



INSTITUTO DE HIGIENE E
MEDICINA TROPICAL
DESDE 1902



UNIVERSIDADE
NOVA
DE LISBOA

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (VIH)

Caraterização da UC:

Designação da UC:

Epidemiologia Molecular do Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH)

Sigla da área científica:

VM

Duração:

Modular

Horas de trabalho:

168

Horas de contacto:

42,5

ECTS:

6

Observações:

Não se aplica (NA).

Docente responsável e respetiva carga letiva na UC:

Prof. Doutor João Piedade – 25 h

Prof. Doutor Ricardo Parreira – 24 h

Outros docentes e respetivas cargas letivas na UC:

NA

Objetivos de aprendizagem (conhecimentos, aptidões e competências a desenvolver pelos estudantes):

1. Reconhecer os mecanismos geradores de variabilidade genética no VIH e suas consequências fenotípicas, com implicações do ponto de vista prático (ex.: diagnóstico, monitorização de carga viral, terapêutica).
2. Reconhecer como as características genéticas do VIH podem servir de marcadores epidemiológicos, permitindo monitorizar a evolução da pandemia no espaço e no tempo.
3. Executar, compreender e analisar criticamente os resultados obtidos na utilização de múltiplas abordagens experimentais para a caracterização genética de estirpes do VIH.



4. Utilizar algoritmos informatizados para a identificação de polimorfismos nas regiões codificantes da protease (PR) e transcriptase reversa (RT) associados a falência terapêutica e interpretar criticamente os resultados obtidos.
5. Adquirir competências básicas em reconstrução de filogenias e caracterização genética de sequências virais, incluindo a identificação de vírus recombinantes.

Conteúdos programáticos:

1. Variação genética e epidemiologia molecular dos vírus da imunodeficiência humana.
2. Monitorização da infeção pelo VIH e testes (genotípicos e fenotípicos) de suscetibilidade aos antirretrovirais.
3. Pesquisa automatizada de mutações de resistência aos antirretrovirais através da análise de sequências nucleotídicas da PR e RT.
4. Análise da diversidade genética do VIH-1 por recurso ao HMA (*Heteroduplex Mobility Assay*).
5. Preparação de DNA proviral do VIH-1 a partir de amostras de sangue imobilizadas em cartões FTA® e sua amplificação por *nested* PCR.
6. Clonagem molecular de fragmentos de DNA obtidos por PCR (incluindo ligação a um vetor plasmídico, transformação de células bacterianas competentes, purificação e análise de DNA plasmídico recombinante por hidrólise enzimática).
7. Análise de sequências nucleotídicas de VIH-1 utilizando múltiplas ferramentas do domínio da filogenia molecular, incluindo a construção de árvores filogenéticas e análises de *similarity plot* e *bootscanning*.

Demonstração da coerência dos conteúdos programáticos com os objetivos de aprendizagem da UC:

Os conteúdos programáticos foram definidos de forma a permitir atingir cada um dos objetivos de aprendizagem definidos. Assim, os conteúdos 1 e 2 estão diretamente relacionadas com objetivos 1 e 2, isto é, explorarão os mecanismos biológicos geradores de variabilidade nos VIH e quais as suas potenciais consequências práticas. Os conteúdos 4-6 decorrem essencialmente do objetivo 3, versando sobre algumas das técnicas experimentais utilizadas para a avaliação da diversidade genética de estirpes do VIH. Por fim, os conteúdos 3 e 7, do domínio da bioinformática, permitirão, respetivamente, que sejam atingidos os objetivos 4 e 5, nomeadamente no que diz respeito à definição de perfis de resistência a fármacos antirretrovirais e clarificação das relações de parentesco evolutivo entre genomas de estirpes virais circulantes, com base na análise das respetivas sequências nucleotídicas.

Metodologias de ensino (avaliação incluída):

As aulas teóricas/teórico-práticas serão lecionadas recorrendo ao auxílio de metodologias expositivas, em ambiente participativo. As aulas práticas decorrerão em ambiente laboratorial de tipo BSL1 (nível de biossegurança básico, não restritivo) ou versarão sobre a utilização de ferramentas do domínio da bioinformática, em sala equipada com computadores individuais e fazendo uso de aplicações informáticas de uso não restrito (*freeware*). A avaliação inclui três componentes: avaliação contínua, avaliação formal/teórica sob a forma de um exame escrito e apresentação temática oral, em grupo.

Demonstração da coerência das metodologias de ensino com os objetivos de aprendizagem da UC:

A metodologia expositiva, intercalada com a utilização exploratória, durante a aula, de ferramentas informáticas, em associação a uma forte componente de aulas práticas laboratoriais, permitirá aos alunos a oportunidade de integrar a aquisição de conhecimentos teóricos com a execução de protocolos experimentais, estimulando a análise crítica dos resultados obtidos e a exploração das potencialidades das análises *in silico*. Esta combinação de metodologias tem como objetivo a sedimentação de conceitos teóricos, permitindo a aprendizagem dirigida à resolução de questões práticas e demonstrando a utilidade das ferramentas informáticas no domínio da epidemiologia molecular e caracterização genética de vírus, através da análise das suas sequências genómicas. As abordagens de ensino-aprendizagem utilizadas serão complementadas com a pesquisa e análise crítica, semiautónoma, de um tema novo, não abordado por qualquer das componentes acima mencionadas, a apresentar em seminário colaborativo.

Bibliografia de consulta / existência obrigatória:

- Chung CT, Niemela SL, Miller RH (1989). One-step preparation of competent *Escherichia coli*: transformation and storage of bacterial cells in the same solution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86(7):2172-5.
- Cortez KJ, Maldarelli F (2011). Clinical management of HIV drug resistance. Viruses, 3(4):347-78.
- Gilbert MT, Rambaut A, Wlasiuk G, Spira TJ, Pitchenik AE, Worobey M (2007). The emergence of HIV/AIDS in the Americas and beyond. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104(47):18566-70.
- Hemelaar J (2013). Implications of HIV diversity for the HIV-1 pandemic. J. Infection, 66:391-400.
- Hemelaar J, Elangovan R, Yun J, Dickson-Tetteh L, Fleminger I, Kirtley S, Williams B, Gouws-Williams E, Ghys PD, WHO–UNAIDS Network for HIV Isolation Characterisation (2019). Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990-2015: a systematic review, global survey, and trend analysis. Lancet Infect. Dis., 19(2):143-55.
- Hemelaar J, Loganathan S, Elangovan R, Yun J, Dickson-Tetteh L, Kirtley S; WHO-UNAIDS Network for HIV Isolation and Characterization (2020). Country level diversity of the HIV-1 pandemic between 1990 and 2015. J. Virol., 95(2):e01580-20.
- Heteroduplex Mobility Assay (<http://ubik.microbiol.washington.edu/HMA/index.html>)
- Junqueira DM, de Medeiros RM, Matte MC, Araújo LA, Chies JA, Ashton-Prolla P, Almeida SE (2011). Reviewing the history of HIV-1: spread of subtype B in the Americas. PLoS One, 6(11):e27489.
- Maartens G, Celum C, Lewin SR (2014). HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. Lancet, 384:258-71.
- Sharp PM, Hahn BH (2011). Origins of HIV and the AIDS pandemic. Cold Spring Harb. Perspect. Med.; doi: 10.1101/cshperspect.a006841.
- Skar H, Hedskog C, Albert J (2011). HIV-1 evolution in relation to molecular epidemiology and antiretroviral resistance. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1230:108-18.
- Stanford University HIV Drug Resistance Database (<http://hivdb.stanford.edu/>)



- Steegen K, Demecheleer E, De Cabooter N, Nges D, Temmerman M, Ndumbe P, Mandaliya K, Plum J, Verhofstede C (2006). A sensitive in-house RT-PCR genotyping system for combined detection of plasma HIV-1 and assessment of drug resistance. J. Virol. Methods, 133:137-45.
- Vandamme AM, Camacho RJ, Ceccherini-Silberstein F, de Luca A, Palmisano L, Paraskevis D, Paredes R, Poljak M, Schmit JC, Soriano V, Walter H, Sönnernborg A; European HIV Drug Resistance Guidelines Panel (2011). European recommendations for the clinical use of HIV drug resistance testing: 2011 update. AIDS Rev., 13(2):77-108.
- Wensing AM, Calvez V, Ceccherini-Silberstein F, Charpentier C, Günthard HF, Paredes R, Shafer RW, Richman DD (2019). 2019 update of the drug resistance mutations in HIV-1. Top. Antivir. Med., 27(3):111-21.
- <http://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/>
- <http://www.hiv.lanl.gov/content/index>

(outras referências poderão vir a ser sugeridas, em contextos específicos, pelos docentes)



INSTITUTO DE HIGIENE E
MEDICINA TROPICAL
DESDE 1902



UNIVERSIDADE
NOVA
DE LISBOA

Língua de ensino:

Português

Local das aulas:

Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT)

Informação adicional sobre a avaliação dos alunos (tipo de avaliação, critérios, calendarização):

A obtenção de frequência requer a assistência a um mínimo de 2/3 do número total de aulas programadas.

A avaliação inclui três componentes: avaliação contínua (10% da classificação final), avaliação formal/teórica sob a forma de um exame escrito individual, com questões de natureza diversificada (50% da classificação final) e apresentação temática oral, em grupos de 2-3 alunos (40% da classificação final). Para aprovação são necessárias uma média final ponderada mínima de 9,50 valores e uma classificação mínima de 9,0 valores no exame escrito individual. Para calendarização dos momentos de avaliação ver secção acima “*Organização dos conteúdos por sessão e respetiva calendarização*”.

Os critérios de aprovação são iguais em todas as épocas de avaliação. A melhoria de nota, durante o presente ano letivo, implica a realização do exame escrito, mantendo-se a classificação obtida nas outras duas componentes da avaliação. A melhoria de nota, no ano letivo seguinte, implica a realização de todos os momentos de avaliação.

Em caso de dúvida sobre a eventual prática de plágio ou fraude, durante um dos momentos de avaliação, pode determinar-se a realização de uma prova oral, cujo resultado prevalece relativamente a outro(s) anteriormente obtido(s).