risk factors in a brazilian prison. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 2, n. 4, p. 197-204, Aug. 1998.

KANKI, P. J.; HAMEL, D. J. ; SANKALÉ, J. L. ; HSIEH, C. C. ; THIOR, I. ; BARIN, F. ; WOODCOCK, S. A. ; GUÈYE-NDIAYE, A. ; ZHANG, E. ; MONTANO, M. ; SIBY, T. ; MARLINK, R. ; NDOYE, I. ; ESSEX, M. E. ; MBOUP, S. Human immunodeficiency virus type 1 subtypes differ in disease progression. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 179, p. 68-73, Jan. 1999.

KANTOR, R.; KATZENSTEIN, D. A.; EFRON, B.; CARVALHO, A. P.; WYNHOVEN, B.; CANE, P.; CLARKE, J.; YAKUL, S. S.; SOARES, M. A.; SNOECK, J.; PILLAY, C.; RUDICH, H.; RODRIGUES, R.; HOLGUIN, A.; ARIYOSHI, K.; BOUZAS, M. B.; CAHN, P.; SUGIURA, W.; SORIANO, V.; BRIGIDO, L. S. F.; GROSSMAN, Z.; MORRIS, L.; VANDAMME, A. M.; TANURI, A.; PHANUPHAK, P.; WEBER, J. N.; PILLAY, D.; HARRIGAN, P. R.; CAMACHO, R.; SCHAPIRO, J. M.; SHAFER, R. Impact of HIV-1 Subtype and antiretroviral therapy on protease and reverse transcriptase genotype: results of a global collaboration. **PLoS Medicine**, v. 2, n. 4, p. e112, Apr. 2005.

KHAN, S.; RAI, M. A.; KHANANI, M. R.; KHAN, M. N.; ALI, S. H. HIV-1 subtype A infection in a community of intravenous drug users in Pakistan. **Infectious Diseases**, v. 6, p. 164, 2006.

KHOJA, S.; OJWANG, P.; KHAN, S.; OKINDA, N.; HARANIA, R.; ALI, S. Genetic analysis of HIV-1 subtypes in Nairobi, Kenya. **PLoS One**, v. 3, n. 9, p. 107-113, May 2008.

KOZAL, M.J., SHAH, N., SHEN, N., YANG, R., FUCINI, R., MERIGAN, T. C., RICHMAN, D. D., MORRIS, D., HUBBELL, E., CHEE, M., GINGERAS, T. R. Extensive polymorphisms observed in HIV-1 clade B protease gene using high-density oligonucleotide arrays. **Nature Medicine**, v. 2, n. 7, p. 753-759, July 1996.

LAL, R. B.; CHAKRABARTI, S.; YANG, C. Impact of genetic diversity of HIV-1 on diagnosis, antiretroviral therapy & vaccine development. **The Indian Journal of Medical Research**, v. 121, n. 4, p. 287-314, 2005.

LEHVASLAIHO, H.; HIDE, W.; OLIVEIRA, T. **HIV quality analysis pipeline**. South African National Bioinformatics Institute, University of Western Cape, South Africa. Disponível em: <<http://www.sanbi.ac.za>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

LINS, J. B. A. **Diversidade genotípica do HIV-1 em mães HIV⁺/AIDS e em crianças/adolescentes HIV⁺/AIDS de Goiânia-GO**. 2005. 79 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Universidade de Goiás, Goiânia, 2005.

LONGO, B.; NOVATI, S.; MONTIERI, S.; PONTALI, E.; TAGLIA, F.; LEO, G.; BABUDIERI, S.; STARNINI, G.; MONARCA, R.; SULIGOI, B.; REZZA, G.; CICOZZI, M. ON BEHALF OF THE ITALIAN STUDY GROUP ON HIV IN PRISON. HIV-1 diversity among inmates of italian prisons. **Journal of Medical Virology**, v. 80, p.1689-1694, 2008.

LOPES, F.; LATORRE, M. R.; CAMPOS PIGNATARI, A. C.; BUCHALLA, C. M. HIV, HPV, and syphilis prevalence in a women's penitentiary in the city of Sao Paulo, 1997-1998. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 6, p. 1473-80, Nov./Dec. 2001.

LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY. **HIV and SIV Nomenclature**. 2008a. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HelpDocs/subtypes-more.html>>. Acesso em: 7 fev. 2009.

LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY. **Overview of the subtypes of primate immunodeficiency viruses**. 2008b. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HelpDocs/subtypes.html>>. Acesso em: 20 fev. 2009.

LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY. **The circulating recombinant forms (CRFs)**. 2009. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>>. Acesso em: 20 fev. 2009.

MACALINO, G. E.; VLAHOV, D.; SANFORD-COLBT, S.; PATEL, S.; SABIN, K.; SALAS, C.; RICH, J. D. Prevalence and incidence of HIV, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infections among males in Rhode Island prisons. **American Journal of Public Health**, v. 94, n. 7, p. 1218-23, July 2004.

MARTIN, R. E. Would female inmate accept Papanicolaou smear screening if it was offered to them during their incarceration? **Canadian Medical Association Journal**, v. 162, n. 5, p. 657-658, 2000.

MARTINEZ, A. M.; BARBOSA, E. F.; FERREIRA, P. C.; CARDOSO, F. A.; SILVEIRA, J.; SASSI, G.; DA SILVA, C. M.; MENDONÇA-SIGNORINI, V.; ANTUNES, C. M. Molecular epidemiology of HIV-1 in Rio Grande, RS, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 35, n. 5, p. 471-6, Sept./Oct. 2002.

MASSAD, E.; ROZMAN, M.; AZEVEDO R. S.; SILVEIRA, A. S.; TAKEY, K.; YAMAMOTO, Y. I.; STRAZZA, L.; FERREIRA, M. M.; CARVALHO, H. B.; BURATTINI M. N. Seroprevalence of HIV, HCV and syphilis in brazilian prisoners: preponderance of parenteral transmission. **European Journal of Epidemiology**, v. 15, n. 5, p. 439-45, May 1999.

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria de Estado e Justiça. Agência Estadual de Administração do Sistema Penitenciário do Estado de Mato Grosso do Sul/AGEPEN. **Classificação e lotação das unidades penais/MS**. Fevereiro 2007a.

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria Estadual de Saúde de Mato Grosso do Sul. Gerência Técnica do Programa Estadual DST/AIDS. **Boletim Epidemiológico AIDS**. n. 3, dez. 2007b.

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria Estadual de Saúde de Mato Grosso do Sul. Coordenação Estadual DST/AIDS. **Boletim Mensal de Casos de AIDS em MS**. 2006.

MCCUTCHAN, F. E. Global epidemiology of HIV. **Journal of Medical Virology**, v. 78, Suppl. 1, p. S7-S12, 2006.

MEDEIROS, L. B.; LACERDA, H. R.; CAVALCANTI, A. M. S.; ALBUQUERQUE, M. F. P. M. Primary resistance of human immunodeficiency virus type 1 in a reference center in Recife, Pernambuco, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 8, p. 845-849, Dec. 2006.

MILDVAN, D.; MATHUR, U.; ENLOW, R.; ARMSTRONG, D.; GOLD, J.; SEARS, C.; WONG, B.; BROWN, A. E.; HENRY, S. Persistent, generalized lymphadenopathy among homosexual males. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 31, n. 19, p. 249-51, May 1982.

MINISTÉRIO DA JUSTIÇA. Departamento Penitenciário Nacional. **Sistema Prisional**, 2008. Disponível em: <<http://www.mj.gov.br/depen/data/Pages/MJD574E9CEITEMIDC37B2AE94C6840068B1624D28407509CPTBRIE.htm>>. Acesso em: 18 jun. 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Oswaldo Cruz. **O vírus da Aids, 20 anos depois. A epidemia da Aids através do tempo**. 2008. Disponível em: <<http://www.ioc.fiocruz.br/aids20anos/index.html>>. Acesso em: 9 abr. 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. **Boletim epidemiológico - Aids e DST**, ano V, n. 1, jul./dez. 2007, jan./jun. 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Programa Nacional de DST e AIDS. **História da aids**. 2009. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMIS232EC481PTBRIE.htm>>. Acesso em: 19 fev. 2009a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Programa Nacional de DST e AIDS. **Campanha de Carnaval 2009 e bloco da mulher madura**. 2009. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMISC00B1070ITEMID31FA0C6A43AA48C387E6AEA720534E41PTBRIE.htm>>. Acesso em: 19 fev. 2009b.

MIRANDA, A. E.; VARGAS, P. M.; ST. LOUIS, M. E.; VIANA, M. C. Sexually transmitted diseases among female prisoners in Brazil: prevalence and risk factors. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 27, n. 9, p. 491-495, Oct. 2000.

MONTAGNIER, L. A history of HIV discovery. **Science**, v. 298, n. 5599, p. 1727-1728, Nov. 2002.

MONTEIRO, J. P.; ALCANTARA, L. C.; OLIVEIRA, T.; OLIVEIRA, A. M.; MELO, M. A.; BRITES, C.; GALVÃO-CASTRO, B. Genetic variability of human immunodeficiency virus-1 in Bahia state, northeast, Brazil: high diversity of HIV genotypes. **Journal of Medical Virology**, v. 81, n. 3, p. 391-9, Mar. 2009.

MORGADO, M. G.; GUIMARÃES, M. L.; GALVÃO-CASTRO, B. HIV-1 polymorphism: a challenge for vaccine development - a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 2, p. 143-150, 2002.

OKIE, S. Sex, drugs, prisons and HIV. **The New England Journal of Medicine**, v. 356, n. 2, p. 105-108, Jan. 2007.

OLIVEIRA, T.; DEFORCHE, K.; CASSOL, S.; SALMINEN, M.; PARASKEVIS, D.; SEEBREGTS, C.; SNOECK, J.; VAN RENSBURG, E. J.; WENSING, A. M. J.; VAN DE VIJVER, D. A.; BOUCHER, C. A.; CAMACHO, R.; VANDAMME, A. An automated genotyping system for analysis of HIV-1 and other microbial sequences. **Bioinformatics**, v. 21, p. 3797-800, 2005.

OSMANOV, S.; PATTOU, C.; WALKER, N.; SCHWARDLANDER, B.; ESPARZA, J.; WHO-UNAIDS NETWORK FOR HIV ISOLATION AND CHARACTERIZATION. Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 29, n. 2, p. 184-90, 1 Feb. 2002.

OSTI, N. M.; CASTRO, A. F.; RICCI, L. C. Human immunodeficiency virus seroprevalence among inmates of the penitentiary complex of the region of Campinas, state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 4, p. 479-83, July/Aug. 1999.

PALMA, A. C.; ARAUJO, F.; DUQUE, V.; BORGES, F.; PAIXÃO, M. T.; CAMACHO, R. Molecular epidemiology and prevalence of drug resistance-associated mutations in newly diagnosed HIV-1 patients in Portugal. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 7, p. 391-398, 2007.

PASSADOURO, R. Prevalência e fatores de risco das infecções por VIH, hepatite B e C num estabelecimento prisional de Leiria. **Acta Medica Portuguesa**, v. 17, p. 381-384, 2004.

PEETERS, M.; DELAPORTE, E. Genetic diversity of HIV infection worldwide and its consequences. **Médecine Tropicale (Marseille)**, v. 59, n. 4, Pt 2, p. 449-55, 1999.

PEREIRA, G. A. S.; STEFANI, M. M. A.; ARAÚJO FILHO, J. A.; SOUZA, L. C. S.; STEFANI, G. P.; MARTELLI, C. M. T. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and *Mycobacterium leprae* co-infection: HIV-1 subtypes and clinical, immunologic and histopathologic profiles in a Brazilian cohort. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, n. 5, p. 679-684, 2004.

PEREIRA, G.A.S.; STEFANI, M.M.A.; MARTELLI, C.M.T.; TURCHI, M.D.; SIQUEIRA, E.M.P.; CARNEIRO, M.A.S.; MARTINS, R.M.B. Human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus Co-infection and viral subtypes at an HIV testing center in Brazil. **Journal of Medical Virology**, v. 78, n. 6, p. 719-723, 2006.

PINTO, M. E.; STRUCHINER, C. J. HIV-1 diversity: a tool for studying the pandemic. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p. 473-484, Mar. 2006.

POULIN, C.; ALARY, M.; LAMBER, G.; GODIN, D.; LANDRY, S.; GAGNON, H.; DEMERS, E.; MORARESCU, E.; ROCHEFORT, J.; CLAESSENS, C. Prevalence of HIV and hepatitis C virus infections among inmates of Quebec provincial prisons. **Canadian Medical Association Journal**, v. 77, n. 3, p. 252-255, July 2007.

RAMBAUT, A.; POSADA, D.; CRANDALL, K. A.; HOLMES, E. C. The causes and consequences of HIV evolution. **Nature Reviews**, v. 5, p. 52-61, 2004.

REQUEJO, H. I. Z. Worldwide molecular epidemiology of HIV. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 331-345, 2006.

RIOS, M.; FERNANDEZ, J.; JARAMILLO, P.; PAREDES, V.; SANCHEZ, J. L.; LAGUNA-TORRES, V. A.; CARR, J. K.; RAMIREZ, E. Molecular epidemiology of HIV type 1 in Chile: differential geographic and transmission route distribution of B and F subtypes. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 21, n. 10, p. 835-840, 2005.

ROBERTSON, D. L.; ANDERSON, J. P.; BRADAC, J. A.; CARR, J. K.; FOLEY, B.; FUNKHOUSER, R. K.; GAO, F.; HAHN, B. H.; KALISH, M. L.; KUIKEN, C.; LEARN, G. H.; LEITNER, T.; MCCUTCHAN, F.; OSMANOV, S.; PEETERS, M.; PIENIAZEK, D.; SALMINEN, M.; SHARP, P. M.; WOLINSKY, S.; KORBER, B.

HIV-1 nomenclature proposal: a reference guide to HIV-1 classification. 1999.

Disponível em:

<<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/COMPENDIUM/1999/6/nomenclature.pdf>>. Acesso em: 5 jan. 2009.

SA-FILHO, D. J.; SANABANI, S.; DIAZ, R. S.; MUNERATO, P.; BRUNSTEIN, A.; FUSUMA, E.; SABINO, E. C.; JANINI, L. M. Analysis of Full-Length Human Immunodeficiency virus type 1 genome reveals a variable spectrum of subtypes B and F recombinants in São Paulo, Brazil. **Aids Research and Human Retroviruses**, v. 21, n. 2, p. 145-151, 2005.

- SÁ-FILHO, D. J.; SUCUPIRA, M. C.; CASEIRO, M. M.; SABINO, E. C.; DIAZ, R. S.; JANINI, L. M. Identification of two HIV type 1 circulating recombinant forms in Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 22, n. 1, p. 1-13, Jan. 2006.
- SA-FILHO, D. J.; SOARES, M. D. A. S.; CANDIDO, V.; GAGLIANI, L. H.; CAVALIERE, E.; DIAZ, R. S.; CASEIRO, M. M. HIV type 1 pol gene diversity and antiretroviral drug resistance mutations in Santos, Brazil. **Aids Research and Human Retroviruses**, v. 24, n. 3, p. 347-53, Mar. 2008.
- SALEMI, M.; DE OLIVEIRA, T.; SOARES, M. A.; PYBUS, O.; DUMANS, A. T.; VANDAMME, A. M.; TANURI, A.; CASSOL, S.; FITCH, W. M. Different epidemic potentials of the HIV-1B and C subtypes. **Journal of Molecular Evolution**, v. 60, n. 5, p. 598-605, May 2005.
- SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 74, n. 12, p. 5463-5467, Dec. 1977.
- SANTOS, A. F.; SOUSA, T. M.; SOARES, E. A. J. M.; SANABANI, S.; MARTINEZ, A. M. B.; SPRINZ, E.; SILVEIRA, J.; SABINO, E. C.; TANURI, A.; SOARES, M. A. Characterization of a new circulating recombinant form comprising HIV-1 subtypes C and B in southern Brazil. **AIDS**, v. 20, n. 16, p. 2011-2019, 2006.
- SILVEIRA, A. A. **Caracterização da Diversidade Genética do HIV-1 em Pacientes do Estado do Mato Grosso do Sul**. 2007. 72 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Universidade de Goiás, Goiânia, 2007.
- SINGH, S, N. K. HIV in prison and consequences outside: the butterfly effect: letter to the editor. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 34, n. 5, p. 317, May 2007a.
- SINGH, S. Being a criminology ethnographer in a South African Prison: a search for dynamics and prevalence of HIV/Aids in the Westville Prison, Durban, South Africa. **Journal of Social Science**, v. 15, n. 1, p. 71-82, 2007b.
- SOARES, E. A. J. M.; MARTINEZ, A. M.; SOUZA, T. M.; SANTOS, A. F.; DA HORA, V.; SILVEIRA, J.; BASTOS, F. I.; TANURI, A.; SOARES, M. A. HIV-1 subtype C dissemination in southern Brazil. **AIDS**, v. 19, Suppl 4, p. S81-6, Oct. 2005.
- SOARES, E. A. J. M.; SANTOS, R. P. ; PELLEGRINI, J. A.; SPRINZ, E.; TANURI, A.; SOARES, M. A. Epidemiologic and molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 in Southern Brazil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 34, n. 5, p. 520-526, 2003a.
- SOARES, M. A.; DE OLIVEIRA, T. BRINDEIRO, R. M.; DIAZ, R. S.; SABINO, E. C. BRIGIDO, L.; PIRES, I. L.; MORGADO, M. G.; DANTAS, M. C.; BARREIRA, D.; TEIXEIRA, P. R.; CASSOL, S.; TANURI, A.; BRAZILIAN NETWORK FOR DRUG RESISTANCE SURVEILLANCE. A specific subtype C of human immunodeficiency virus type 1 circulates in Brazil. **AIDS**, v. 17, n. 1, p.11-21, Jan. 2003b.
- SONTAG, S. **Aids and its metaphors**. 5. ed. New York: Doubladay, 1995.

SOUZA, A. C. M. F.; OLIVEIRA, C. M.; RODRIGUES, C. L. L.; SILVA, S. A. A.; LEVI, J. E. Molecular characterization of HIV type 1 BF pol recombinants from São Paulo, Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 24, n. 12, p. 1521-1525, Dec. 2008.

STANFORD UNIVERSITY. **HIV drug resistance database**. EUA, 2008. Disponível em: <<http://hivdb.stanford.edu/>>. Acesso em: 12 set. 2008.

STEFANI, M. M. A.; PEREIRA, G. A. S.; LINS, J. A. B.; ALCANTARA, K. C.; SILVEIRA, A. A.; VIEGAS, A. A.; MAYA, N. C.; MUSSI, A. H. Molecular screening shows extensive HIV-1 genetic diversity in Central West Brazil. **Journal of Clinical Virology**, v. 39, n. 3, p. 205-209, May 2007.

STEFANI, M. M. A.; PEREIRA, G. A. S.; MARTELLI, C. M. T.; SHINDO, N.; GALVÃO-CASTRO, B. Evidence of HIV-1 genetic diversity among pregnant women with AIDS or infected with HIV-1 in Central Brazil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 23, n. 2, p. 205-7, Feb. 2000.

STRAZZA, L.; CARVALHO, H.; AZEVEDO, R. S.; MASSAD, E. N Estudo da vulnerabilidade à infecção DST/Aids em detentas de uma penitenciária feminina de São Paulo-SSP, Brasil, avaliada pela técnica sorológica. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 15, n. 4, p. 27-32, 2003.

STRAZZA, L.; AZEVEDO, R. S.; CARVALHO, H. B.; MASSAD, E. The vulnerability of Brazilian female prisoners to HIV infection. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 37, n. 5, p. 771-6, May 2004.

STRAZZA, L.; MASSAD, E.; AZEVEDO, R. S.; CARVALHO, H. B. Behavior associated with HIV and HCV infection in female prison inmates in São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 197-205, 2007.

SUCUPIRA, M. C. A.; CASEIRO, M. M.; ALVES, K.; TESCAROLLO, G.; JANINI, L. M.; SABINO, E. C.; CASTELO, A.; PAGE-SHAFFER, K.; DIAZ, R. S. High levels of primary antiretroviral resistance genotypic mutations and B/F recombinants in Santos, Brazil. **AIDS Patient Care and STDs**, v. 21, n. 2, p. 42-54, 2007.

SWANSON, P.; DE MENDOZA, C.; JOSHI, Y.; GOLDEN, A.; HODINKA, R. L.; SORIANO, V.; DEVARE, S. G.; HACKETT, J. JR. Impact of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genetic diversity on performance of four commercial viral load assays: LCx HIV RNA quantitative, AMPLICOR HIV MONITOR v1.5, VERSANT HIV-1 RNA 3.0, and Nuclisens HIV-1 QT. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 8, p. 3860-8, 2005.

TAKEBE, Y.; KUSAGAWA, S.; MOTOMURA, K. Molecular epidemiology of HIV: Tracking AIDS pandemic. **Pediatrics International**, v. 46, n. 2, p. 236-244, Apr. 2004.

TEIXEIRA, S. L. M.; BASTOS, F. I.; TELLES, P. R.; HACKER, M. A.; BRIGIDO, L. F.; OLIVEIRA, C. A. F.; BONGERTZ, V.; MORGADO, M. G. HIV-1 infection among injection and ex-injection drug users from Rio de Janeiro, Brazil: prevalence, estimated incidence and genetic diversity. **Journal of Clinical Virology**, v. 31, n. 3, p. 221-226, Nov. 2004.

THOMSON, M. M.; DELGADO, E.; HERRERO, I.; VILLAHERMOSA, M. L.; VAZQUEZ-DE PARGA, E.; CUEVAS, M. T.; CARMONA, R.; MEDRANO, L.; PEREZ-ALVAREZ, L.; CUEVAS, L.; NAJERA, R. Diversity of mosaic structures and common ancestry of human immunodeficiency virus type 1 BF intersubtype recombinant viruses from Argentina revealed by analysis of near fulllength genome sequences. **Journal of General Virology**, v. 83, p. 107-119, 2002.

THOMSON, M. M.; NAJERA, R. Molecular epidemiology of HIV-1 variants in the global AIDS pandemic: an update. **AIDS Reviews**, v. 7, n. 4, p. 210-24, Oct./Dec. 2005.

THOMSON, M. M.; PEREZ-ALVAREZ, L.; NAJERA, R. Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 2, n. 8, p. 461-471, Aug. 2002.

UNAIDS. **Report on the global HIV/AIDS epidemic 2008**. 2008. Disponível em: <http://www.unaids.org/en/KnowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2008/2008_Global_report.asp>. Acesso em: 19 fev. 2009.

VELARDE-DUNOIS, K. G.; GUIMARÃES, M. L.; LA FUENTE, C.; ANDRADE, R.; ARÉVALO, R.; PANTOJA, S.; MARISCAL, R.; SANDOVAL, R.; IRIARTE, F.; CHAMÓN, V.; MELGAR, M. L.; CARVAJAL, R.; MORGADO, M. G. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1-infected individuals from Bolivia reveals the presence of two distinct genetic subtypes B and F. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 16, n. 17, p. 1921-1926, Nov. 2000.

VERAS, N. M. C.; VERAS, V. S.; RAMALHO, E. D.; KYAW, C.; SILVA, R. R.; BRÍGIDO, M. M.; MARTINS, C. R. F. HIV type 1 genetic variability in central Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 23, n. 12, p. 1481-1490, Dec. 2007.

VERAS, V. S. **Caracterização da variabilidade antigênica do gene do envelope (env) em amostras de HIV-1 circulantes no Distrito Federal**. 2006. 95 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

VICENTE, A. C.; OTSUKI, K.; SILVA, N. B.; CASTILHO, M. C.; BARROS, F. S.; PIENIAZEK, D.; HU, D.; RAYFIELD, M. A.; BRETAS, G.; TANURI, A. The HIV epidemic in the Amazon Basin is driven by prototypic and recombinant HIV-1 subtypes B and F. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 23, n. 4, p. 327-31, Apr. 2000.

WAINBERG, M. A. HIV-1 subtype distribution and the problem of drug resistance. **AIDS**, v. 18, Suppl 3, p. S63-8, June 2004.

WANG, W.; JIANG, S.; LI, S.; YANG, K.; MA, L.; ZHANG, F.; ZHANG, X.; SHAO, Y. Identification of subtype B, multiple circulating recombinant forms and unique recombinants of HIV type 1 in an MSM cohort in China. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 24, n. 10, p. 1245-1254, 2008.

WILSON, D.; FORD, N.; NAGAMMEE, V.; CHUA, A.; KYAW, M. K. HIV prevention, care, and treatment in two prisons in Thailand. **PLoS Medicine**, v. 4, n. 6, p. 988-992, June 2007.

WOOD, E.; MONTANER, J.; KERR, T. HIV risks in incarcerated injection-drug users. **The Lancet**, v. 366, p. 1834-1835, Nov. 2005.

WHO – World Health Organization. **Status paper on prison, drugs and harm reduction**. Geneva: WHO, 2005.

WHO – World Health Organization; JOINT UNITED NATION PROGRAMME IN HIV/AIDS. **HIV/AIDS prevention, care, treatment and support in prison settings**. New York: United Nations, 2006.

ZHANG, M.; SCHULTZ, A. K.; CALEF, C.; KUIKEN, C.; LEITNER, T.; KORBER, B.; MORGENSTERN, B.; STANKE, M. jpHMM at GOBICS: a web server to detect genomic recombinations in HIV-1. **Nucleic Acids Research**, v. 34, p. 463-5, 2006.

APÊNDICE A – MODELO DE ENTREVISTA

I DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS

- | | | |
|--|----------|----------------|
| 1 – Data: ___/___/___ | Nº _____ | Index () |
| 2 – Naturalidade | | Natural () |
| 3 - Data de nascimento ___/___/___ | | Idade () |
| 4 - Estado civil: (1) Solt. (2) Casado (3) amasiado (4) viuvo (5) separado | | Est. Civil () |
| 5 – Sexo (1) Feminino (2) Masculino | | Sexo () |
| 6 – Raça: (1) Branco (2) Negro (3) Mulato (4) Amarelo | | Raça () |
| 7 – Grau de instrução: (1) 1º grau (2) 2º grau (3) 3º grau (4) nenhum | | Inst. () |
| 8 – Renda familiar: (1) ≤ 1 sm (2) 2 a 5 sm (3) 6 a 9 sm (4) ≥ 10 sm | | R. Famil. () |
| | | () |

II FATORES DE RISCO

- | | | |
|--|-----------------------|-------------------------------|
| 1 – Algum caso de hepatite na família: (1) Não (2) Sim (0) S/inf.
Em caso afirmativo, qual o grau de parentesco:
(1) pai (2) mãe (3) cônjuge (4) irmão (5) outro | | Hep. Fam. () |
| 2 – Já recebeu transfusão de sangue? (1) Não (2) Sim (0) s/inf.
Em caso afirmativo, número de vezes: _____ | | Transf. ()
N. transf. () |
| 3 – Quando foi a primeira transfusão? (1) 1994 ou após (2) antes de 1994 | | 1ª transf. () |
| 4 – Já fez alguma cirurgia? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. | | Cirurg. () |
| 5 – Você tem tatuagem? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. | | Tatuag. () |
| 6 – Você tem piercing? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. | | Pierc. () |
| 7 – Já compartilhou objetos cortantes de higiene? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. | | Hig. () |
| 8 – Você já fez acupuntura? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. | | Acup. () |
| 9 – Você já fez tratamento dentário? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. | | Dent. () |
| 10 – Tem atividade sexual, atualmente? (1) Não (2) Sim | | At. Sexual () |
| 11 – Teve atividade sexual nos últimos 6 meses? (1) Não (2) Sim
Número de parceiros _____ | | At. Sexual () |
| 12 – Já teve relação sexual com parceiro do mesmo sexo? (1) Não (2) Sim
Se sim () últimos 6 meses () há mais de seis meses | | Parc. Sex. ()
() |
| 13 – Tipo de relação sexual já praticada
(1) vaginal (2) anal (3) oral (4) diversas (5) S/inf. | | ()
Tipo de rel. () |
| 14 – Algum parceiro fez uso de droga injetável? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. | | Parc. UDI () |
| 15 – Faz uso de preservativo
(1) sempre (2) ocasionalmente (3) nunca (4) S/inf. | | Uso pres. ()
() |
| 16 – Você já contraiu alguma Doença Sexualmente Transmissível?
(1) Não (2) Sim (0) S/inf.
Se sim, quando teve a última DST? _____ | | DST ()
() |
| 17 – Tem alguma outra doença? (1) Não (2) Sim (0) S/inf.
Se sim, quais _____ | | Doença ()
() |
| 18 – Quantas vezes você foi preso?
(0) 1 vez (2) 2 vezes (3) 3-5 vezes (4) 6-10 vezes (5) >10 vezes | | ()
N. prisões () |
| 19 – Já fez hemodiálise? (1) Não (2) Sim (0) S/inf.
Se sim, tempo de tratamento _____ Unidade _____ | | Hem. ()
Trat. () |
| 20 - Como as pessoas podem se infectar com os vírus da hepatite e do HIV? | | () |
| | HCV HBV HIV | |
| (1) não conheço | () () () | () |
| (2) agulhas ou seringas | () () () | () |
| (3) sexo | () () () | () |
| (4) contato com sangue | () () () | () |
| (5) transfusão de sangue | () () () | () |

- (6) mãe para filho () () () ()
 (7) comida contaminada () () () ()
 (8) talheres, pratos e copos () () () ()
 (9) escova de dentes, pente () () () ()
 (10) lâmina () () () ()
 (11) tatuagem/piercing () () () ()
 (12) sentado perto de alguém () () () ()
 (13) picada de inseto () () () ()
 (14) outro(s) quais: _____ () () () ()
- 21 – Já fez teste para:
 HCV (1) Não (2) Sim (0) S/inf. Teste HCV ()
 HBV (1) Não (2) Sim (0) S/inf. Teste HBV ()
 HIV (1) Não (2) Sim (0) S/inf. Teste HIV ()
 Sífilis (1) Não (2) Sim (0) S/inf. Teste Sífilis ()
- 22 – Pegou o resultado? HIV (1) Não (2) Sim (0) S/inf. Result. ()
 Se sim, o resultado foi ()
 HCV (1) Positivo (2) Negativo (0) S/inf. Res. HCV ()
 HBV (1) Positivo (2) Negativo (0) S/inf. Res. HBV ()
 HIV (1) Positivo (2) Negativo (0) S/inf. Res. HIV ()
 Sífilis (1) Positivo (2) Negativo (0) S/inf. Res. Sífilis ()
- 23 – Se for portador de hepatite C, já iniciou tratamento? Trat Hep C ()
 (1) Não (2) Sim Tempo: _____ (0) S/inf.
- 24 - Se for portador de hepatite B, já iniciou tratamento? Trat. Hep B ()
 (1) Não (2) Sim Tempo: _____ (0) S/inf.
- 25 - Se for portador do HIV, já iniciou tratamento? Trat. HIV ()
 (1) Não (2) Sim Tempo: _____ (0) S/inf.
- 26- Se tem/teve Sífilis, já fez tratamento? Trat. Sífilis ()

III FATORES ASSOCIADOS AO CONSUMO DE DROGAS

- 1 – Você fuma? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. Fuma ()
 2 – Você toma bebida alcoólica (1) Não (2) Sim (0) S/inf. Bebe ()
 Se sim: Qual _____ Em que quantidade _____
 Com que frequência _____
- 3 – Já usou droga? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. Uso droga ()
 Se sim: tipo: (1) não injetável (2) injetável (3) ambas
 Com que frequência usou a droga por mês? _____
 Se sim, está recebendo tratamento? (1) Não (2) Sim (0) S/inf.
- 4 – Usa droga atualmente? (1) Não (2) Sim (0) S/inf. Trat. Droga ()
 Se sim: tipo: (1) não injetável (2) injetável (3) ambas
 Com que frequência usa a droga por mês? _____
 Se sim, está recebendo tratamento? (1) Não (2) Sim (0) S/inf.
- OBS: Se usou drogas injetáveis ou ambas, responder questões 5 a 23 ()
- 5 – Qual sua idade quando usou droga injetável pela primeira vez? _____ IDI 1º vez ()
 6 – Qual a primeira droga que injetou? _____ 1º DI ()
 7 – Você já havia usado esta mesma droga por outra via? UOV ()
 (1) Não (2) Sim (0) S/inf.
- 8 – Na primeira vez que usou, quem injetou a droga em você? QI 1vez ()
 (1) você mesmo (2) amigo (3) parente (4) parceiro (5) profissional

- do mercado da droga (0) S/inf.
- 9 – Na primeira vez que injetou droga como era a agulha ou seringa? Tipo.ser.I ()
(1) nova (2) usada (3) S/inf.
- 10 – Em que cidade estava quando injetou pela primeira vez? CI 1º vez () _____
- 11 – Em que local estava quando injetou pela primeira vez? LI 1ºvez ()
(1) em casa (2) casa parceiro sexual (3) casa de parente
(4) casa de amigo (5) escola (6) local onde consome droga
(7) bar (8) outro lugar público (9) prisão (10) outro
- 12 – Quando injetou pela primeira vez, como conseguiu a droga? Cons.dr. ()
(1) ganhou (2) comprou (3) trocou (4) outros (0) S/inf.
- 13 – Em sua vida, cerca de quantas vezes você injetou droga? N.vez.In ()
(1) 1 vez (2) 2 – 9 vezes (3) 10 a 99 vezes (4) 100 a 999 vezes
(5) ≥ 1000 vezes (0) S/inf.
- 14 – Quando foi a última vez que você injetou droga? Últ. vez inj. ()
(1) 1-6 meses (2) 6 meses – 1 ano (3) 1-5 anos (4) + 5 anos (0) S/inf.
- 15 – Que droga você usou? DU ()
(1) speedball (heroína/cocaína) (2) apenas heroína
(3) apenas cocaína (4) metanfetaminas/rem. p/emagrecer
(5) crack (6) anabólicos
(7) ecstasy (8) solventes
(9) LSD (10) outros _____
(0) S/inf.
- 16 – Com que frequência? Freq. M () _____
- 17 – Qual é hoje a sua via principal de consumo de drogas? P.Via Cons.()
(1) injetável (2) não injetável (3) ambas (0) S/inf.
- 18 – Nas fezes em que você se injetou, como eram as seringas e agulhas? Tipo ser.II ()
(1) Novas (2) Usadas (3) ambas (0) S/inf.
- 19 – Alguma vez você compartilhou fogareiro/recipientes onde misturam ou diluem drogas? Com. Fog. ()
(1) Não (2) Sim (0) S/inf.
- 20 – Você se lembra de alguma vez que injetou com outra pessoa? IP ()
(1) c/ Hepatite C (2) c/Hepatite B (3) c/ HIV (0) S/inf.
- 21 – Você já foi vacinado contra Hepatite B? Vac. ()
(1) Não (2) Sim (0) S/inf.
Caso afirmativo: _____ (nº de doses)
- 22 – Você gostaria de receber a vacina? Rec. Vac. ()
Caso negativo, por quê? _____

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título: Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) na população prisional de Campo Grande, Mato Grosso do Sul: caracterização epidemiológica e molecular

Pesquisador responsável: Roberta Barbosa Lopes Francisco

Prezado(a) Senhor(a)

Você está sendo convidado a participar, como voluntário(a), de uma pesquisa sobre a infecção pelo HIV. Este documento irá lhe fornecer informações importantes sobre o estudo. Por favor, leia atentamente o conteúdo abaixo e esclareça suas dúvidas junto à equipe para decidir se deseja, ou não, participar do mesmo. No caso de aceitar fazer parte do estudo, assine este documento. Caso não queira participar, não será penalizado em nenhum sentido. Informamos que este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos, da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal e pelo Comitê de Ética da UFMS.

OBJETIVO DO ESTUDO

Para ampliar o conhecimento sobre a infecção pelo HIV, pretende-se estudar os perfis epidemiológicos e moleculares do HIV em prisioneiros de Campo Grande-MS.

CONDUÇÃO DO ESTUDO

Toda a pesquisa será realizada por uma equipe qualificada, após consentimento dos participantes. O roteiro a ser utilizado é constituído de duas partes: a primeira se refere aos dados sociodemográficos e a segunda parte diz respeito aos possíveis fatores de risco para a infecção pelo HIV. Após a entrevista, será coletado sangue (10 mL), que será transportado para análise laboratorial. Será armazenada parte desta amostra para posteriores estudos de sorologias para outras DST: Hepatites B e C, Sífilis e HTLV que não foram contempladas neste estudo por limitação de recursos. Caso sejam garantidos os recursos para sua execução, estaremos entrando em contato para seu conhecimento.

RISCO

Esta investigação não oferece quaisquer riscos aos participantes.

BENEFÍCIOS

Os benefícios diretos com a participação neste estudo incluem o conhecimento sobre ser ou não portador dos vírus HIV, bem como a aquisição de informações que visem medidas de prevenção e controle para esta e outras DST. Para os portadores do HIV, será garantido todo o acompanhamento médico e tratamento.

CONFIDENCIALIDADE

A sua identificação neste estudo ocorrerá somente no momento da entrevista e da coleta de sangue. Se você concordar em participar, as informações obtidas relacionadas à sua pessoa serão registradas em formulários e os dados serão armazenados e analisados por computador em forma de códigos, não havendo registro do seu nome. Assim, os seus dados pessoais serão mantidos em sigilo e não será possível a sua identificação em qualquer fase de divulgação da presente pesquisa. Mesmo assim, você tem liberdade de retirar o seu consentimento a qualquer momento. Em caso de qualquer esclarecimento devo procurar a pessoa que realizou a pesquisa, pelo telefone _____

Assinatura (do entrevistado ou responsável) _____

Pesquisador: _____

Telefone do Comitê de Ética/CEP - UFMS: 3345-7187

**ANEXO A - Termos de Aprovação nos Comitês de Ética em Pesquisa
Envolvendo Seres Humanos - UNIDERP**

**ANEXO B - Termos de Aprovação nos Comitês de Ética em Pesquisa
Envolvendo Seres Humanos - UFMS**

ANEXO C - Termo de Referência de Pessoa Jurídica - UNESCO