

Teste genotípico para predição do tropismo do HIV-1

Luana Portes Ozório COELHO, Gabriela Bastos CABRAL,
João Leandro de Paula FERREIRA, Luís Fernando de
Macedo BRÍGIDO

Núcleo de Doenças Sanguíneas e Sexuais, Centro de Virologia,
Laboratório de Genotipagem de HIV, Instituto Adolfo Lutz

O uso adequado de terapias antirretrovirais é uma questão estratégica em Saúde Pública. Entre as inovações na área de medicamentos, encontram-se novos agentes que impedem a entrada do HIV na célula hospedeira, através da inibição da ligação do vírus ao correceptor CCR5¹. A eficácia destes medicamentos depende da necessidade do vírus de utilizar o correceptor CCR5, não atuando em variantes que utilizam correceptores CXCR4. Portanto, determinar o tropismo viral tem sido necessário para subsidiar a decisão clínica quanto ao uso desses novos medicamentos. A predição do tropismo também é importante no entendimento da patogênese viral, sendo o uso pelo vírus do correceptor CCR5 correlacionado com uma melhor evolução clínica^{2, 3}. No laboratório de Retrovírus do Instituto Adolfo Lutz (IAL), o fenótipo viral tem sido determinado a partir da análise das sequências da região do envelope viral (V3), utilizando-se diferentes ferramentas de bioinformática como alternativa aos métodos fenotípicos como, por exemplo, o Trofile™. O teste de genotipagem

(Genotropismo) em triplicata tem se mostrado mais robusto e com melhor concordância com Trofile™⁴. O método compreende a extração do RNA, a partir de plasma. O RNA é retrotranscrito e amplificado em *One Step PCR* (Reação em Cadeia da Polimerase). A segunda amplificação (*Nested PCR*) permite a obtenção parcial da região do envelope viral do HIV-1. O produto dessa reação é sequenciado utilizando-se rodaminas marcadas (Big Dye) em sequenciador automático 3130 XL (Applied Biosystems). A edição das sequências é realizada em software Sequencher e analisada com ferramentas de bioinformática. As sequências são submetidas em *sites* que permitem a predição do tropismo viral (<http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/index.php>) do Instituto Max Planck e (<http://indra.mullins.microbiol.washington.edu/pssm>) da Universidade de Washington.

Esta metodologia está sendo utilizada para subsidiar a decisão clínica em pacientes com múltiplas falhas terapêuticas que necessitam de terapia de resgate, assim como em estudos relacionados ao entendimento da patogênese viral

em pacientes atendidos em serviços do SUS no Estado de São Paulo.

REFERÊNCIAS

1. MacArthur RD, Novak RM. Maraviroc: The first of a New Class of Antiretroviral Agents. *Clinical Infectious Diseases*. 2008; 47:236-41.
2. Richman DD, Bozzette SA. The impact of the syncytium-inducing phenotype of human immunodeficiency virus on disease progression. *J Infect Dis*. 1994; 169(5):968-74
3. Waters L, Mandalia S, Randell P, Wildfire A, Gazzard B, Moyle G. The Impact of HIV Tropism on Decreases in CD4 Cell Count, Clinical Progression, and Subsequent Response to a First Antiretroviral Therapy Regimen. *Clin Infect Dis*. 2008; 46:1617-1623
4. Swenson LC, Moores A, Low AJ, Thielen A, Dong W, Woods C et al. Improved Detection of CXCR4-Using HIV by V3 Genotyping: Application of Population- Based and “Deep” Sequencing to Plasma RNA and Proviral DNA. *Journal of AIDS*. 2010; 54(5):506-10.