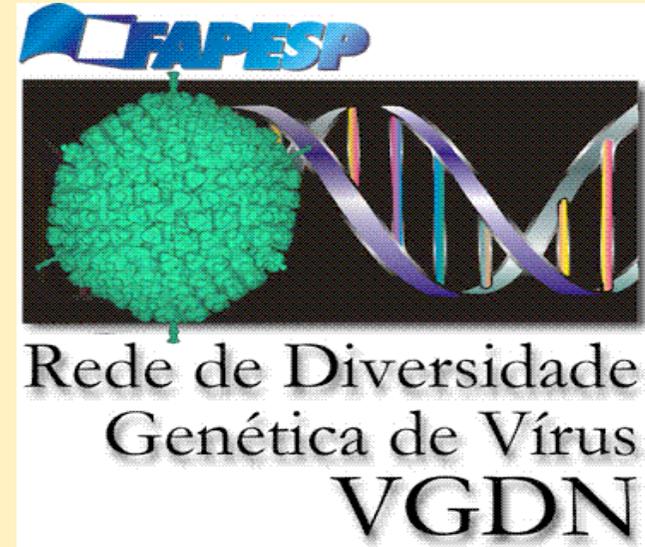
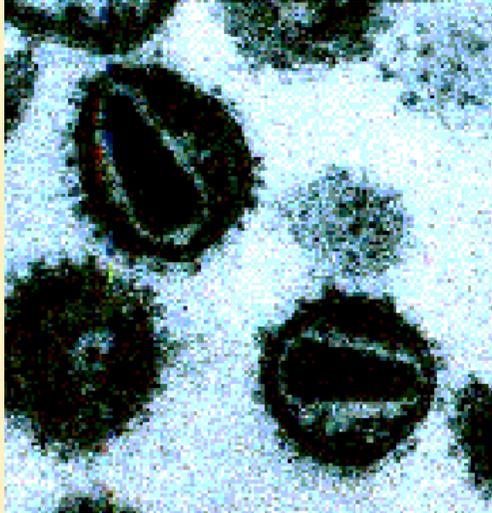


VGDN



Direção:

Paolo Zanotto (Coordenação Científica)
Edison Durigon (Implementação laboratorial)
Eduardo Massad (Relações Institucionais)

Coordenadores:

Maria Inês Pardini, Leda Jamal (HIV-1)
João Renato Pinho, Isabel Guedes (HCV)
Luiz Tadeu Figueiredo (Hantavirus)
Eurico Arruda, Viviane Botosso (RSV)

Objetivos da VGDN

- Programa de **Virologia Básica** e que visa levantar dados sobre a **diversidade genética viral** de agentes relevantes por sequenciamento.
- Maximizar o **valor agregado** da informação genética viral via amostragem racional e desenho experimental baseados em informação clínica e epidemiológica.
- Gerar massa crítica, capacidade instalada e excelência em virologia fundamental e epidemiologia molecular.
- Incentivar o surgimento de mais grupos dedicados à virologia molecular, pesquisa de doenças emergentes e vigilância.
- Providenciar informação inequívoca e significativa sobre características genéticas virais importantes como resistência a drogas, distribuição de subtipos virais, recombinantes, etc.
- Em colaboração com a SES, nós da rede poderão de forma eficiente acompanhar variantes virais durante um **surto epidêmico** e auxiliar a prever surtos.
- Desenvolver e instalar um sistema de **bioinformática** de alta performance para armazenamento e análise de dados para uso de todas instituições interessadas.

Metas da VGDN na Fase 2: Tarefas Coordenadas

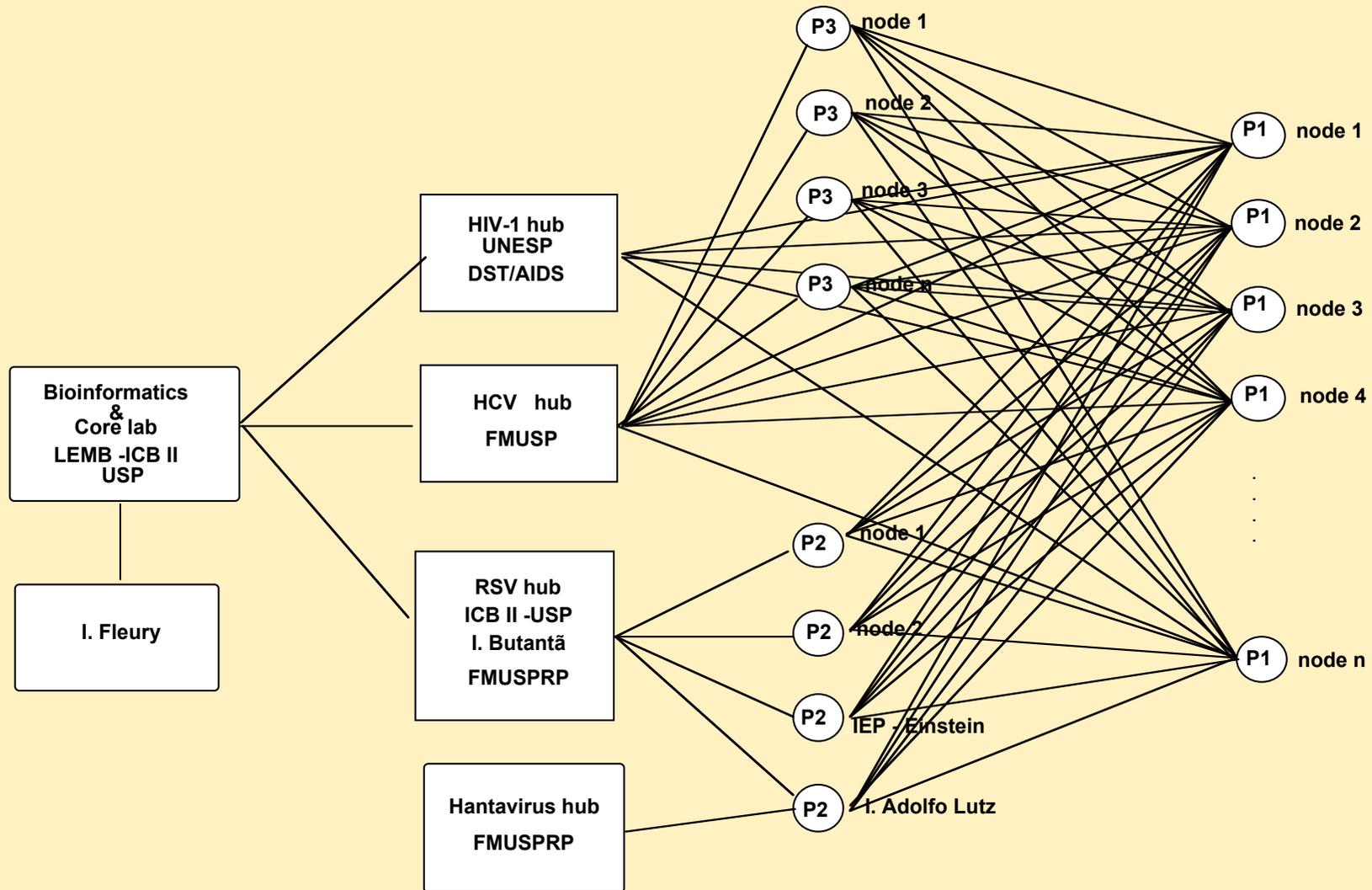
Quatro tarefas coordenadas que incluirão os seguintes agentes:

- **Vírus da Imuno Deficiência Humana (HIV-1).**
 - **Vírus da Hepatite C (VHC).**
 - **Vírus Respiratório Sincicial Humano (VRSH).**
 - **Hantavirus.**
- A escolha e ordem considerou ambas as prioridades da Secretaria de Estado da Saúde e a necessidade de implementar técnicas fundamentais e avançadas de virologia.
- As quatro tarefas coordenadas durariam 4.0 anos a partir da conclusão do piloto (2001).

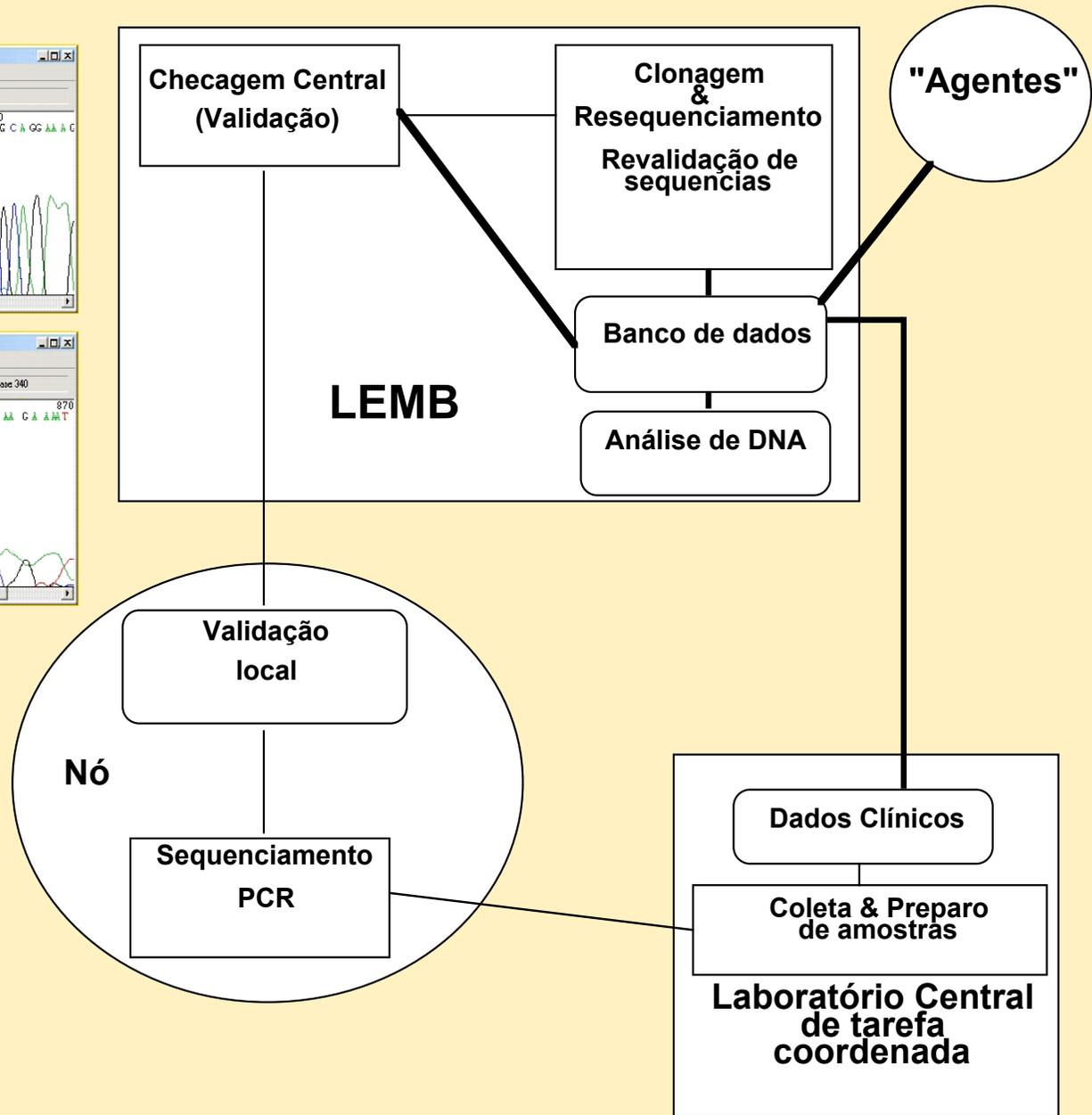
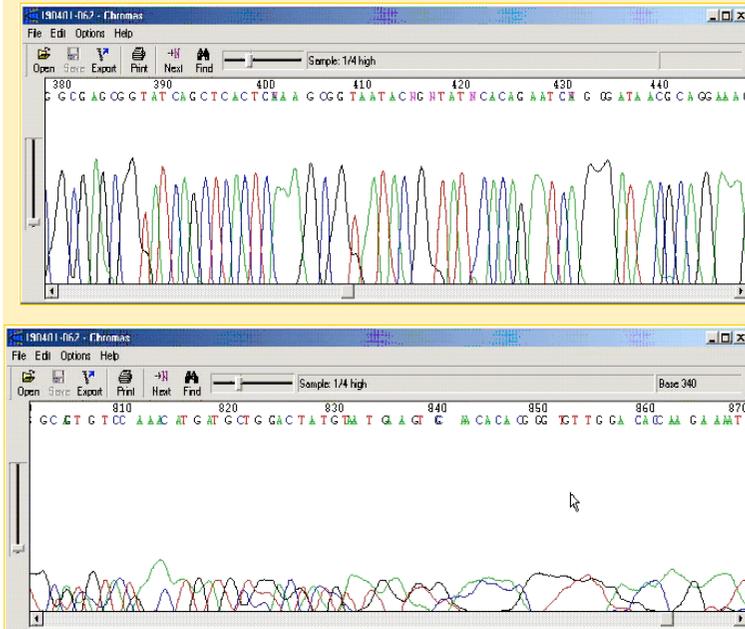
Categorias de Grupos Participantes

- **Nós operando a nível 1.** Laboratórios de PCR e sequenciamento que não irão cultivar vírus (14 nós).
- **Nós operando a nível 2.** Laboratórios de nível de biosegurança 2 (P2) que irão trabalhar com isolamento viral, cultivo, caracterização e preparar amostras para sequenciamento (6 nós).
- **Nós operando a nível 3.** Laboratórios de nível de biosegurança 3 (P3) que irão trabalhar com amostras de tecidos de roedores silvestres colhidas durante a tarefa coordenada de hantavirus (4 nós).

Organograma Funcional da VGDN



Fluxograma da VGDN



Tarefa coordenada do HIV-1

Objetivos:

- determinar a prevalência e a distribuição de subtipos do HIV-1 em diferentes localidades do Estado de São Paulo, e a prevalência de mutações que conferem resistência a drogas anti-retrovirais .
- analisar dados sócio-demográficos, epidemiológicos e laboratoriais associados aos subtipos do HIV-1.
- Analisar as mutações encontradas, relacionando-as com os medicamentos anti-retrovirais recebidos e o subtipo do vírus.

Metodologia

- Estudo multicêntrico, em 8 municípios do estado de São Paulo (São Paulo, Ribeirão Preto, S.J.Rio Preto, São Vicente, Botucatu, Presidente Prudente, Sorocaba e Araçatuba).
- Total de pacientes: 1200 (150 por município)
- Inclusão de pacientes: de acordo com o agendamento prévio para coleta de CD4 e carga viral, e sequencialmente no período (ou, caso haja excesso de pacientes, sorteio prévio dos pacientes agendados para o dia).
- Material coletado: 10ml de sangue (por ocasião da coleta de sangue para exame de carga viral e CD4) e após consentimento informado
- Informações: coleta de dados em entrevista e de prontuário
- Realizado pré-teste de questionários e da coleta de amostras, com 7 pacientes do CRT-DST/Aids, em abril/2001
- Realizado estudo-piloto para : Verificar efetividade planejada de operacionalização de coleta de dados, de material biológico, de envio de amostras e de emissão e envio de laudo do resultado do exame e testar protocolo laboratorial

Cronograma

1ª FASE: Piloto

- De março a maio/2001 foram incluídos_ 170 pacientes do CRT-DST/AIDS e 149 pacientes de Ribeirão Preto (2 SAE e HC)
- Treinamento local de profissionais: inclusão de pacientes, coleta de material, preenchimento de questionários de entrevista e de prontuário (identificação do conjunto)
- início em 05/03/2001 e término de inclusão de pacientes em 15/05/2001.
- amostras coletadas: sangue centrifugado e aliqotado no laboratorio local (CRT e lab municipal Ribeirão), e aliqotas enviadas para labs coordenadores: semanalmente no CRT e, em Ribeirão Preto, no final da inclusao de pacientes, (via terrestre).
- Questionários supervisionados localmente e enviados para CRT, para digitação em banco de dados específico (Delphi)
- Em 21 de setembro de 2001, entregue relatório para FAPESP, com análise dos dados e das sequencias realizadas.
- Dezembro/2001: aprovação do Piloto.
- Total de amostras: 320, Total de pacientes: 319 (1 paciente entrou por 2 locais, e foi excluída 1 amostra dessa paciente, da análise). Das 319 analisadas:
 - Em 65 não foi possível a amplificação
 - Em 254 foi realizado genotipagem e sequenciamento

2ª FASE

Após mais de 02 anos de interrupção, foi retomada a inclusão de pacientes no estudo. De março a setembro 2003, foram incluídos mais 340 pacientes:

- 40 – CRT
- 150 – Araçatuba
- 150 – São Vicente

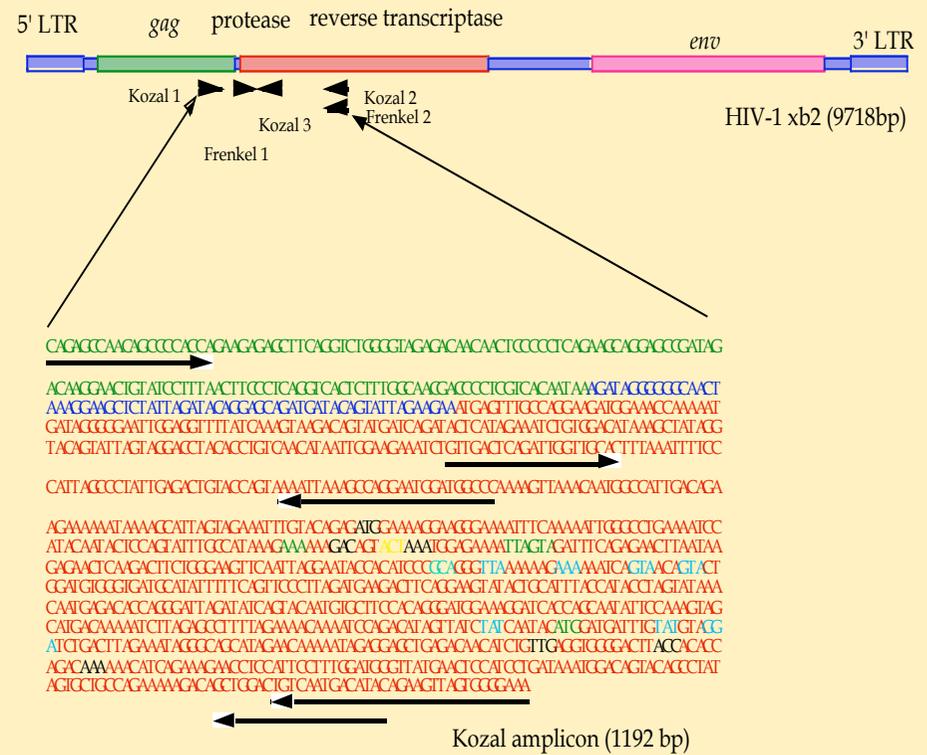
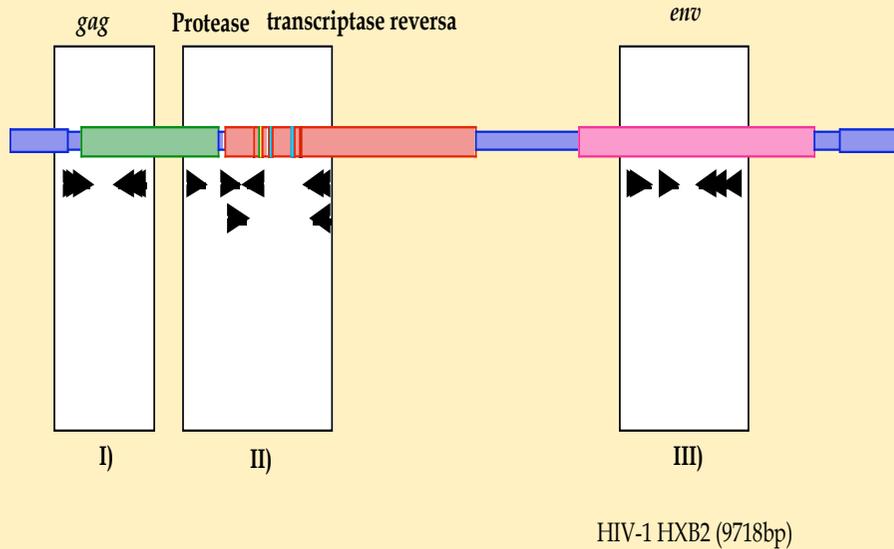
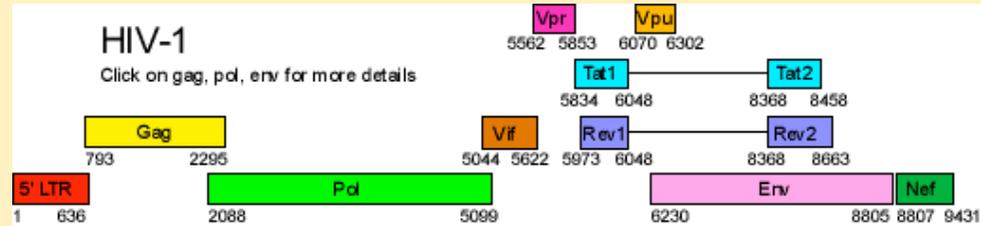
3ª FASE:

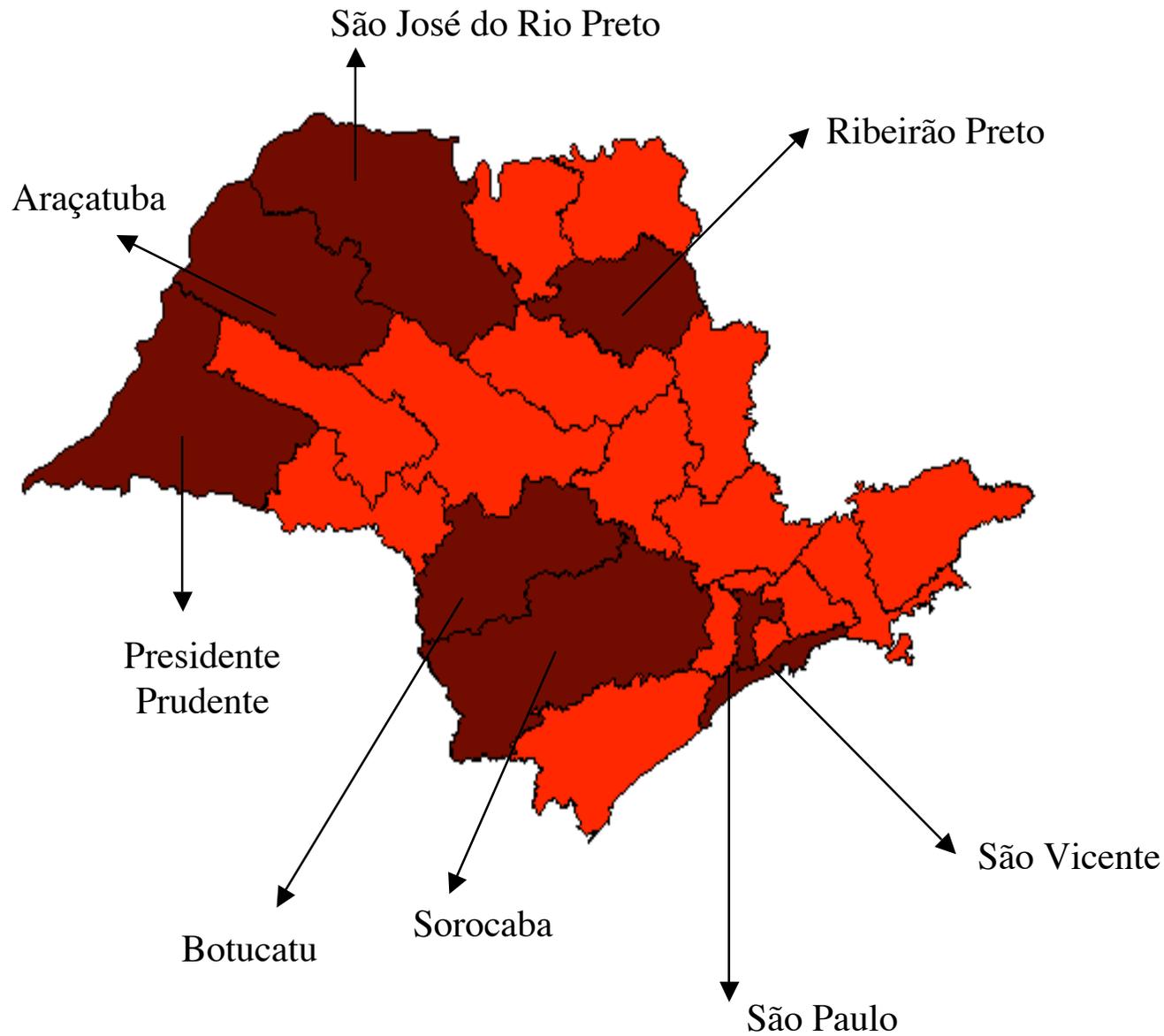
- Em agosto/2004 o estudo prosseguiu com a inclusão dos 04 municípios restantes (150 pacientes/ município): Sorocaba, Botucatu, Presidente Prudente e São José do Rio Preto

•TOTAL DE PACIENTES INCLUÍDOS até 24/09/2004: 1123

(SJRP e Presidente Prudente com metade da amostra prevista).

Sequenciando o HIV





1.259
amostras

Randomizada
(Carga Viral-MS)

quesvgdntrev5 - Microsoft Word

Arquivo Editar Exibir Inserir Formatar Ferramentas Tabela Janela Ajuda Digite uma pergunta

Normal + 11 pt, Neg Times New Roman

Formulário 1: Entrevista com o paciente

Data da entrevista: ___/___/___ Investigador: _____

Orientações Gerais:
Realizar entrevistas somente em paciente com 18 anos ou mais de idade, por ocasião da coleta de sangue para determinação de carga viral e que tenha consentido em participar do estudo.

I. Dados do caso:

Dados da unidade de atendimento:

1. Nome da Unidade: _____ 2. Município: _____

Dados do paciente:

3. Nome: _____
4. Prontuário: _____ 5. Data de nascimento: ___/___/___ 6. Sexo: () M () F

Pág 1 Seção 1 1/5 Em Lin Col GRA ALT EST SE Português ()

http://www.lemb.icb.usp.br/vgdn_new/ - Microsoft Internet Explorer

Rede de Diversidade Genética de Vírus VGDN

USERNAME: [juz zootis]
PASSWORD: [*****]
LOG ON

PAGE ADMINISTRATION BY BIOINFORMATIC TEAM
-RUI ALBERTO ZAATIS- & -ANDERSON ALVARENGA-

Done Internet 7:50 AM

http://www.lemb.icb.usp.br/vgdn_new/quest_report.php - Microsoft Internet Explorer

ACCEPTED:

PROJECT	PATIENT	REGION	READ	GOOD BASES	STATUS

REJECTED:

PROJECT	PATIENT	REGION	READ	GOOD BASES	STATUS

FILENAME ERROR:

TAG	FILE NAME

MISSING FILES:

PROJECT	PATIENT	REGION	READ	STATUS

ALREADY SUBMITTED FILES:

PROJECT	PATIENT	REGION	READ	TAG
15	0203	PR	15_0203_PAF.b	2003-12-16.113751
15	0203	PR	15_0203_PAF.g	2003-12-16.113751
15	0203	RT	15_0203_PAF.b	2003-12-16.113751
15	0203	RT	15_0203_PAF.g	2003-12-16.113751
15	0203	RT	15_0203_RBF.b	2003-12-16.113751
15	0203	RT	15_0203_RBF.g	2003-12-16.113751

BACK

PAGE ADMINISTRATION BY BIOINFORMATIC TEAM
-RUI ALBERTO ZAATIS- & -ANDERSON ALVARENGA-

Done Internet 7:54 AM

quesvgdnpront5 - Microsoft Word

Arquivo Editar Exibir Inserir Formatar Ferramentas Tabela Janela Ajuda Digite uma pergunta

Título 1 + 10 pt Times New Roman 10

PROJETO: Diversidade Genética do HIV no Estado de São Paulo
Programa Estadual de DST/Aids - Hemocentro de Botucatu (UNESP)

Formulário 2: Coleta de dados de prontuário

Data do preenchimento: ___/___/___ Investigador: _____

I. Dados do caso:

Dados da unidade de atendimento:

1. Nome da Unidade: _____ 2. Município: _____

Dados do paciente:

3. Nome do paciente: _____
4. Prontuário: _____

QUESTÕES 5 A 7 SERÃO PREENCHIDAS PELO SUPERVISOR:

5. DATA DE DIAGNÓSTICO DE AÍDS: ___/___/___

Pág 1 Seção 1 1/5 Em Lin Col GRA ALT EST SE Português ()

HIValg: Resistance Algorithm Comparison - Microsoft Internet Explorer

http://hivdb6.stanford.edu/asi/deployed/hiv_central.p

NRRTI	3TC	ABC	AZT	D4T	DDC	DDI	FTC	TDF
HIVDB	Susceptible							
'SIR' interpretation	S	S	S	S	S	S	S	S
Scored Mutations								

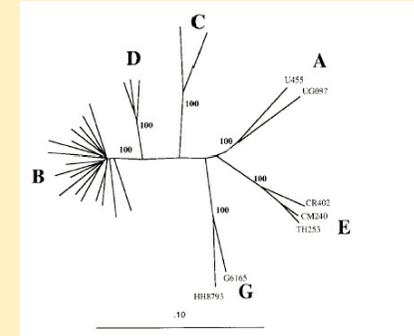
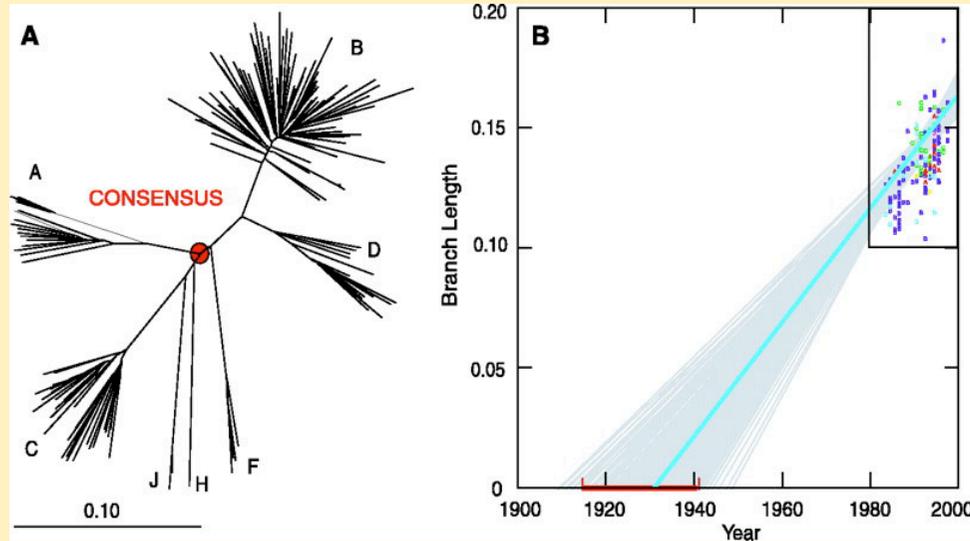
NRRTI	DLV	EFV	NVP
HIVDB	Susceptible	Susceptible	Susceptible
'SIR' interpretation	S	S	S
Scored Mutations			

PI	APV	ATV	IDV	LPV	NFV	RTV	SQV
HIVDB	Susceptible						
'SIR' interpretation	S	S	S	S	S	S	S
Scored Mutations	M36I						

Home | Analyze a sequence | Analyze a mutation list | Release Notes

Done Internet 21:55

HIV-1: Origem e subtipos



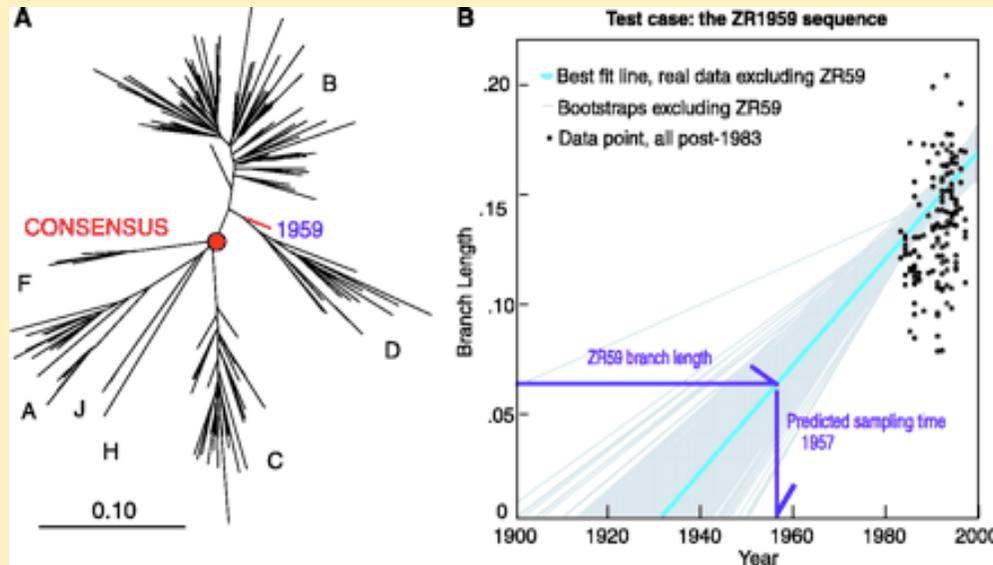
3 tipos principais
M, N & O

Diferem entre si como
para o SIV_{CPZ}

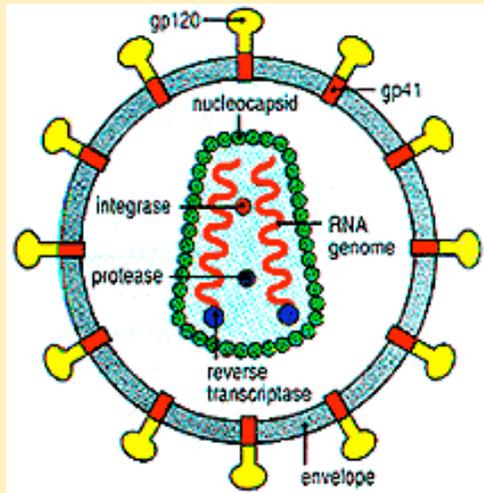
Sugerem 3 eventos
de entrada
independente na
espécie humana

Comuns na África

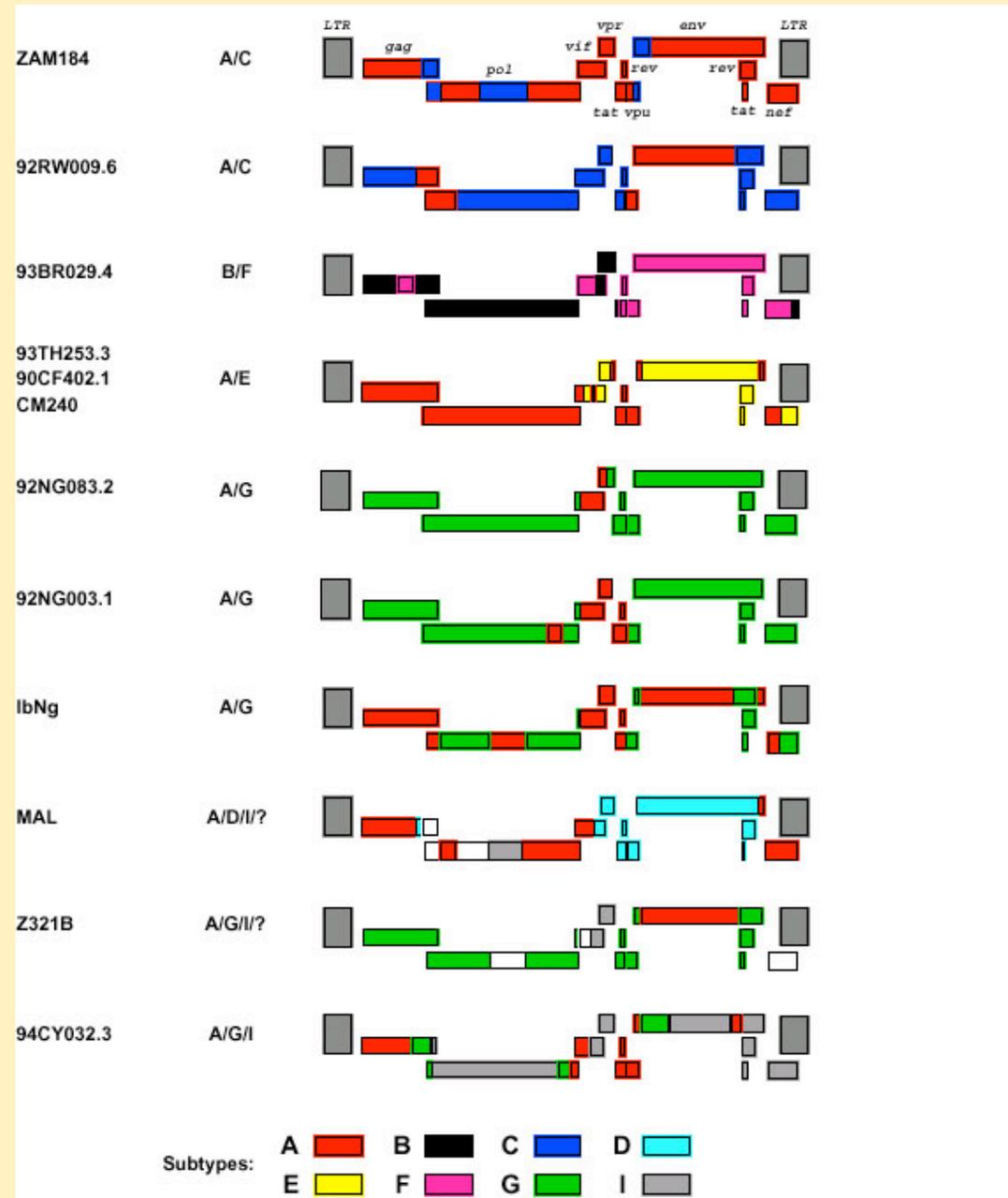
Origem em 1930?



HIV - recombinação



Mudança de fita durante a transcrição reversa



Tarefa coordenada do HIV-1: resultados preliminares (1)

Distribuição dos casos com genotipagem e seqüenciamento, de acordo com subtipo do HIV. Estado de São Paulo, 2001-2003:

Subtipo*	Freq	Percent
B	382	83,4%
C	7	1,5%
F	12	2,6%
rec_BA	1	0,2%
rec_BD	14	3,1%
rec_BF	42	9,2%
Total	458	100.0%

*regiao RT e PR

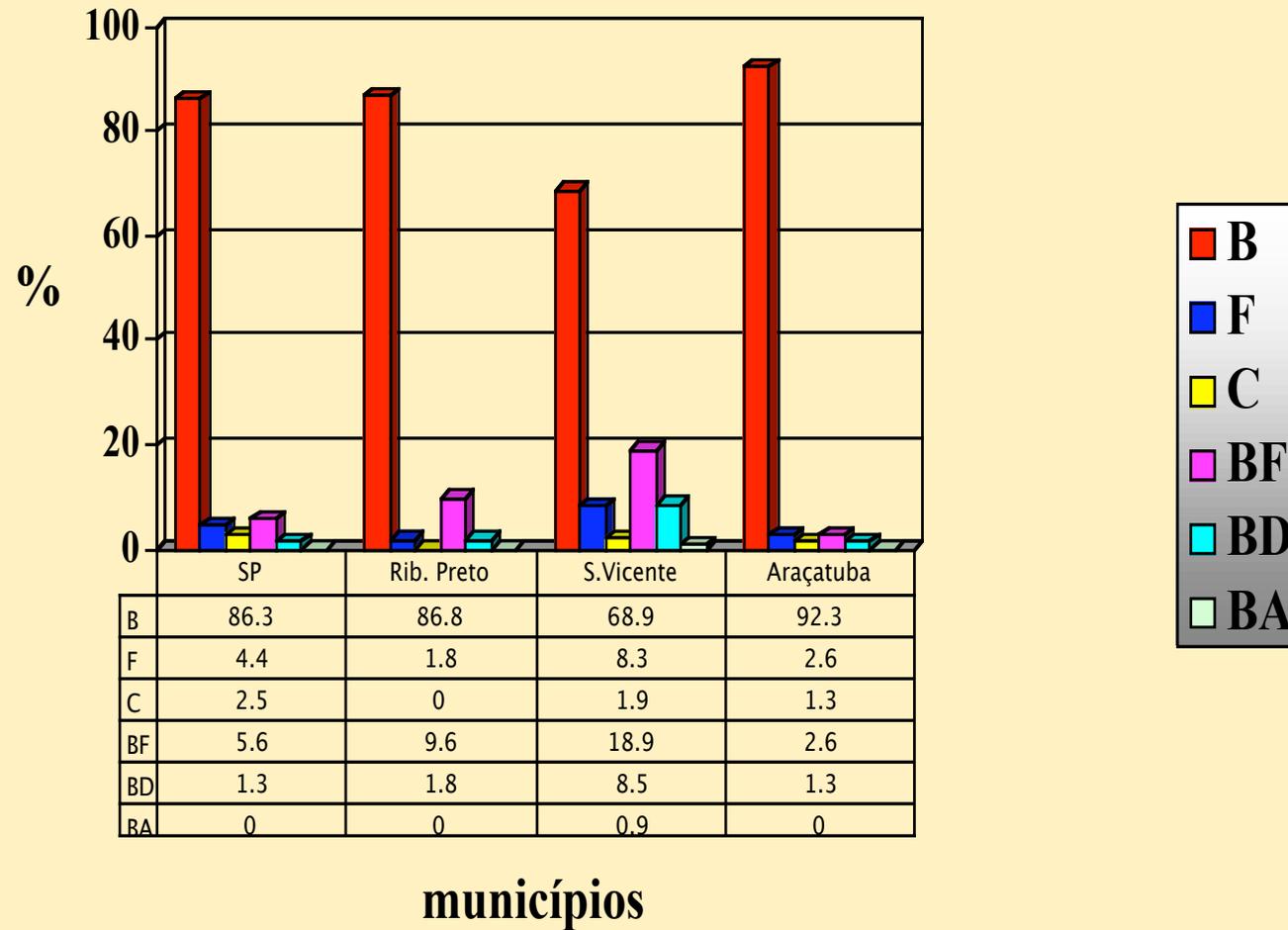
Diversidade Genética do HIV-1

($q=2Nem$)

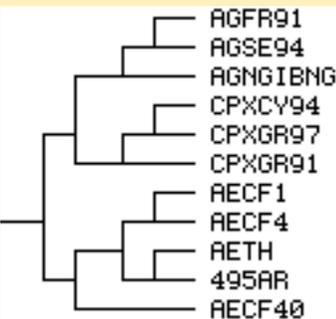
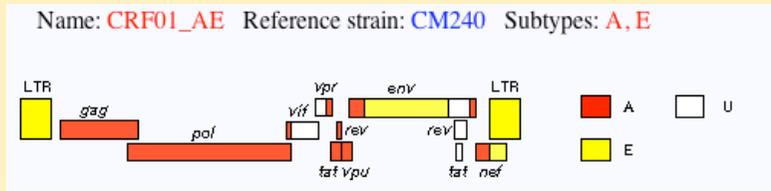
Tabela. Diversidade genética de subtipos do HIV-1 da VGDN. As amostras de PR/RT e *gag* foram comparadas a sequências da América do Sul de São Paulo (Fleury) e da Argentina FUNDAI.

PR/RT	Teta ($\theta = 2Ne\mu$)	Tagima D	Taxa
Todas sequencias	0.0726 ± 0.0043	-2.649	807
ArgBrCRF BF	0.0590 ± 0.0041	-2.165	128
BrCRF BF	0.0588 ± 0.0040	-1.606	63
ArgCRF BF	0.0590 ± 0.0043	-2.137	65
Subtipo F	0.0673 ± 0.0046	-1.514	30
Subtipo C	0.0418 ± 0.0041	-1.112	9
Todas subtype B	0.0610 ± 0.0034	-2.654	622
Argentina B	0.0692 ± 0.0042	-2.282	83
Fleury B	0.0517 ± 0.0034	-2.699	196
RP B	0.0582 ± 0.0037	-1.543	75
AR B	0.0564 ± 0.0035	-1.737	100
SP B	0.0664 ± 0.0038	-1.578	88
SV B	0.0678 ± 0.0043	-1.737	80
BD	0.0827 ± 0.0054	-1.184	16
<i>gag</i>			
	Teta ($\theta = 2Ne\mu$)	Tagima D	Taxa
AllSequences	0.1327 ± 0.0092	-7.401	209
BD	0.0871 ± 0.0102	-5.019	7
CRF	0.1123 ± 0.0101	-7.885	16
Subtipo F	0.1345 ± 0.0225	-	2
Subtipo C	0.1141 ± 0.0141	-3.528	4
Todas subtipo B	0.1231 ± 0.009	-8.953	179
AR B	0.1129 ± 0.0083	-1.097	73
SV B	0.1274 ± 0.0090	-9.772	68
Presidio B	0.1242 ± 0.0096	-9.172	38

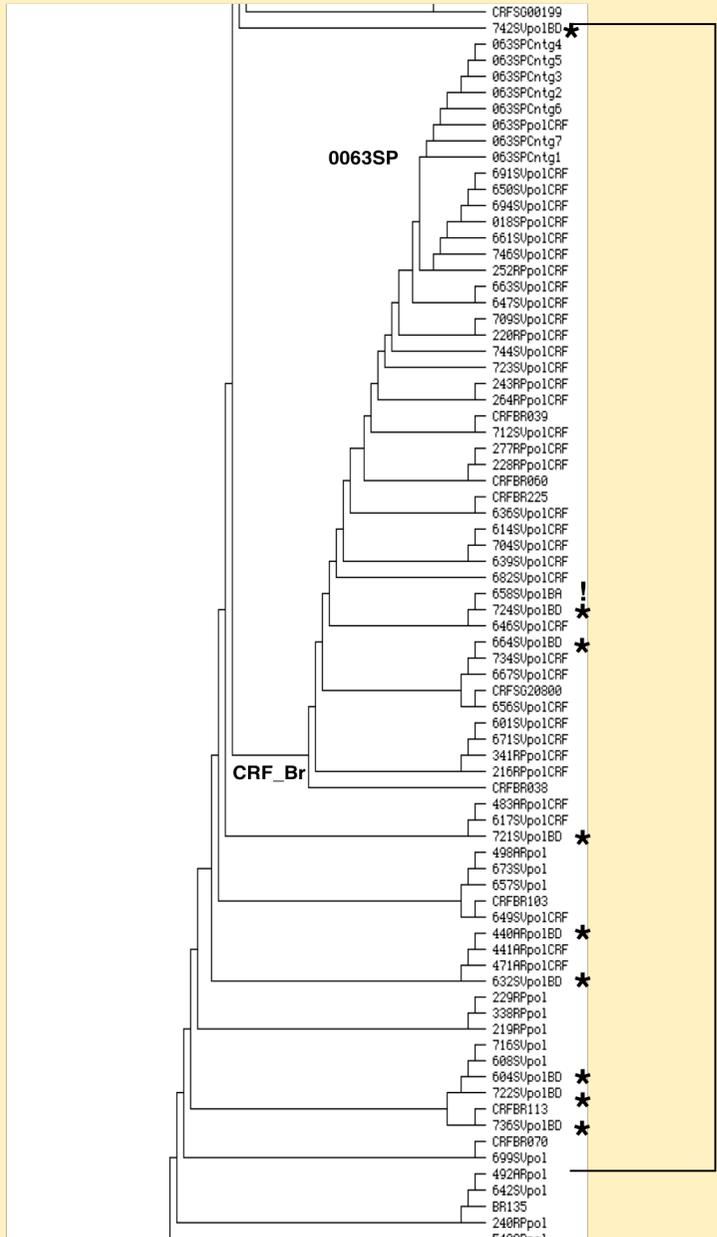
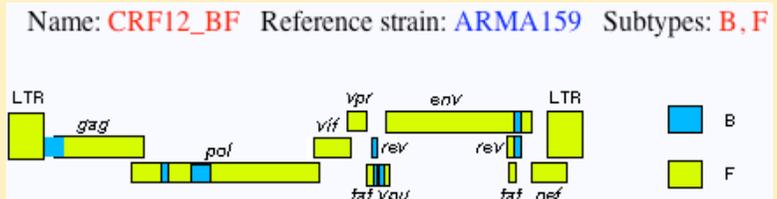
Distribuição dos subtipos, de acordo com município. Estado de São Paulo, 2001-2003.



Recombinantes: B, F, D & A em São Paulo



A) Clade para o gene *gag* do CRF_01 (circulante na Ásia) incluindo a amostra 495AR de Araçatuba.



B) Parte da genealogia global para 912 taxons, com recombinantes B/F do Brasil (CRF_Br) aonde a maior concentração de recombinações com D (*) e A (!) estão ocorrendo.

Clusters Epidemiológicos

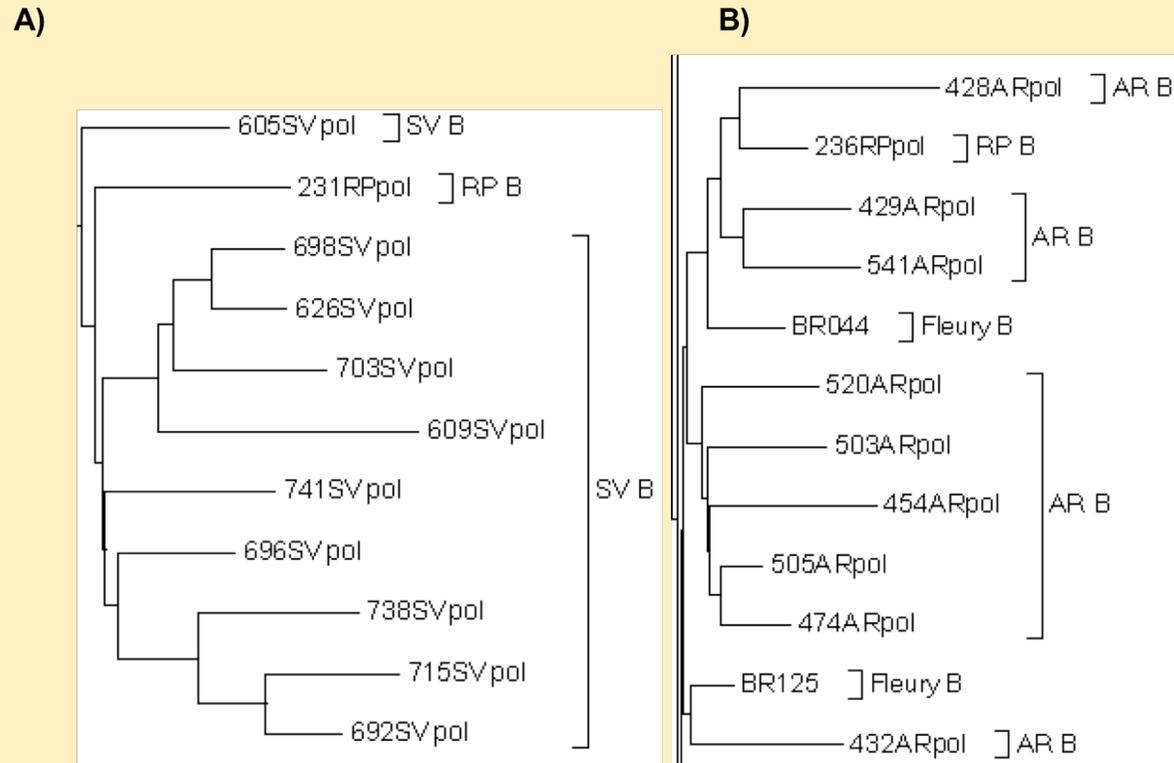


Figura. Malhas de transmissão observadas na filogenia global. **A)** Cluster unido pelo menos 10 pacientes em São Vicente. Dado o padrão de adjacência a amostra 231RPpol pode indicar um evento de migração para Ribeirão Preto. **B)** Cluster unido pelo menos 9 pacientes em Araçatuba. Linhagens mais antigas (Fleury) ligam estes clusters a uma possível malha de transmissão mais antiga em São Paulo que inclui BR125 e BR044 colhidos 4 anos antes.

Clusters epidemiológicos, ou contaminação?

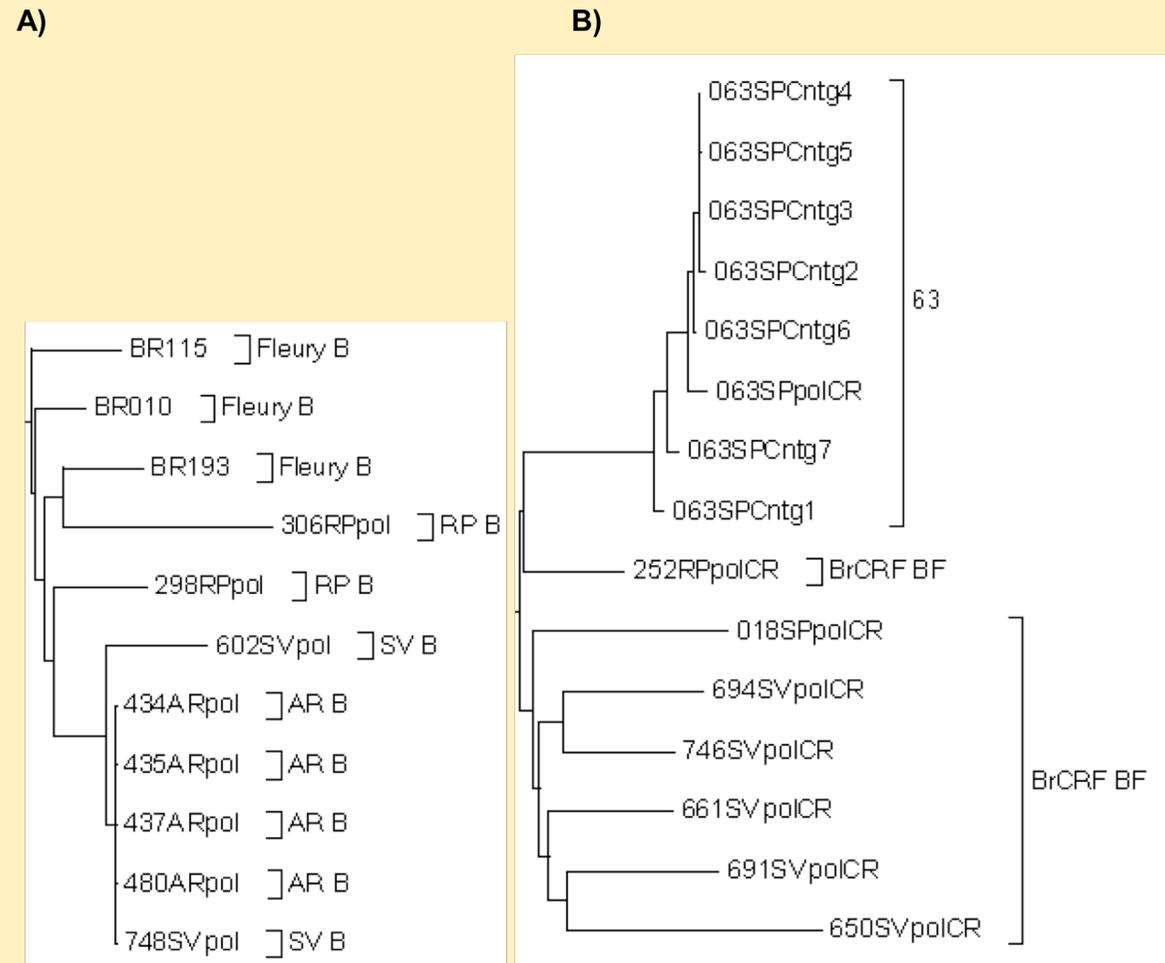
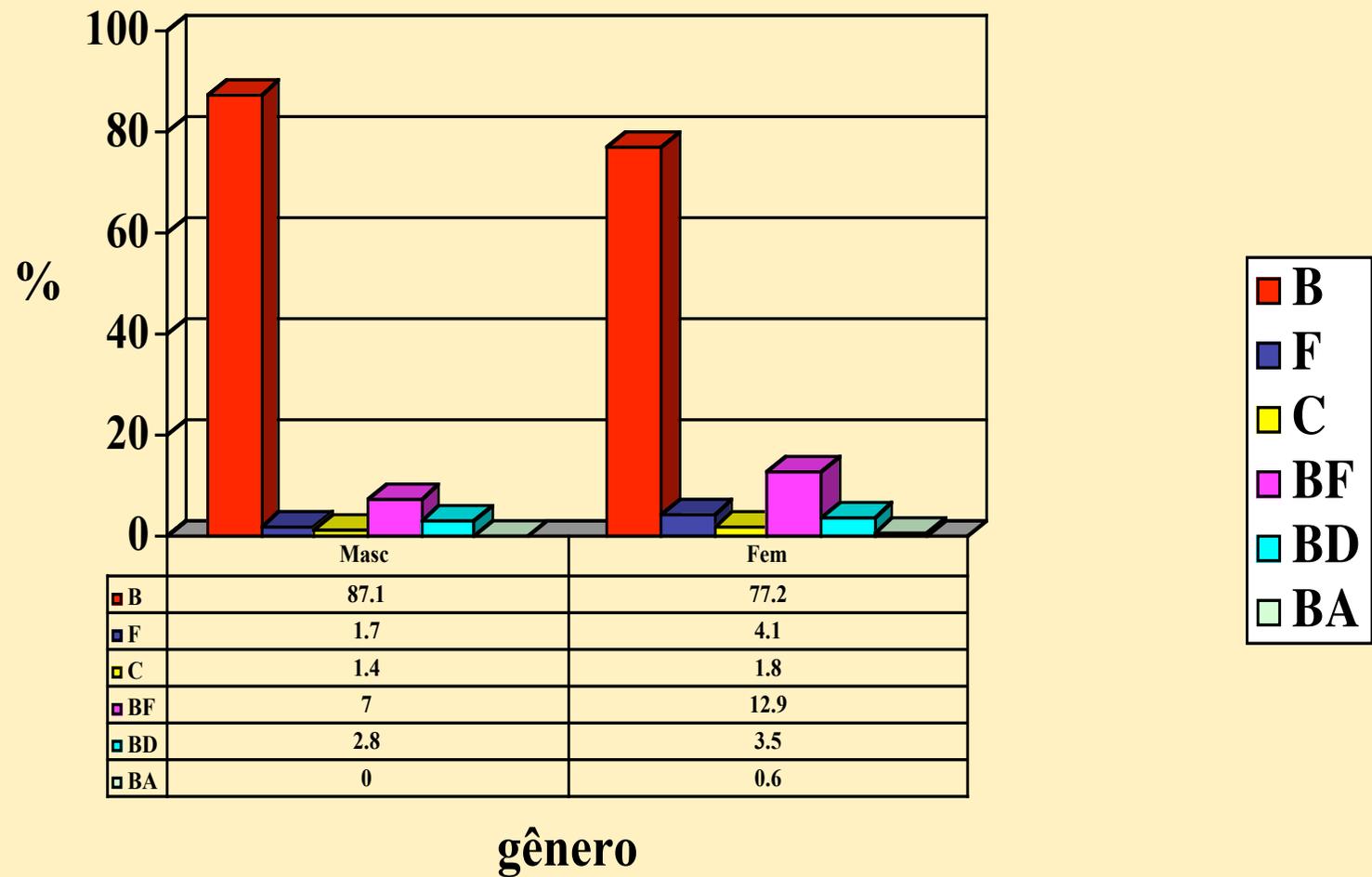
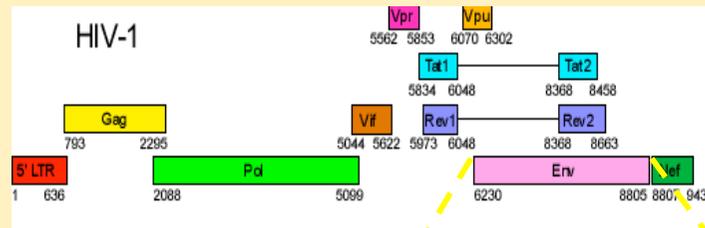


Figura. Clade em **A)** contendo uma politomia de ampla distribuição geográfica, indicativa de transmissão muito recente ou contaminação de amostras durante o processamento laboratorial, o que é sugerido em **B)** onde pode ser observada uma maior diversidade entre diferentes provírus de um mesmo paciente (063SP) que entre os isolados politômicos.

Distribuição dos subtipos, de acordo com gênero. Estado de São Paulo, 2002.



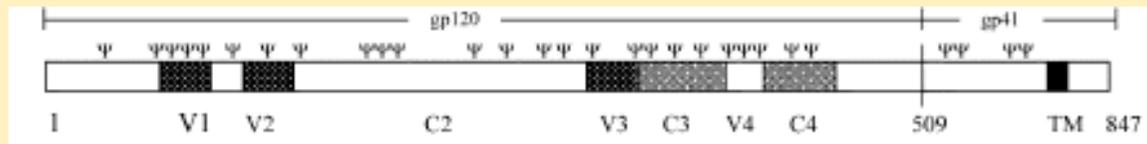
Indução de Sincício (Fenótipos NSI & SI)



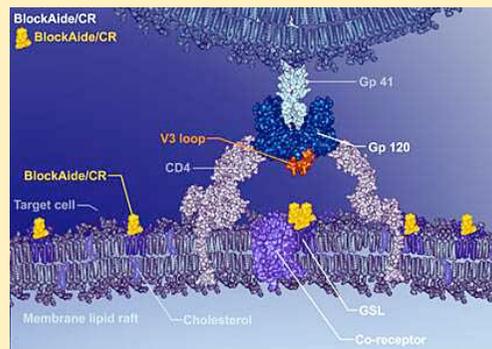
```

http://200.145.131.47/cgi-bin/si_ns_pl - Microsoft Internet Explorer
Arquivo  Editar  Exibir  Favoritos  Ferramentas  Ajuda
Endereço http://200.145.131.47/cgi-bin/si_ns_pl

>949 CTRPNNNTRKSIHTAWGRTFYATGEIIGDIRQAHC : SI
>802 CTRPNNNTRKSIHMGWGRAFYATGEIGNIRQAYC : SI
>803 CTRPGNNTRKSIHIGPGRAFYATGDIIGDIRKAHC : SI
>804 CTRPNNNTRKSIHLGWGRAFYATGRIIGDIRQAYC : SI
>805 CTRPSNNTRKSIHTGFGRALYATGEIGNIRQAHC : SI
>806 CTRPNNNTRKSIHLGWGRAFYATGEIGNIRQAHC : SI
>809 CTRPNNNTRKSIPIGPGRAFYATGDIIGDIRQAHC : SI
>810 CTRPGNNTRKSIPIGPRAWYATGDIIGDIRRAHC : SI
>811 CTRPGNHRKSIHLGMGRALYTHGEIGNIRQAHC : SI
>812 CTRPGNNTRKSIHLGFRTRYANGDIIGDIRQAHC : SI
>813 CTRPNNNTRKSIHAPGRTFYATGEIIGDIRQAHC : SI
>814 CTRPNNNTRKSIHLGWGRAFYATGEITGDIRQAHC : SI
>815 CTRPNNNTRKSIHLGWGRAFYATGDIIGDIRQAHC : SI
>817 CTRPNNNTRKSIHMGWGRALYATGQIIGDIRQAHC : SI
>818 CTRPGNNTRKSIHIGPGRAFYATGEIIGDIRQAHC : SI
>820 CTRPGNNTRKSIHMGWGRAFYATGDIIGNIRKAHC : SI
>824 CTRPNNNTRKGLNIGPRAVYAPGEVIGDIRKAYC : SI
>825 CTRPSNNTRKSIHLGLRAYATGEIIGDIRQAHC : SI
>826 CTRPNNNTRKSIHMGPGAMFATGEIGNIRQAHC : SI
>827 CTRPNNNTRKSIHMGPKAFYVTGDIIGDIRKASC : SI
>828 CTRPNNNTRKSIHMGPKAFYVTGDIIGDIRQAHC : SI
    
```



CTRPNNNTRKSIHIGPGRAFYTTGEIIGDIRQAHC

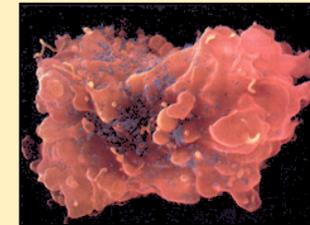


Fenótipos NSI & SI: Doença e Subtipo de HIV-1

	Fenótipo viral	
	SI	NSI
Aids	49	30
Assintomáticos	16	26

$\chi^2 = 6.316, p < 0.025$

Fisher, $p = 0.0067$

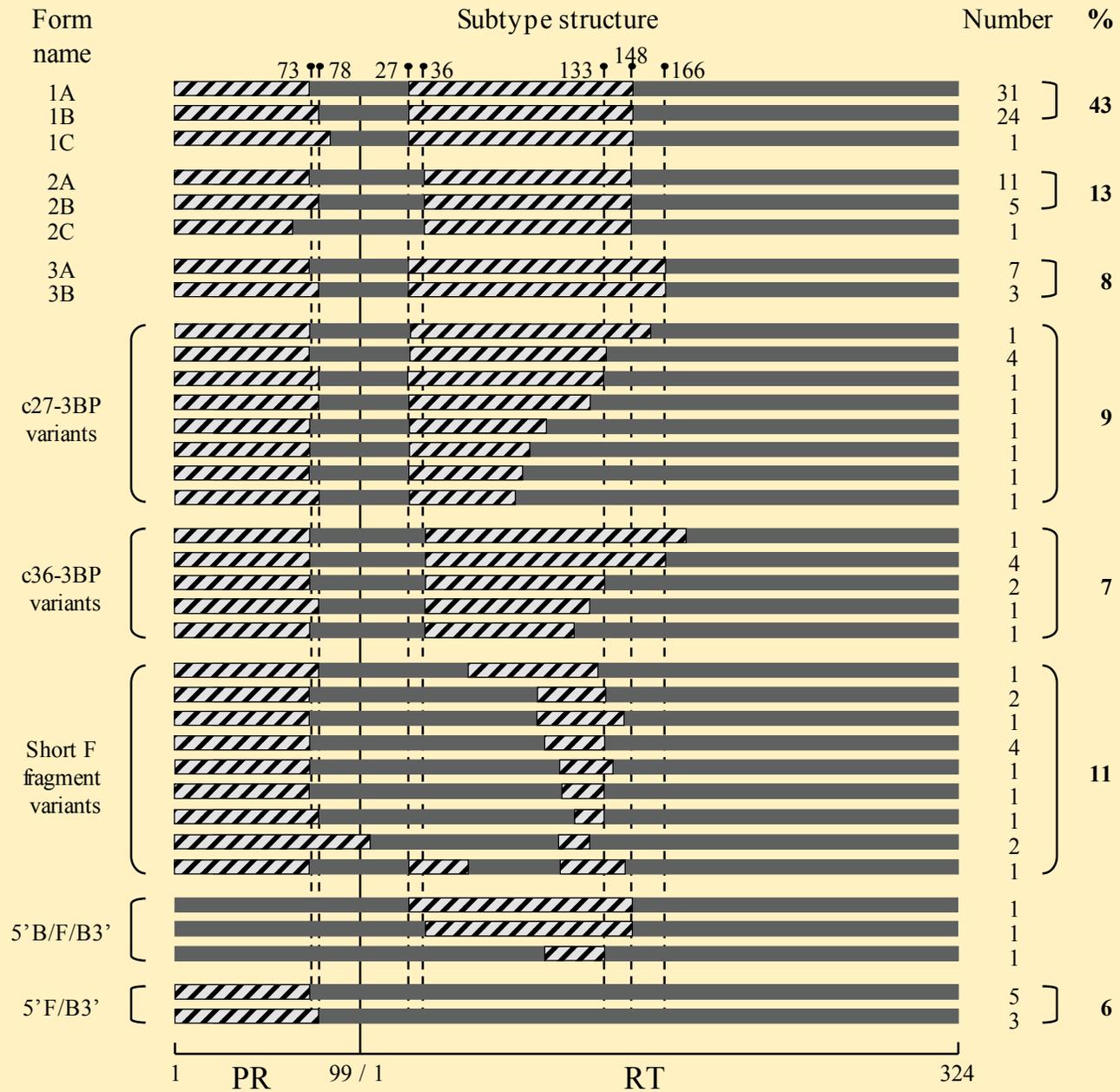


	Fenótipo viral	
	SI	NSI
Subtipo B	161	357
Subtipo F	70	7

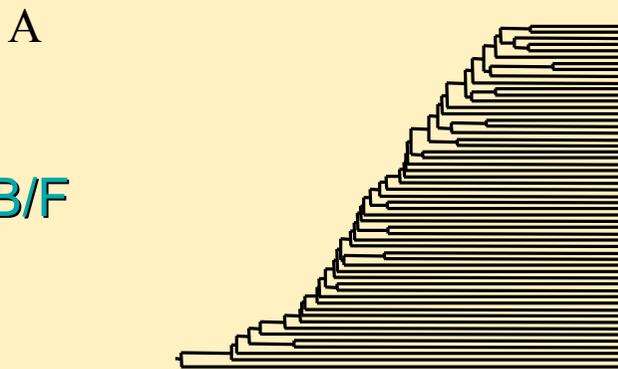
$\chi^2 = 101.026, p < 0.001$

Fisher, $p = 0$

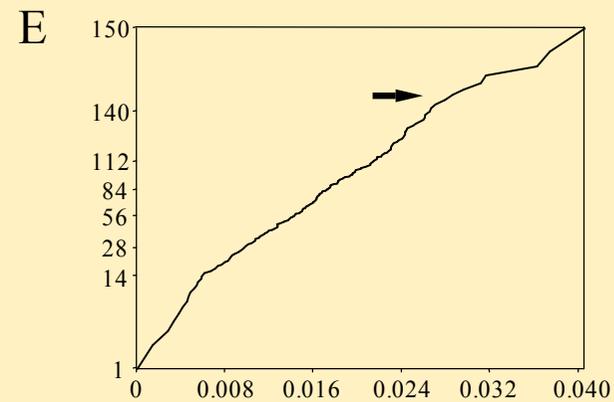
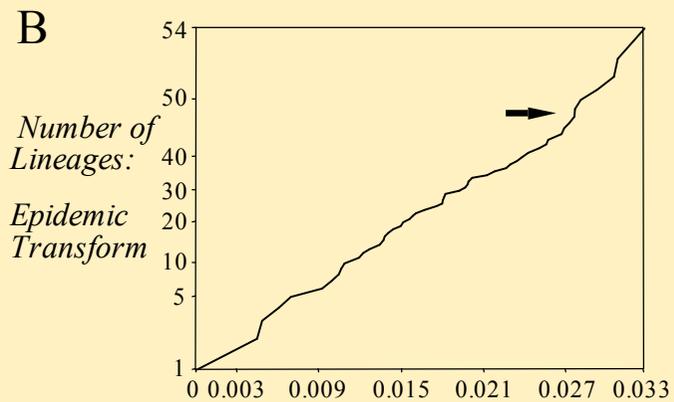
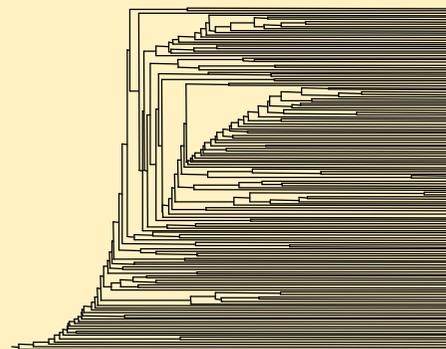
HIV-1: CRF - (B & F) Argentina



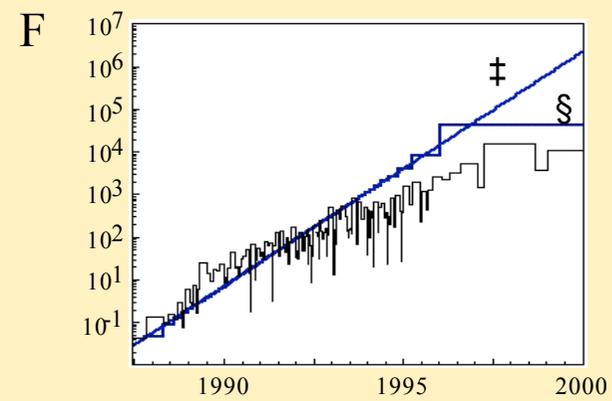
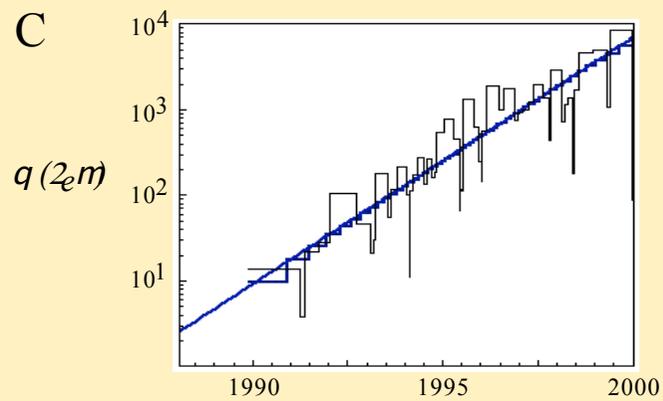
CRF - B/F



Subtype B



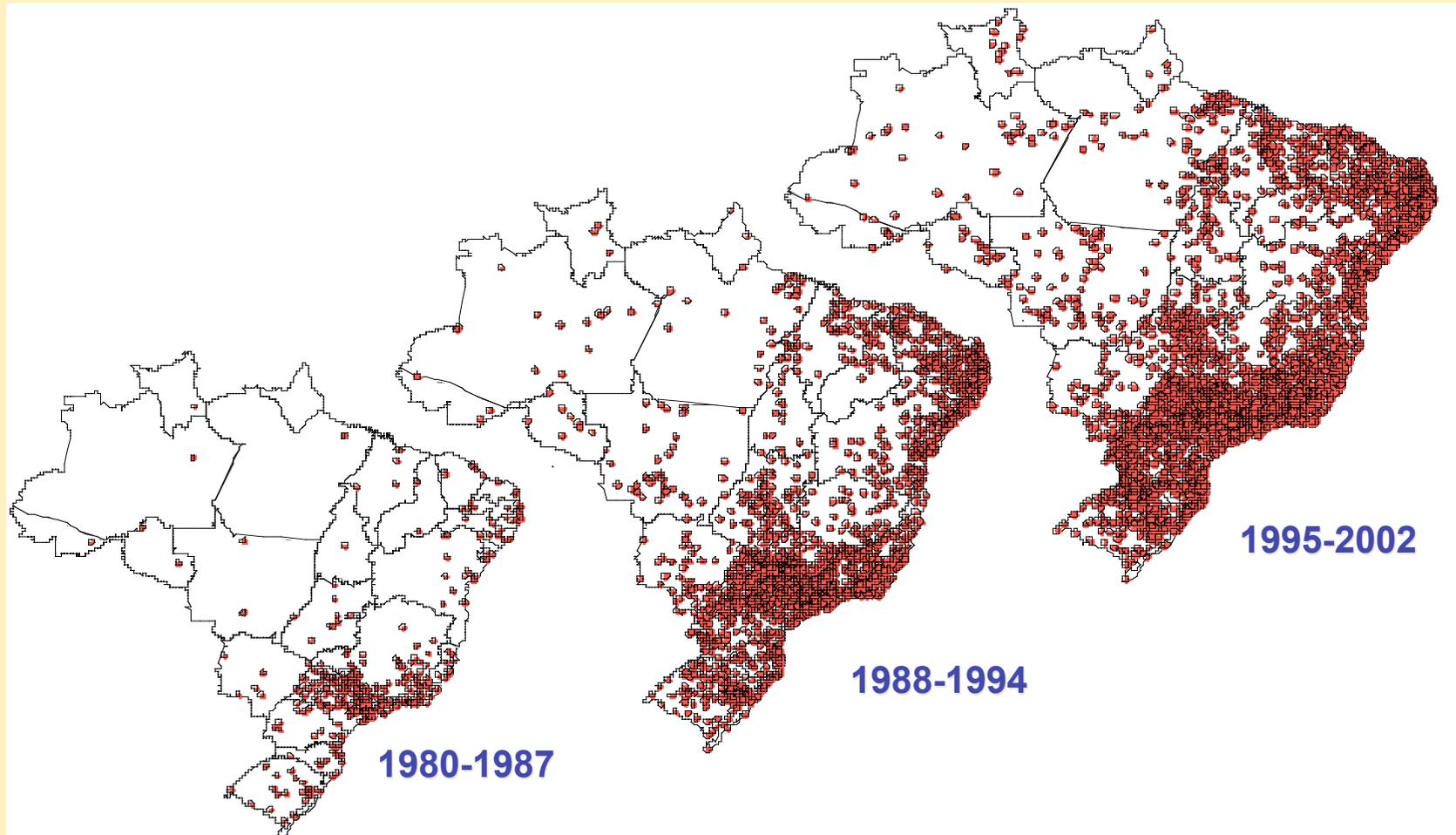
Time (substitutions per site)



Time (years)

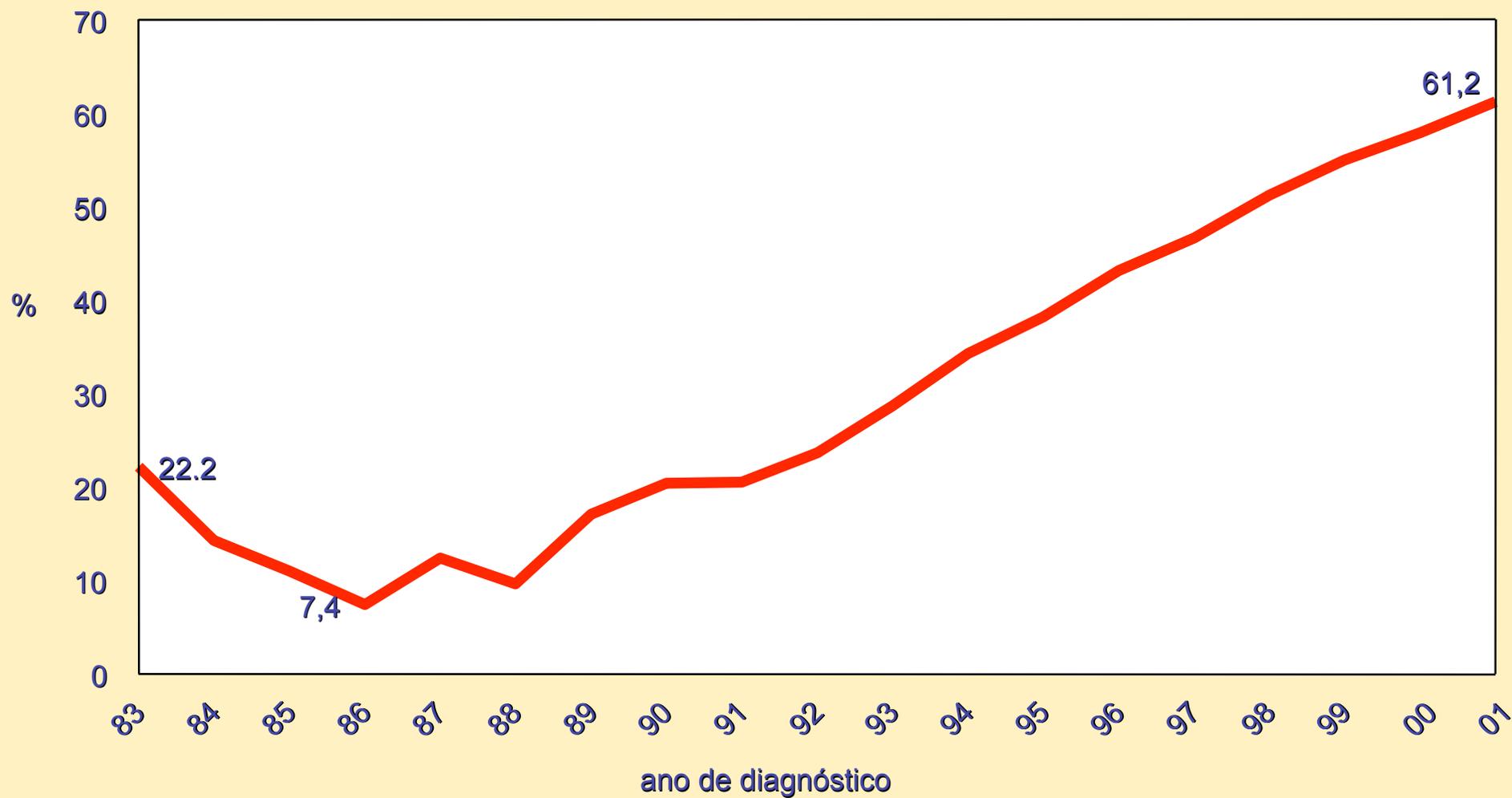
Interiorização

Distribuição espacial de municípios com ao menos um caso de aids. Brasil, 1980 - 2002.



Heterossexualização

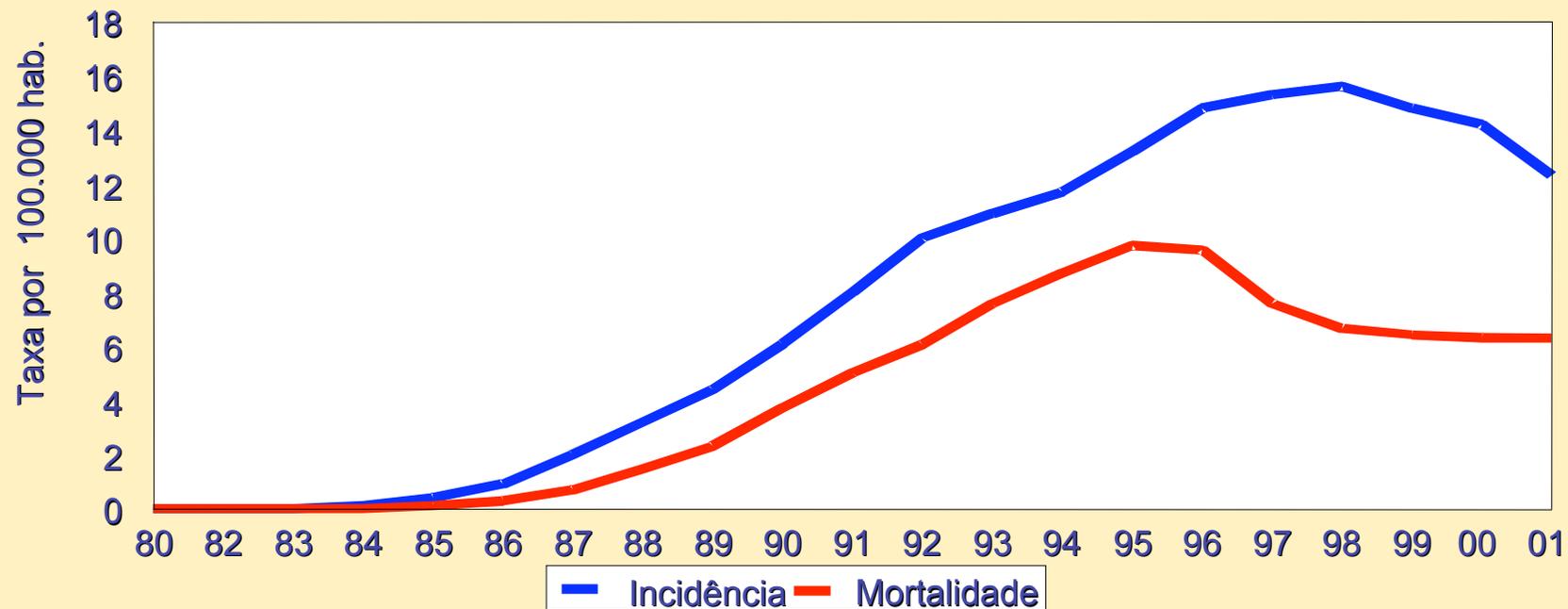
Percentual de casos de aids em heterossexuais,
segundo ano de diagnóstico. Brasil, 1983 - 2001



Fonte: PN DST e AIDS – SVS - MS.

Estabilização das taxas de incidência e mortalidade

Taxas de incidência e mortalidade por aids
(por 100.000 hab.). Brasil, 1980 - 2001.

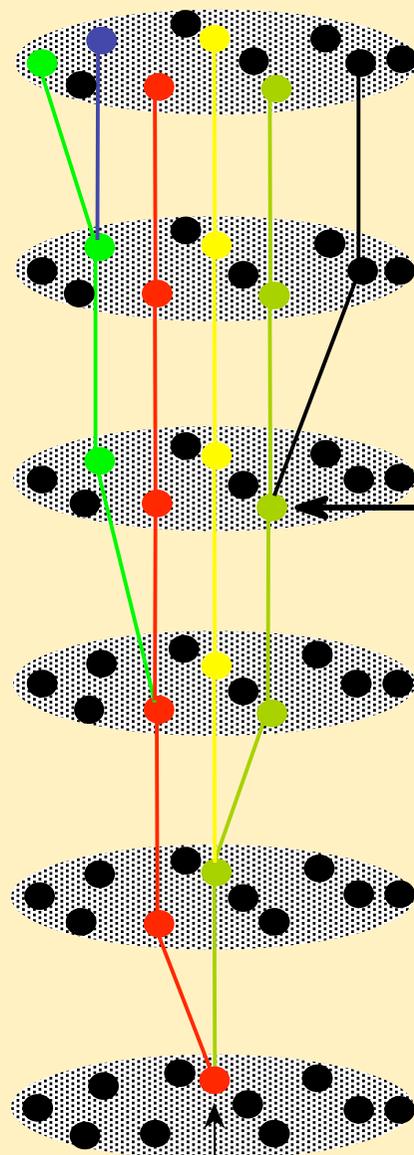


Incidência estimada de 1999 a 2001
Fonte: PN DST/AIDS - SVS - MS

The Coalescent (genetic drift running backwards)

Present day sample
of sequences

Small sample
of sequences



Coalescent event

Time back to MRCA
 $\sim 2N$ generations
(haploids)

Most Recent Common Ancestor
(MRCA)

Demographic Histories are Recorded in the Shapes of Gene Genealogies

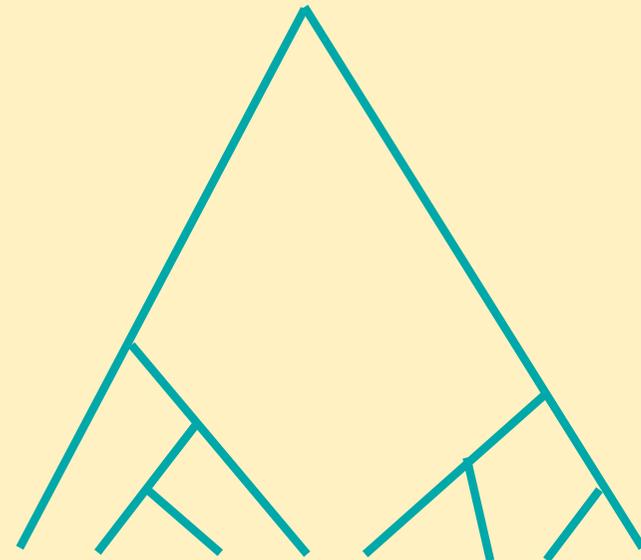
Small N



Big N



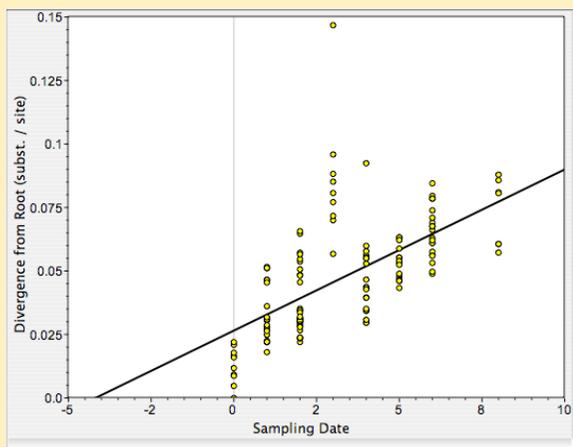
Exponential
growth



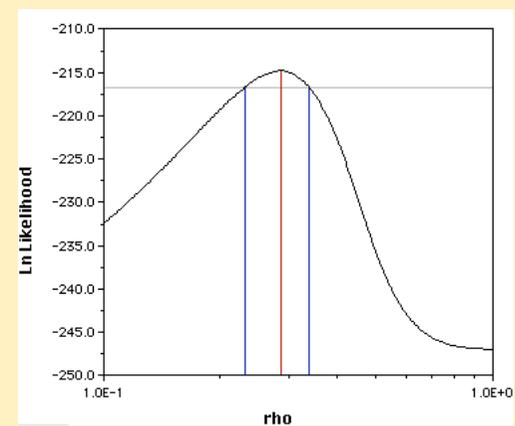
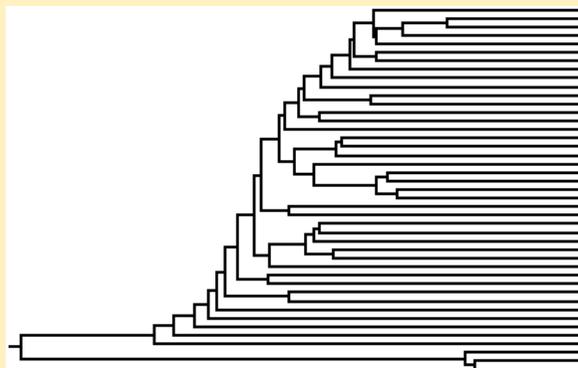
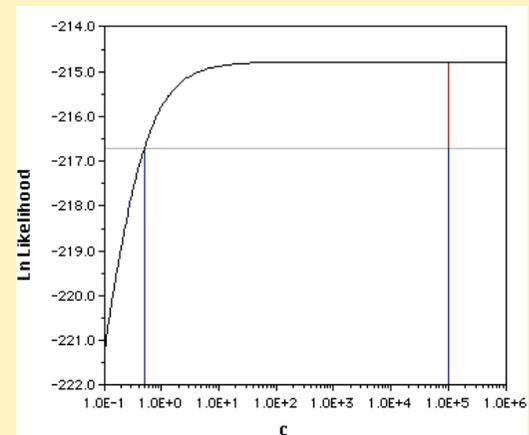
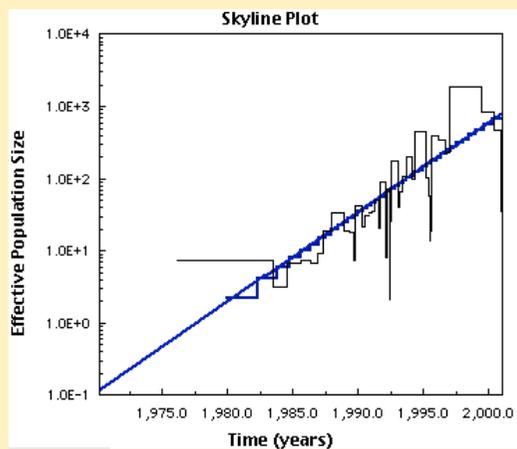
Constant size

- The coalescent can be used to convert coalescent times into knowledge about population size and its change through time.

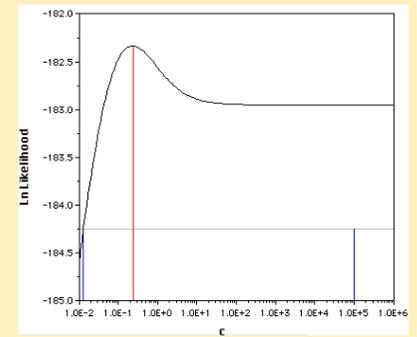
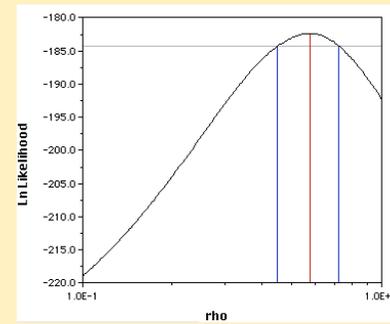
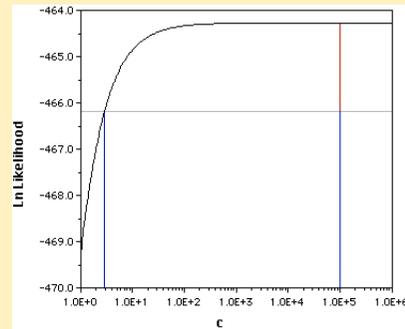
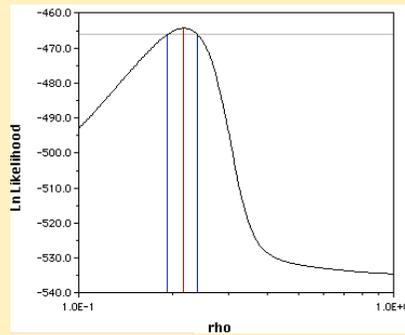
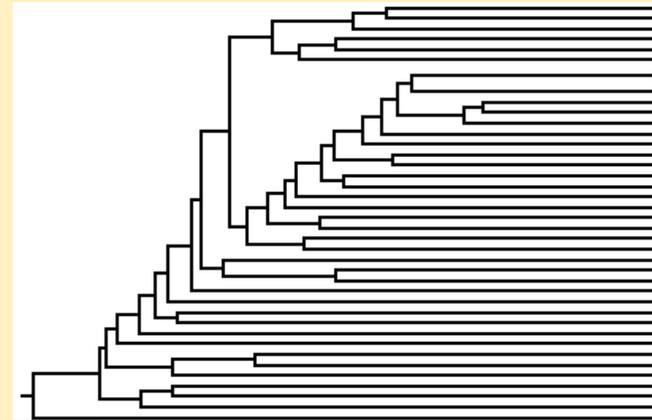
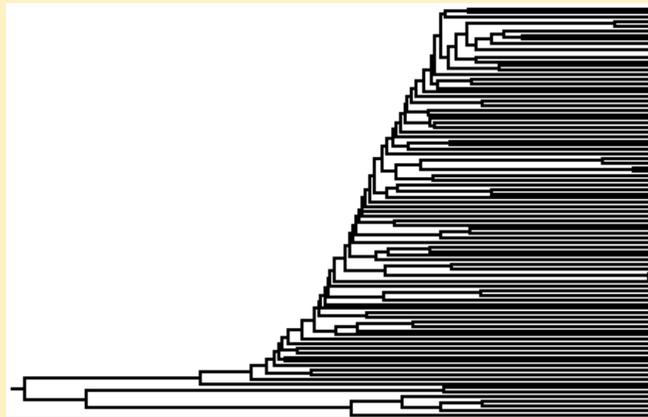
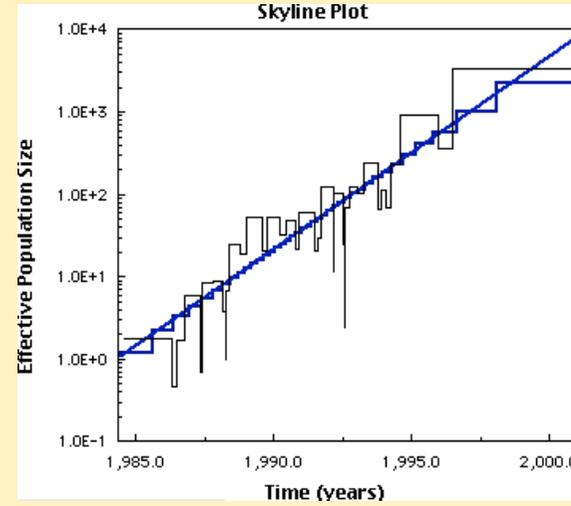
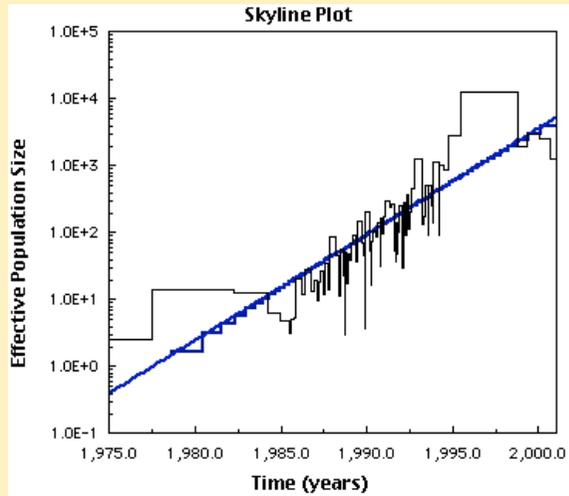
Filodinâmica do HIV-1 em São Paulo em 1998/99 (BMS)



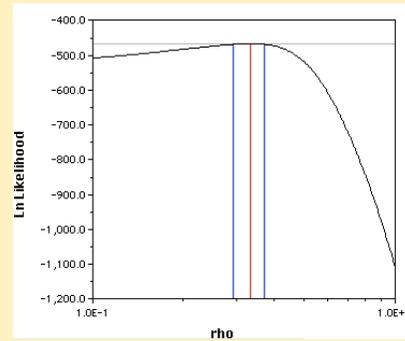
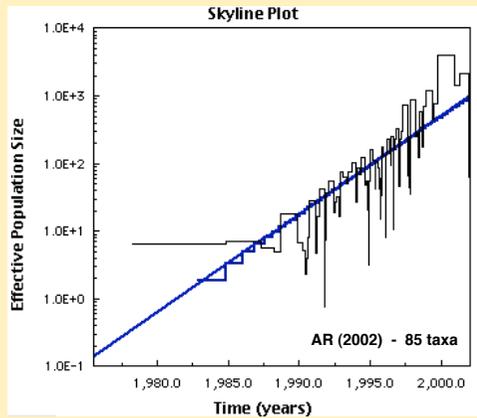
Rate estimate = 6.3458E-3
MRCA Date estimate = -4.2
R squared = 0.4093



Filodinâmica do HIV-1 em São Paulo em 2001/2 (VGDN - Piloto)



Filodinâmica do HIV-1 em São Paulo em 2003/4 (VGDN - 1ª Tarefa)



Araçatuba VGDN					
	ln L	AICc	theta	rho	c
Constant:	-45.3657	-46.3901	342.439		
Exponential:	57.2245	55.1505	3358.35	0.350988	
Logistic:	57.2245	54.0745	3358.35	0.350988	3.33638E+13

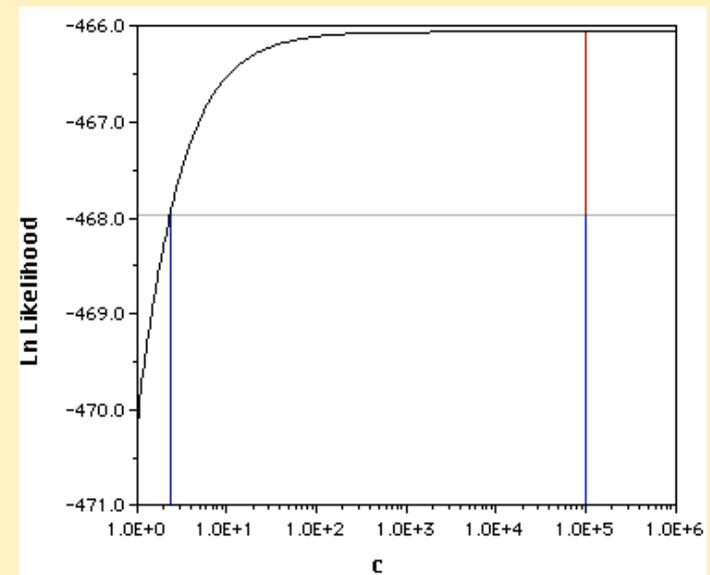
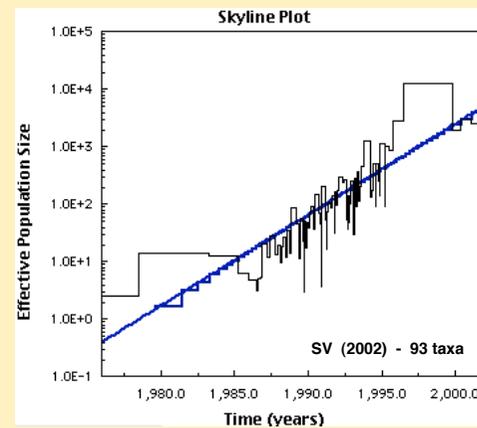
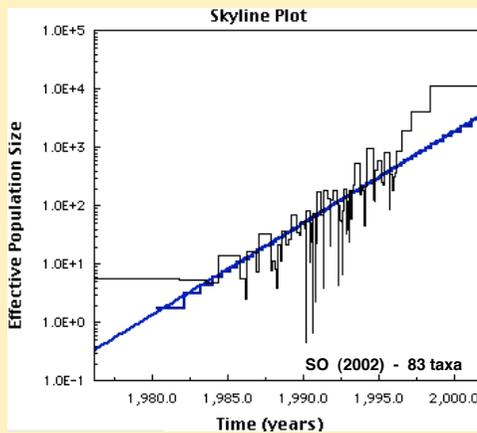
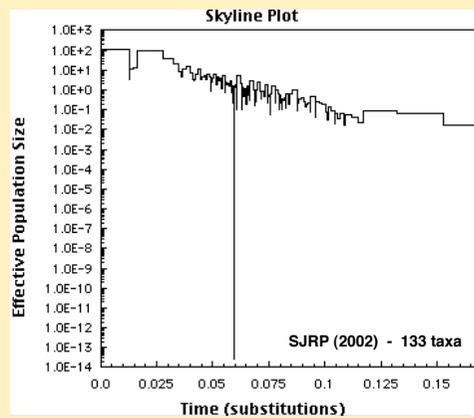
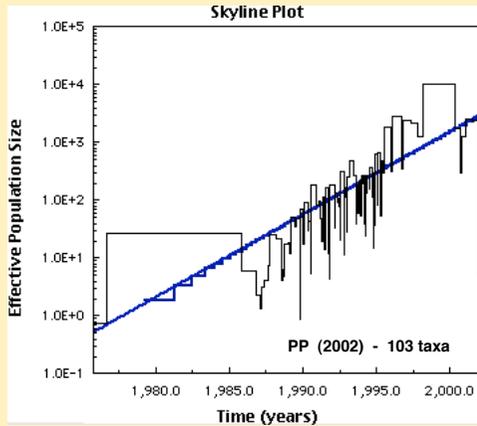
São Vicente VGDN					
	ln L	AICc	theta	rho	c
Constant:	-47.3325	-48.3547	396.758		
Exponential:	66.4135	64.3461	5554.32	0.364277	
Logistic:	66.4135	63.2772	5554.32	0.364277	2.23829E+12

Botucatu VGDN					
	ln L	AICc	theta	rho	c
Constant:	-41.1013	-42.1211	438.474		
Exponential:	78.8852	76.8252	7116.9	0.366024	
Logistic:	79.1676	76.0464	4710.12	0.376438	1.30848

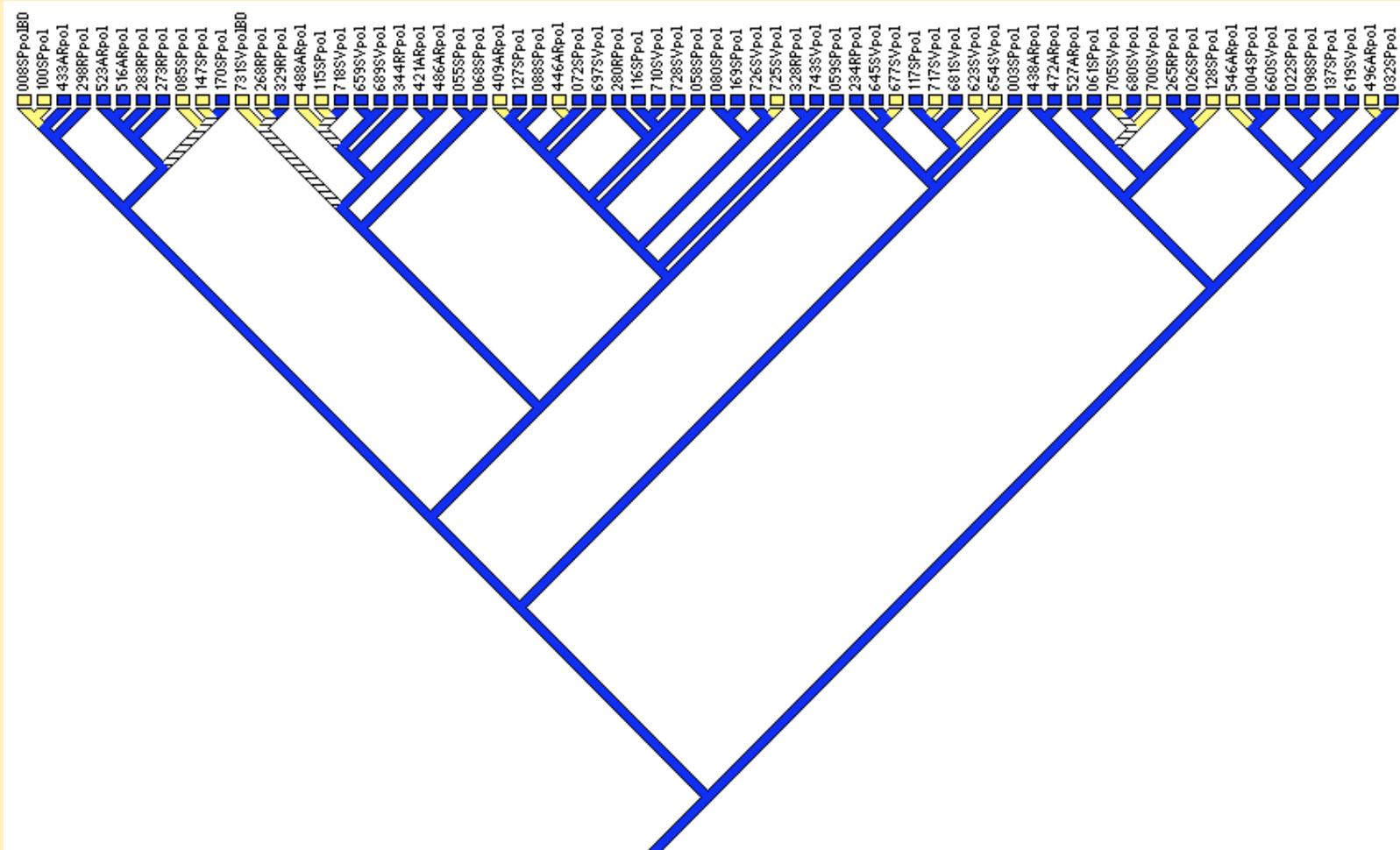
Prudente VGDN					
	ln L	AICc	theta	rho	c
Constant:	-31.7435	-32.7635	394.187		
Exponential:	78.4683	76.4077	3381.6	0.330594	
Logistic:	78.4683	75.3458	3381.6	0.330594	4.87258E+28

S.J.R. Preto VGDN					
	ln L	AICc	theta	rho	c
Constant:	-29.6952	-30.7106	593.117		
Exponential:	147.316	145.27	10813.5	0.384146	
Logistic:	147.316	144.222	10813.5	0.384146	1.44005E+13

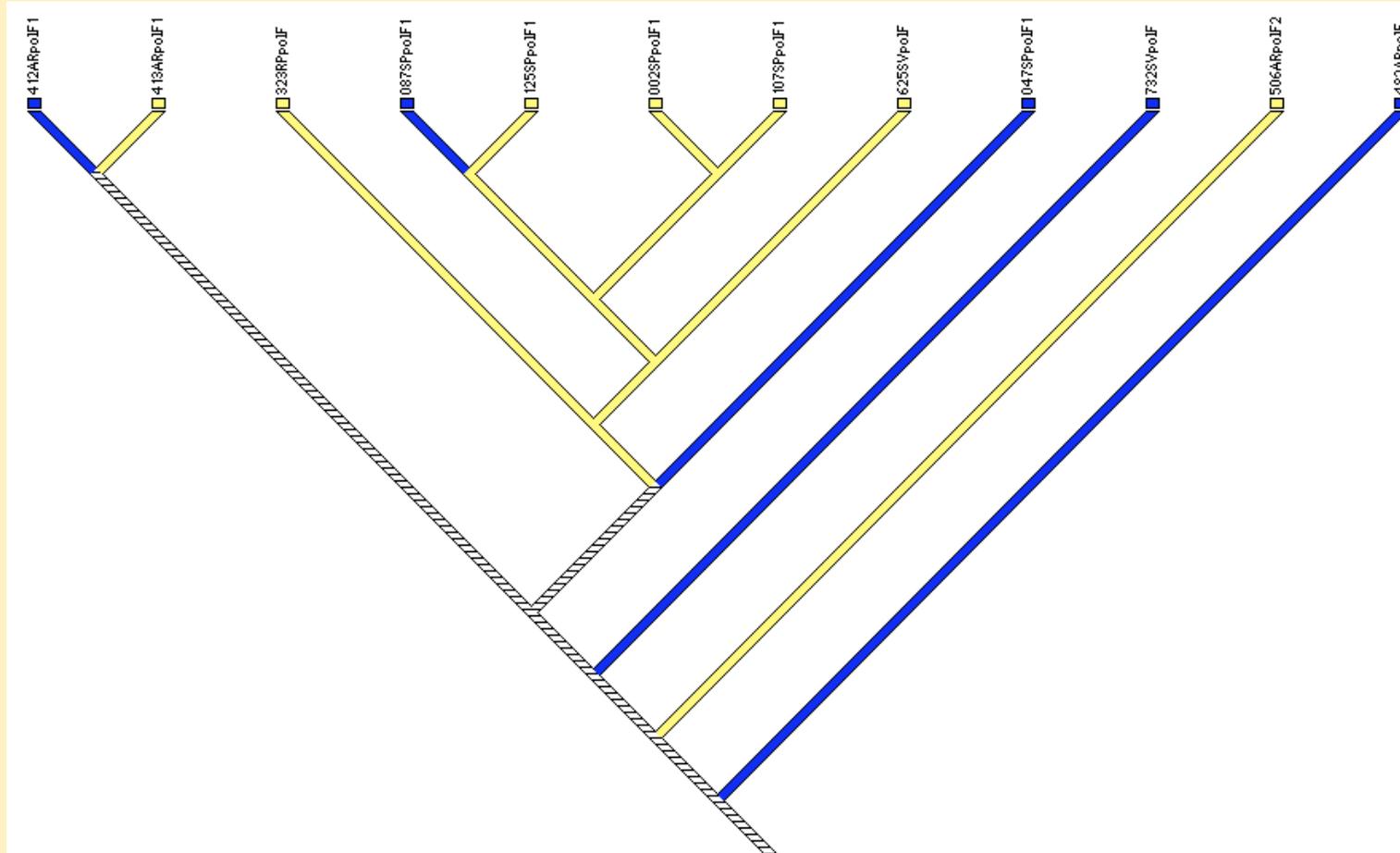
Sorocaba VGDN					
	ln L	AICc	theta	rho	c
Constant:	-47.8068	-48.8318	341.507		
Exponential:	52.6724	50.5965	4206.63	0.362273	
Logistic:	52.6724	49.5186	4206.63	0.362273	1.34941E+13



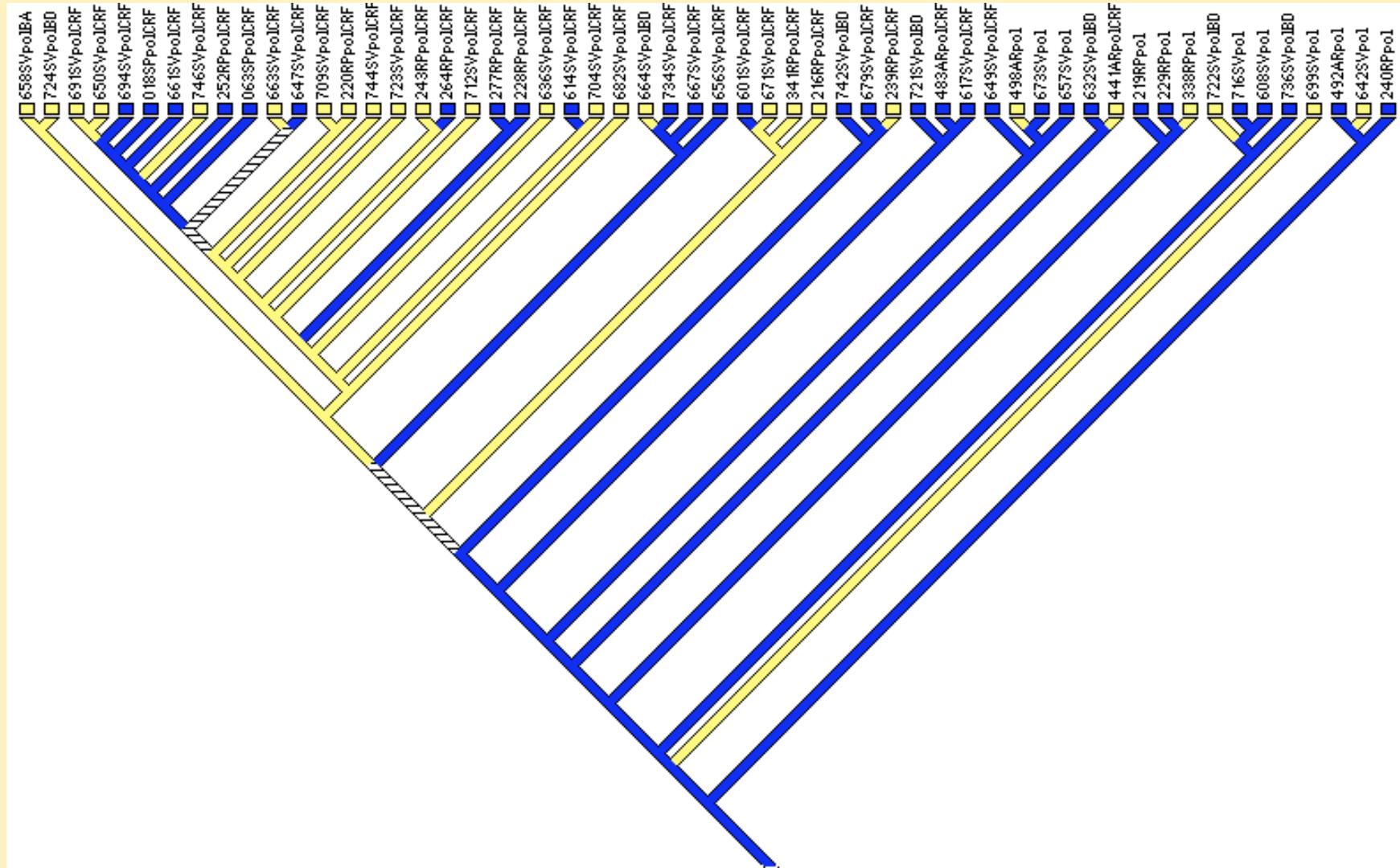
Transmissão Heterossexual do Subtipo B



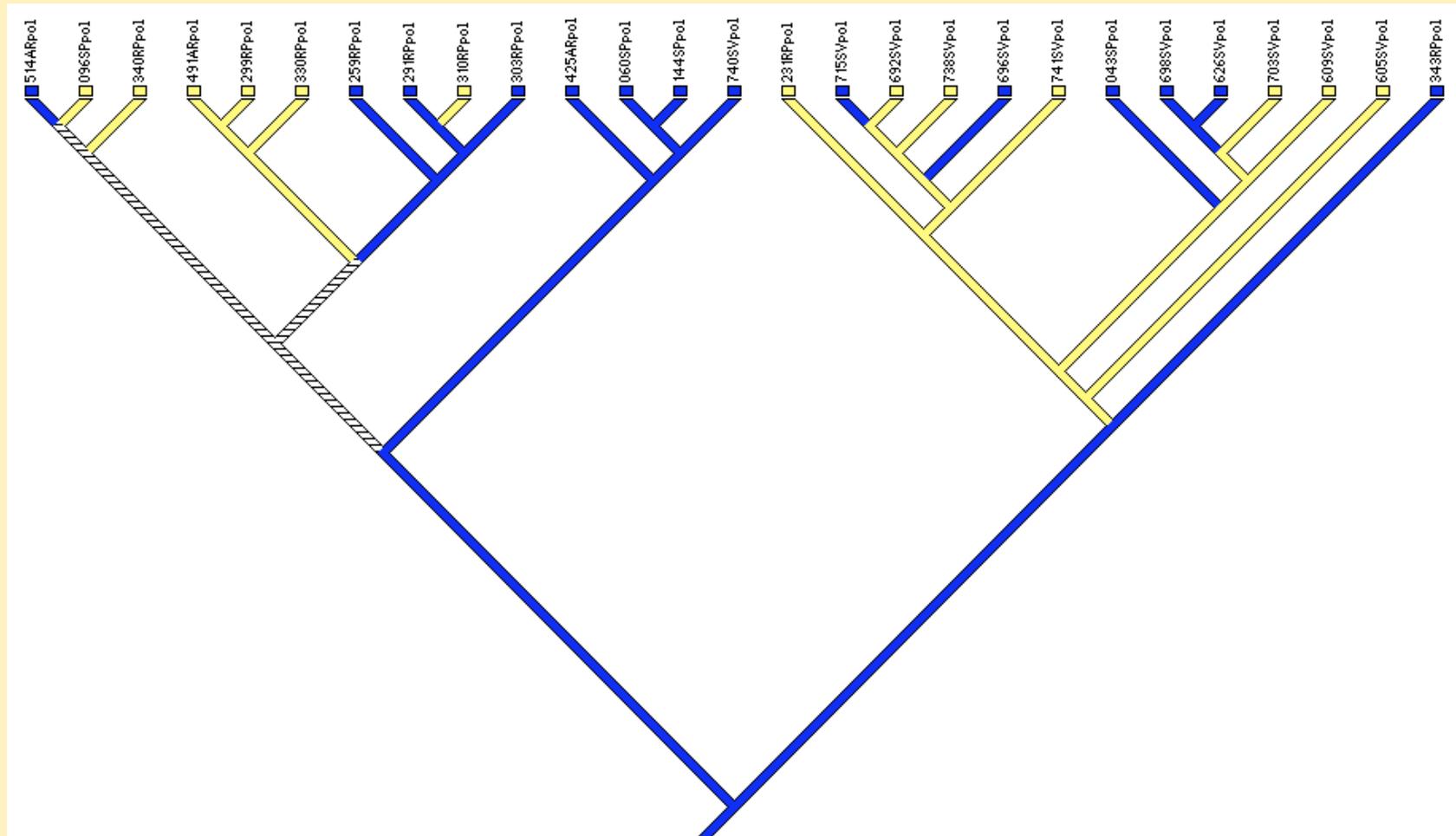
Transmissão Heterossexual do Subtipo F



Transmissão Heterossexual de CRF_Br, BA e BD



Clusters c/ Transmissão Heterossexual do Subtipo B



Classificação do perfil de sensibilidade às drogas antiretrovirais, de acordo com resultado da genotipagem (mutações encontradas):

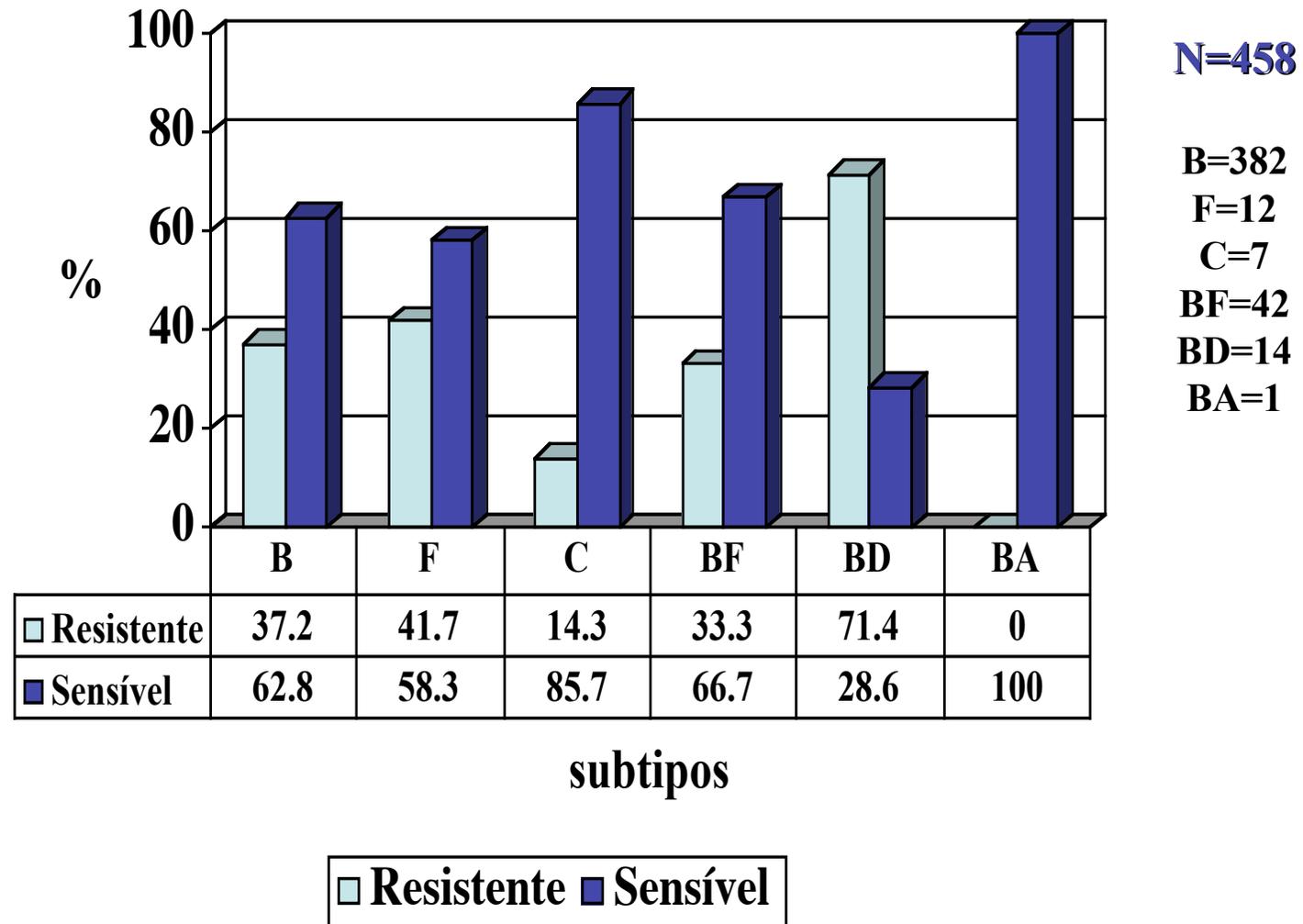
- 1) Sensível:**
 - sensível
 - possivelmente sensível

- 2) Resistente*:**
 - baixo grau de resistência
 - grau intermediário de resistência
 - alto grau de resistência

Distribuição dos casos com resistência aos ARV, de acordo com classe de drogas:

TIPO RESIST.	Freq.	%
ITR	109	62,6
IP	12	6,9
IP+ITRN	34	19,5
IP+ITRNN+ITRN	19	10,9
TOTAL	174	100,0

Perfil de Sensibilidade às drogas anti-retrovirais, de acordo com subtipo do HIV-1. Estado de São Paulo, 2001-2003

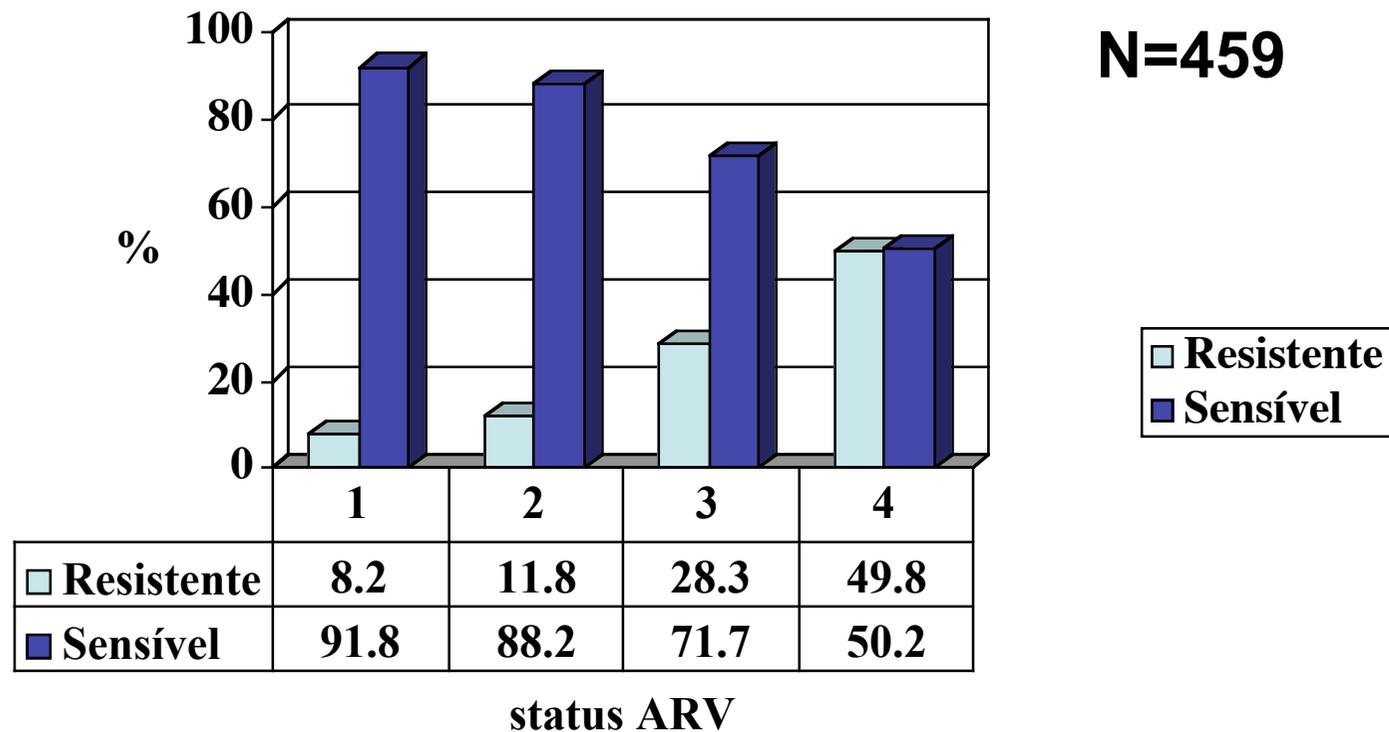


Distribuição dos casos com resultado de genotipagem, de acordo com uso de ARV:

Uso de ARV	PERFIL DE SENSIBILIDADE		
	Resist. *	Sensível	TOTAL
não usa e nunca usou	4	45	49
	8.2%	91.8%	10.7%
	2.3%	15.7%	
não usa mas já usou	4	30	34
	11.8%	88.2%	7.4%
	2.3%	10.5%	
usa e é seu 1º esquema	28	71	99
	28.3%	71.7%	21.5%
	16.1%	24.8%	
usa e já usou outros ant.	138	139	277
	49.8%	50.2%	60.2%
	79.3%	48.6%	
sem informação	0	1	1
	0.0%	100.0%	0.2%
total	174	286	460
	37.8%	62.2%	

* Resistência a uma ou mais drogas.

Perfil de sensibilidade às drogas anti-retrovirais, de acordo com uso de ARV:

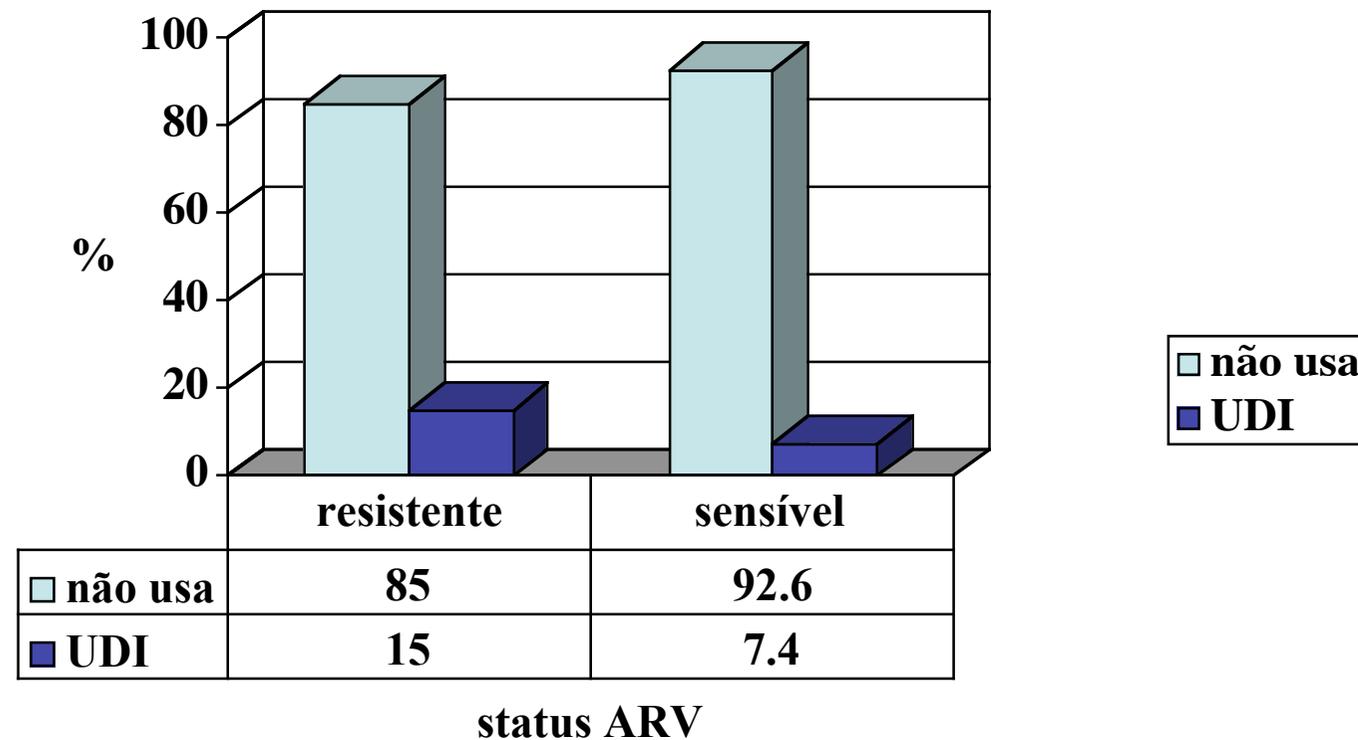


1=não usa e nunca usou
2= não usa porém já usou

3=usa e é primeiro esquema
4= usa e já usou outros esquemas anteriormente

Perfil de sensibilidade às drogas anti-retrovirais, de acordo com uso de droga injetável

N=457

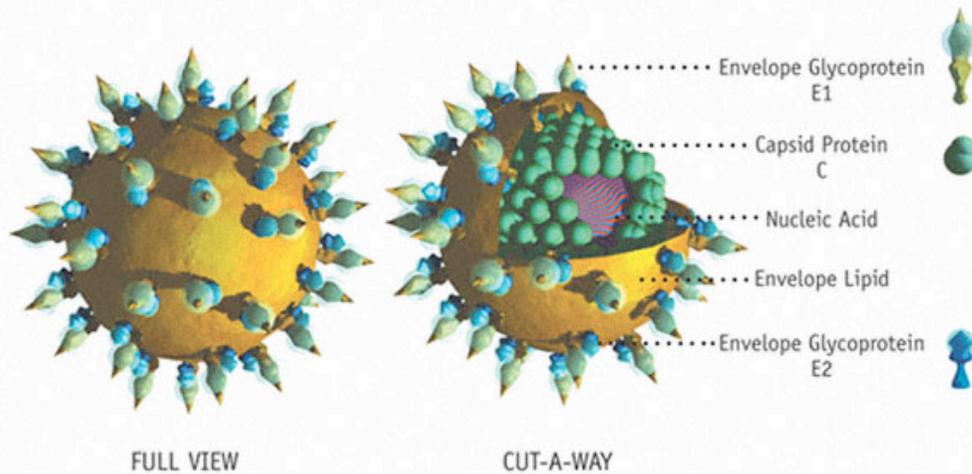


Perfil de sensibilidade às drogas anti-retrovirais, de acordo com uso de droga injetável

PERFIL	USO DE DROGA INJETÁVEL		Total
	SIM	NÃO	
RESISTENTE	26	147	173
	15.0%	85.0%	37.9%
	55.3%	35.9%	
SENSÍVEL	21	263	284
	7.4%	92.6%	62.1%
	44.7%	64.1%	
Total	47	410	457
	10.3%	89.7%	

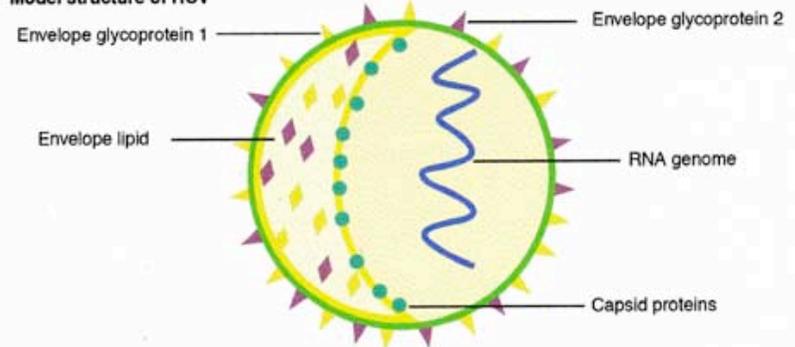
Hepatitis C Virus

MODEL OF THE HUMAN HEPATITIS C VIRUS

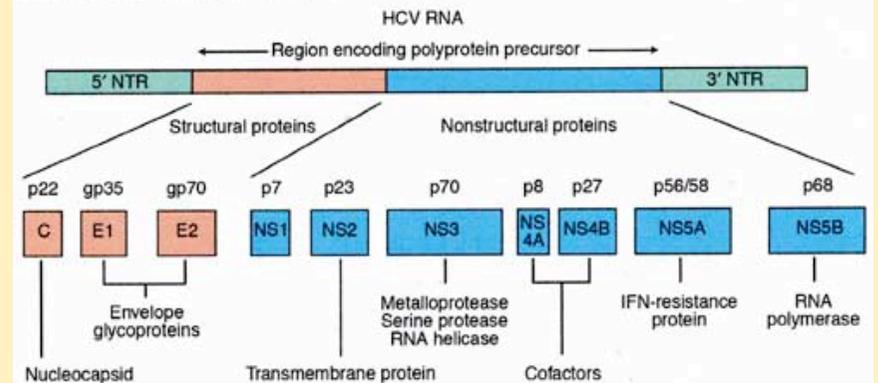


© Physicians' Research Network, Inc. All rights reserved.
 Published in The PRN Notebook, Volume 6, Number 1, March 2001 and The PRN Notebook Online at www.prn.org.
 Three-dimensional model of HCV created by Louis E. Henderson, Ph.D., Frederick Cancer Research Center.

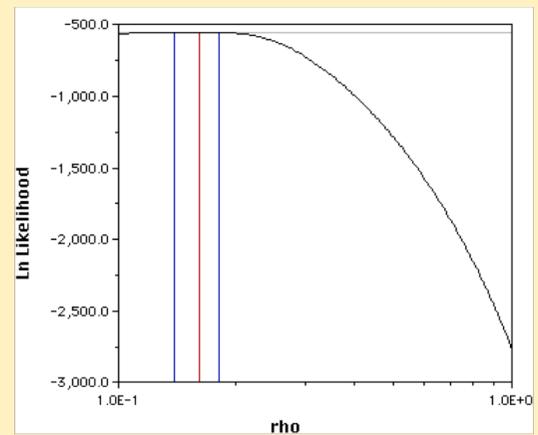
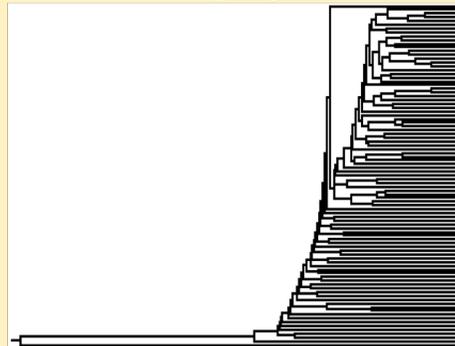
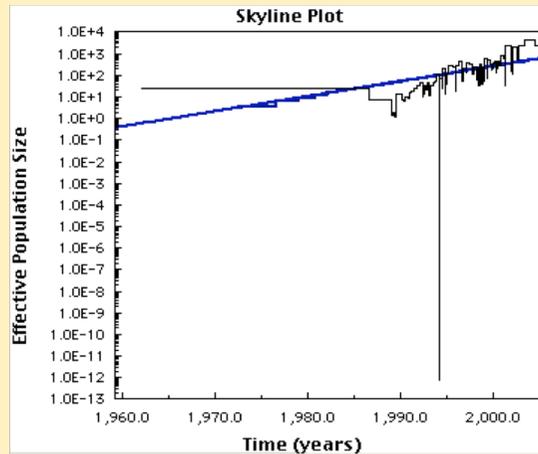
a Model structure of HCV



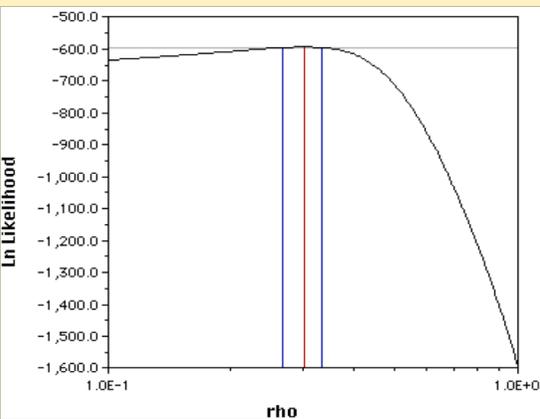
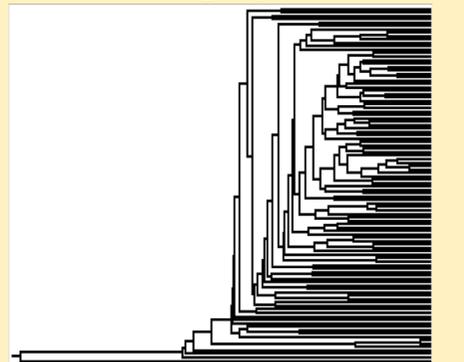
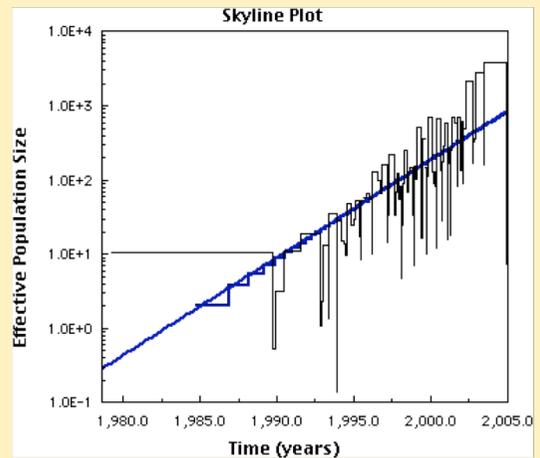
b Proteins encoded by the HCV genome



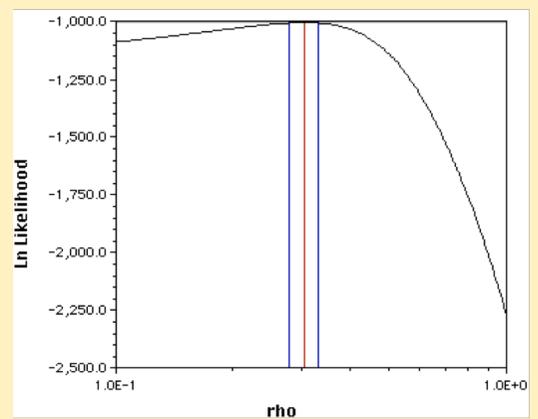
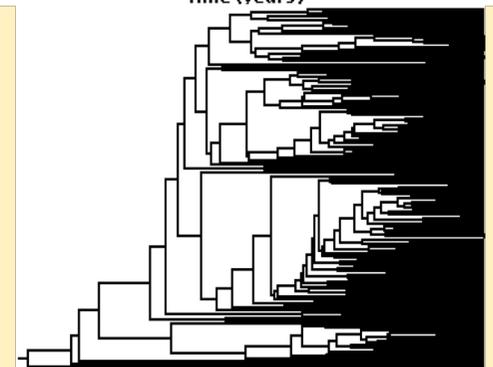
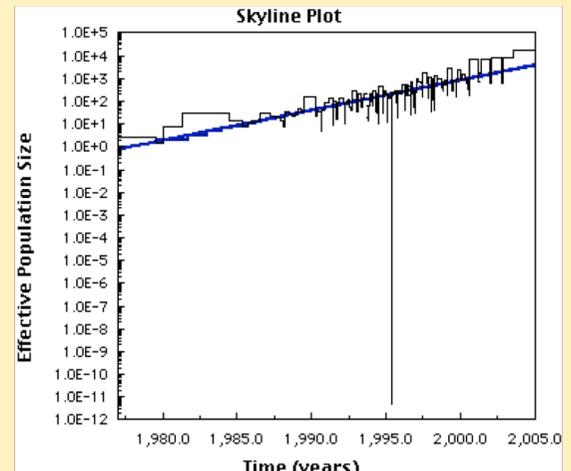
HCV 3a VGDN

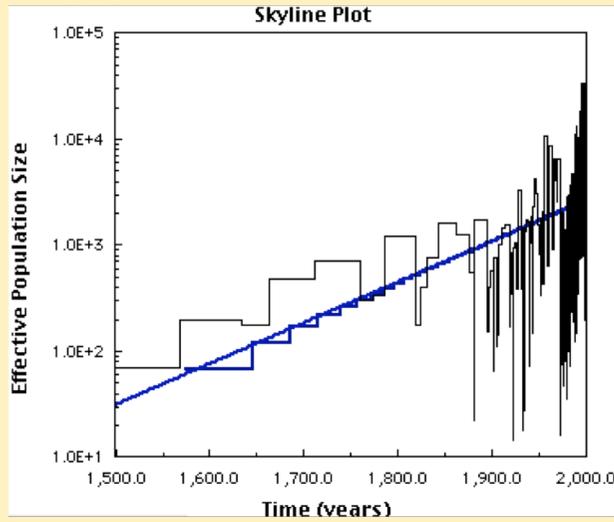
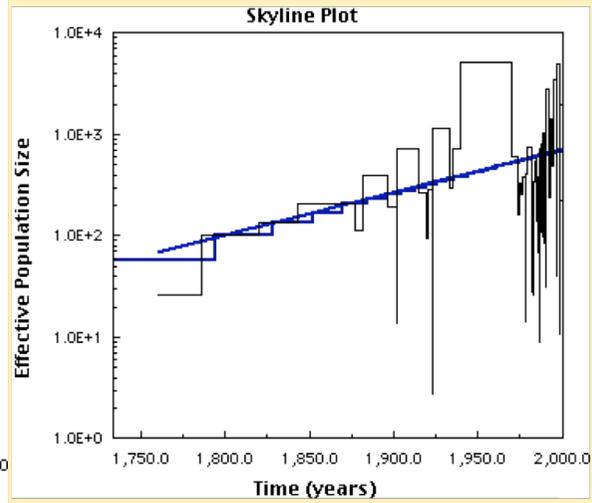
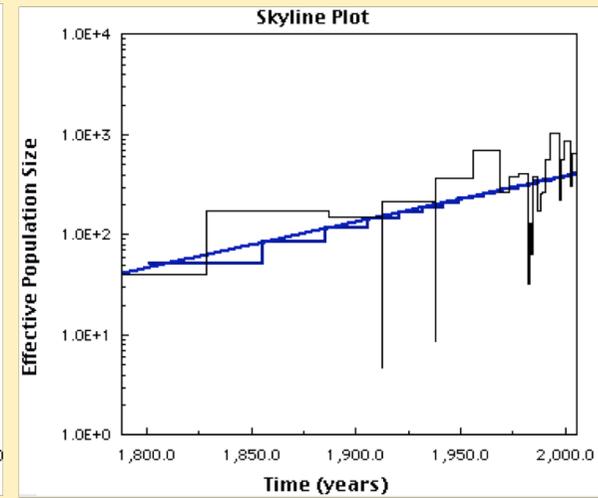
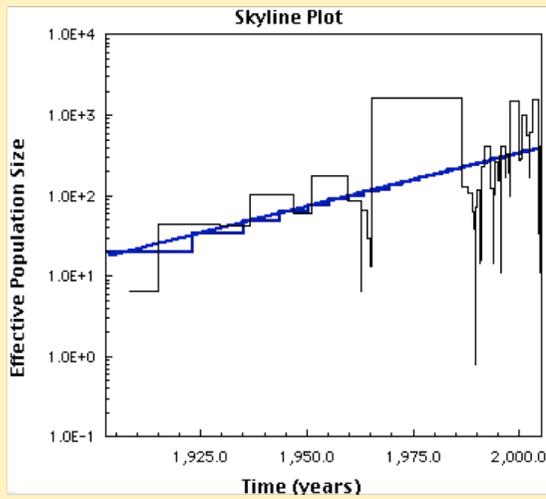
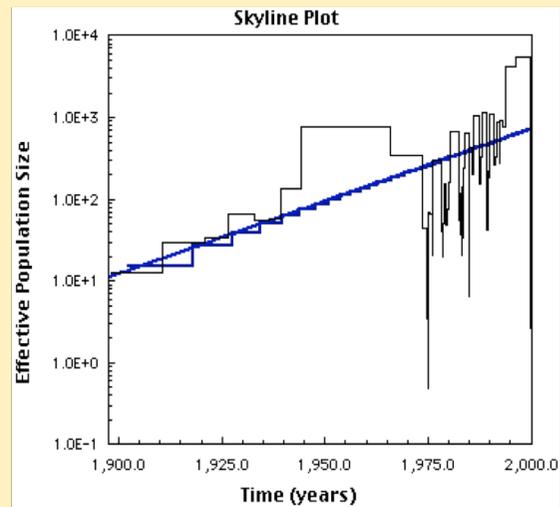
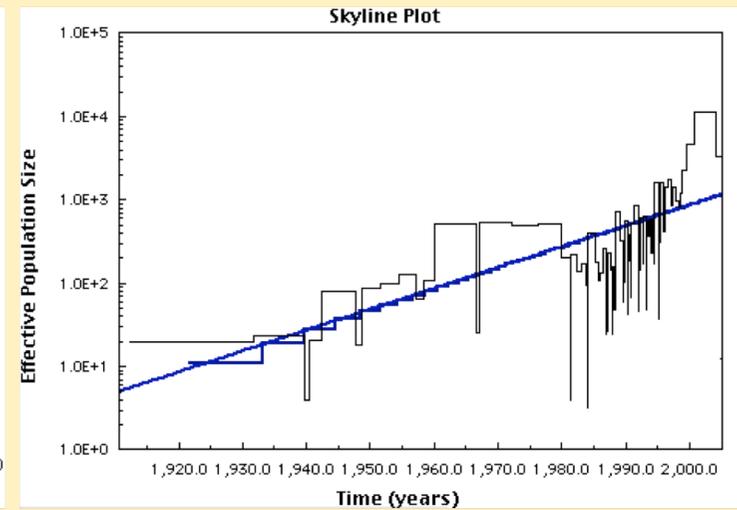


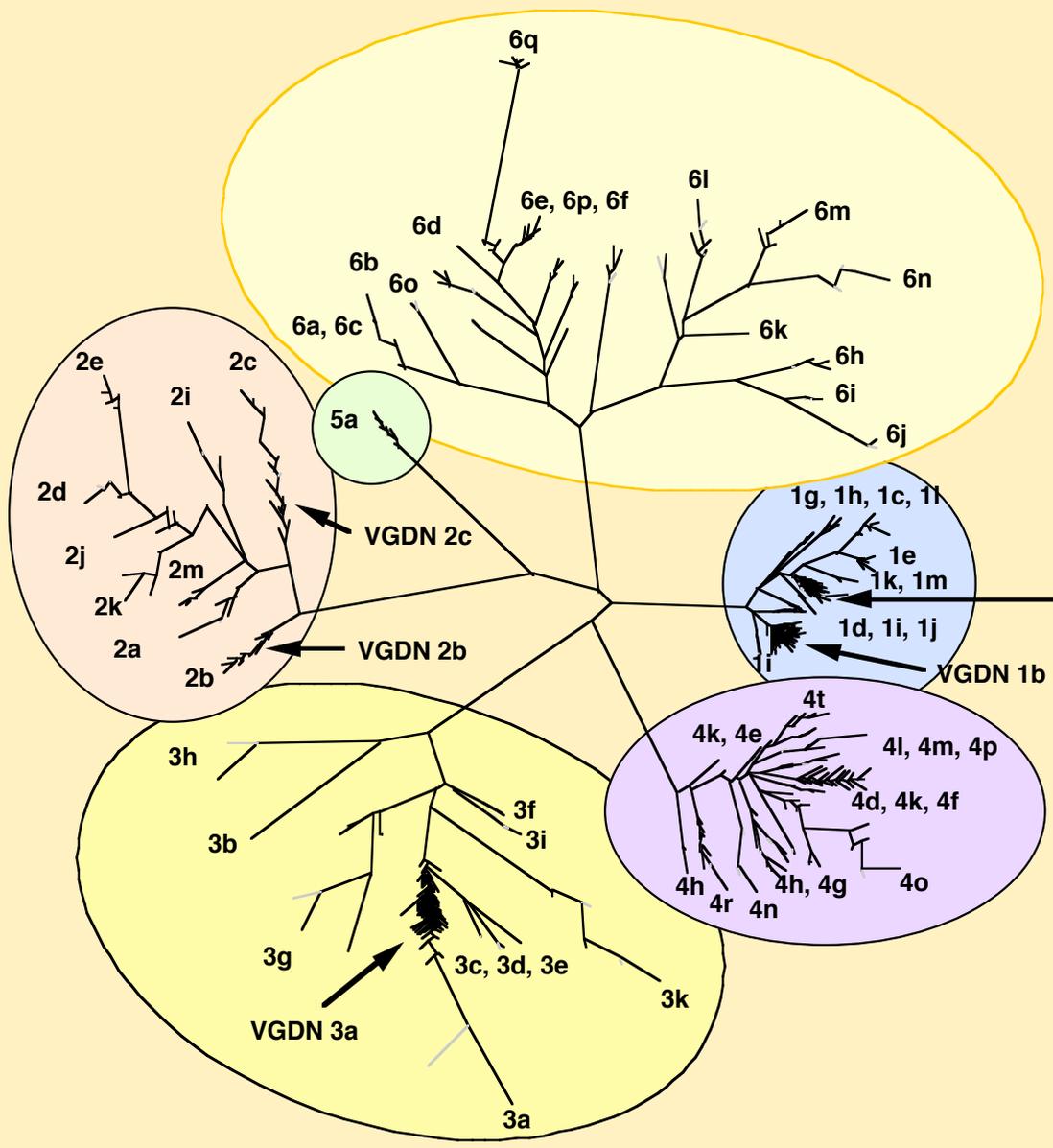
HCV 1a VGDN



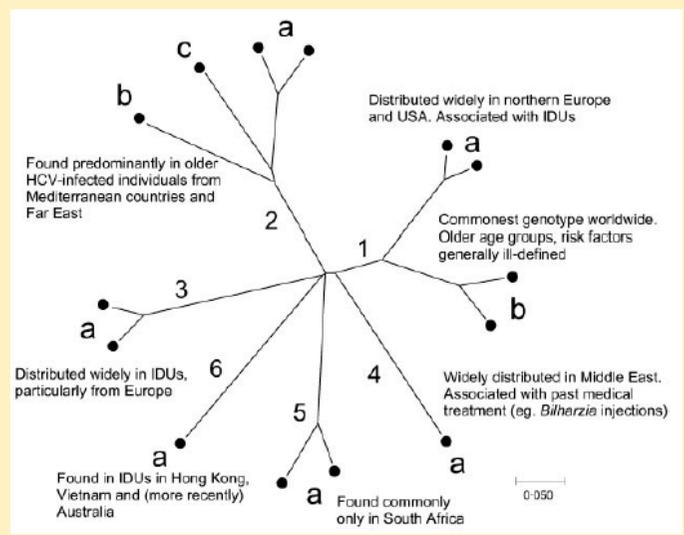
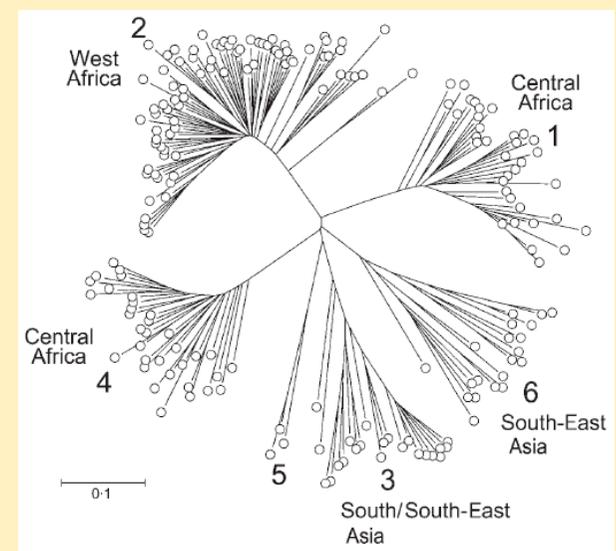
HCV 1b VGDN



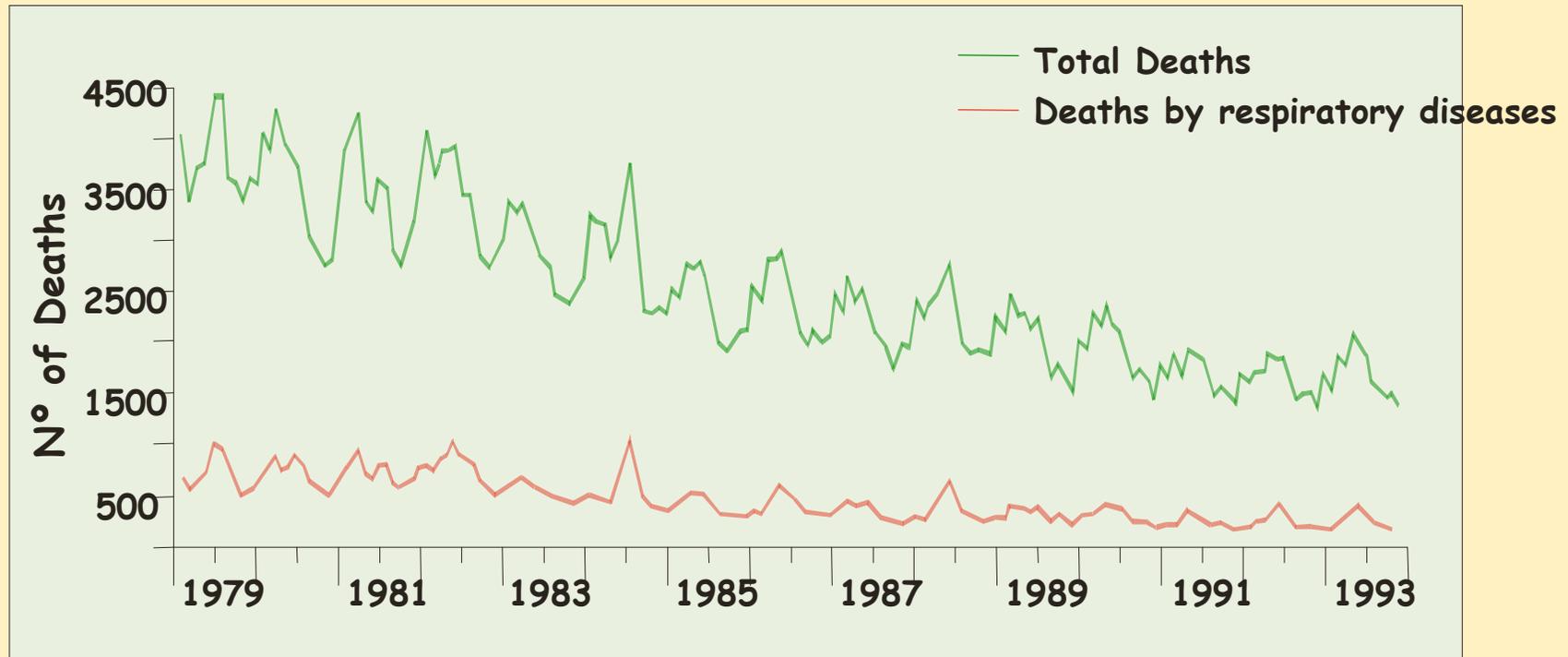
HCV**HCV 6****HCV 3****HCV 1****HCV 2****HCV 4**



10% divergence 659 taxa

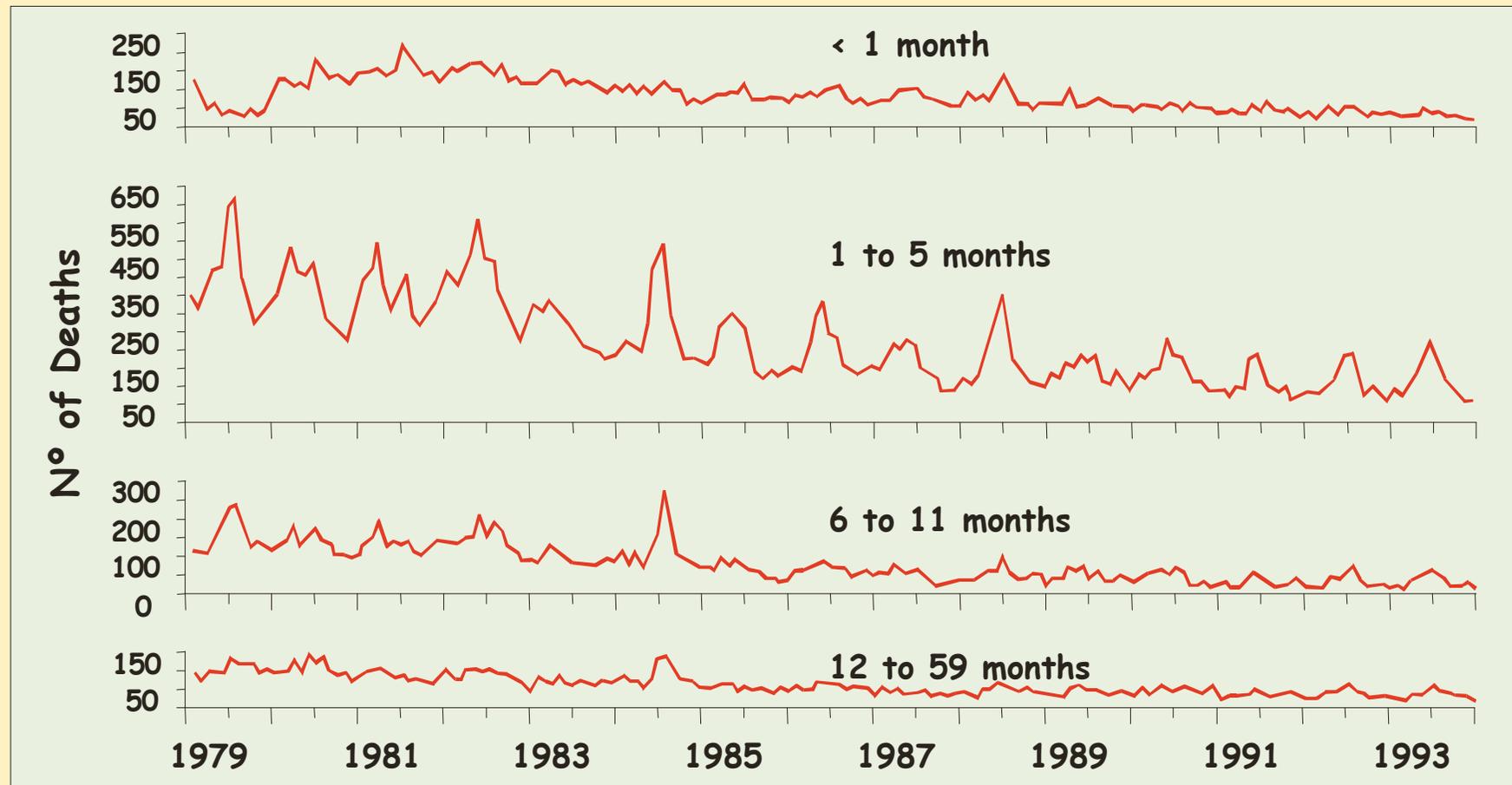


Human Respiratory Syncytial Virus (RSV) Epidemiology in São Paulo

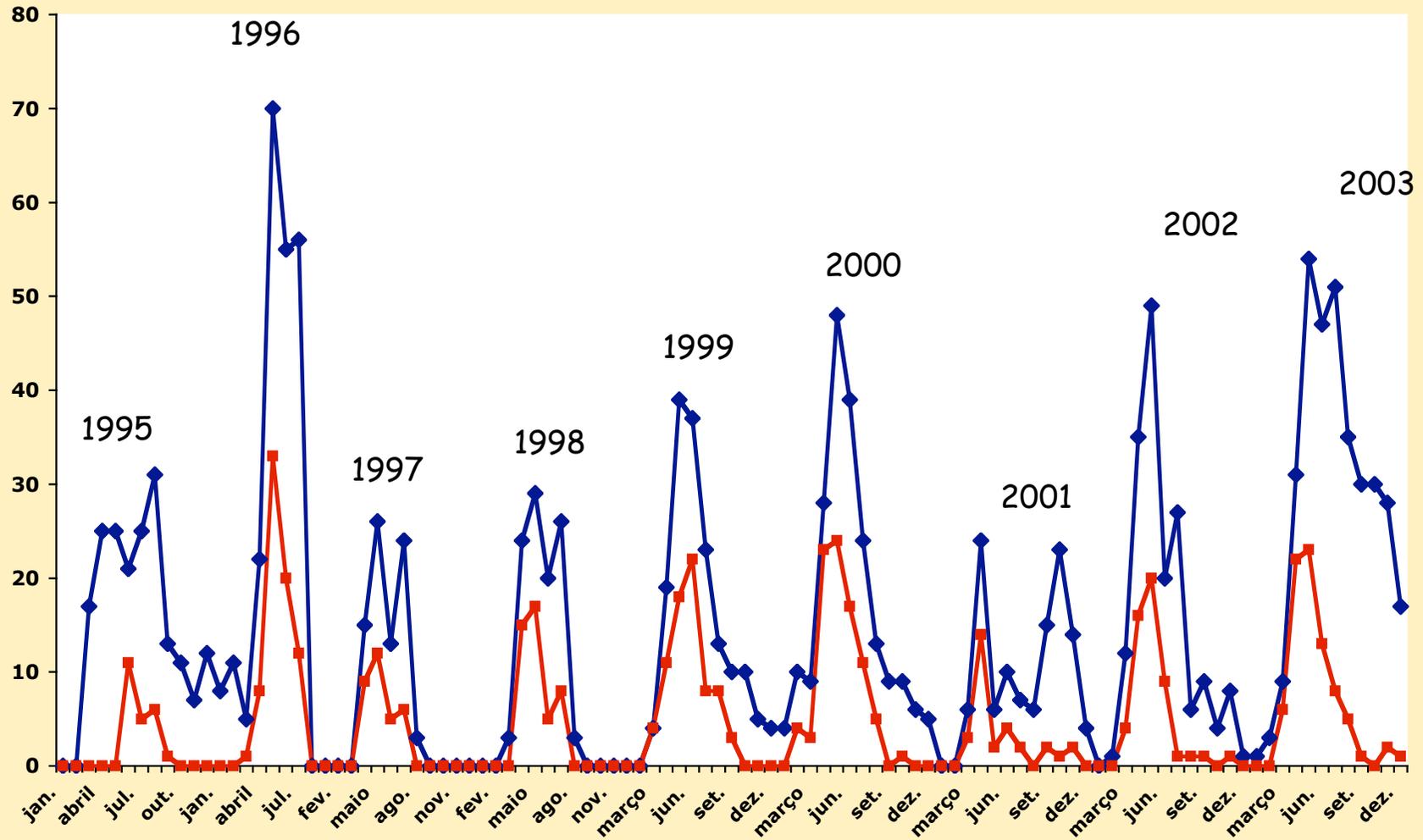


Monthly total of deaths in geral, and deaths by repiratory disease in the State of São Paulo, Brazil from 1979 to 1993 (Stewien et al., 1999).

Human Respiratory Syncytial Virus (RSV) age effect in São Paulo

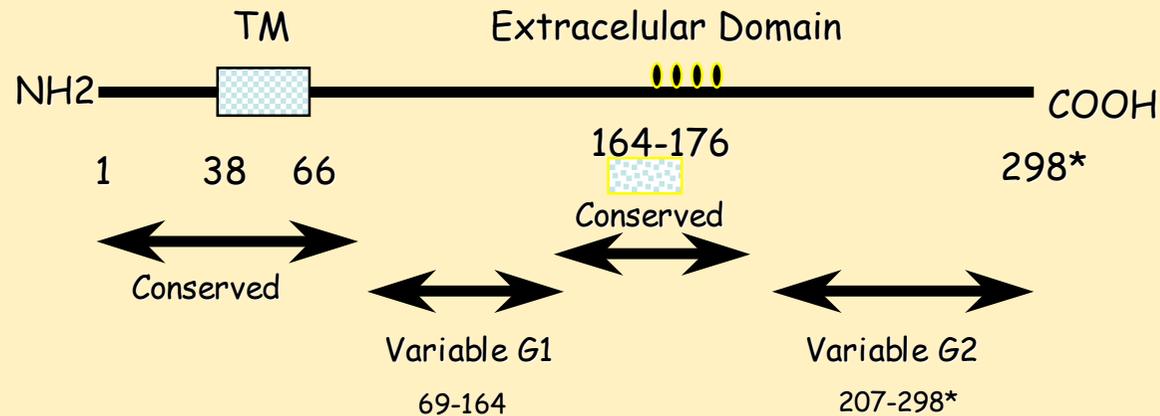


Cyclical incidence patterns of HRSV in São Paulo

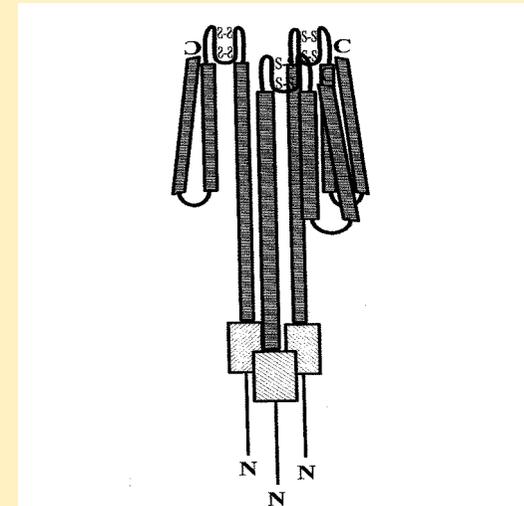


Glycoprotein G

A)



B)



A) Glycoprotein G squeme

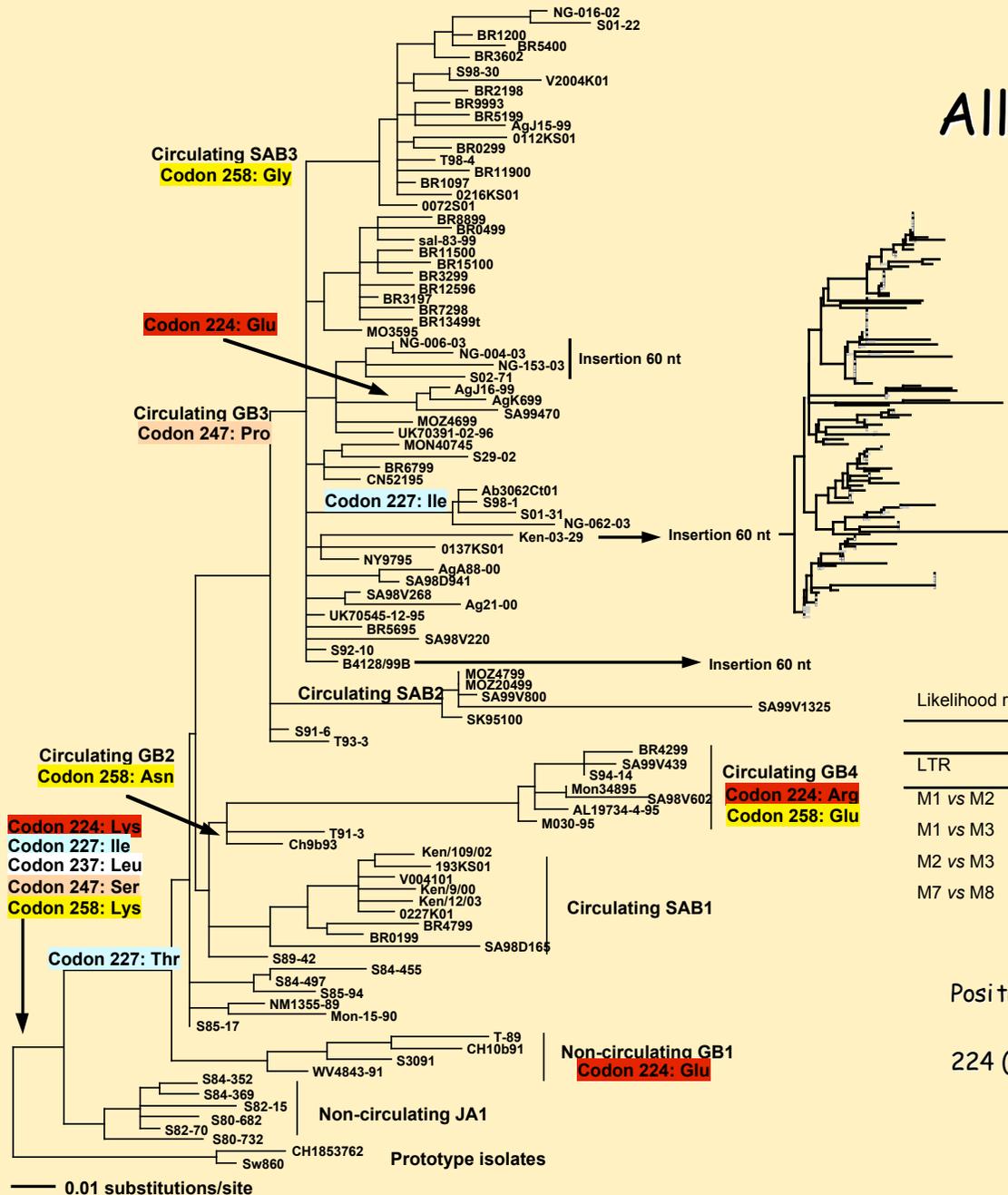
● Cysteine residues : C^{173} , C^{176} , C^{182} , C^{186}

* RSV B strains may present here 252 or 319 residues

TM - transmembrane region, 164-176 - highly conserved

B) 3D rendition of G glycoprotein

Allelic substitution in RSV B



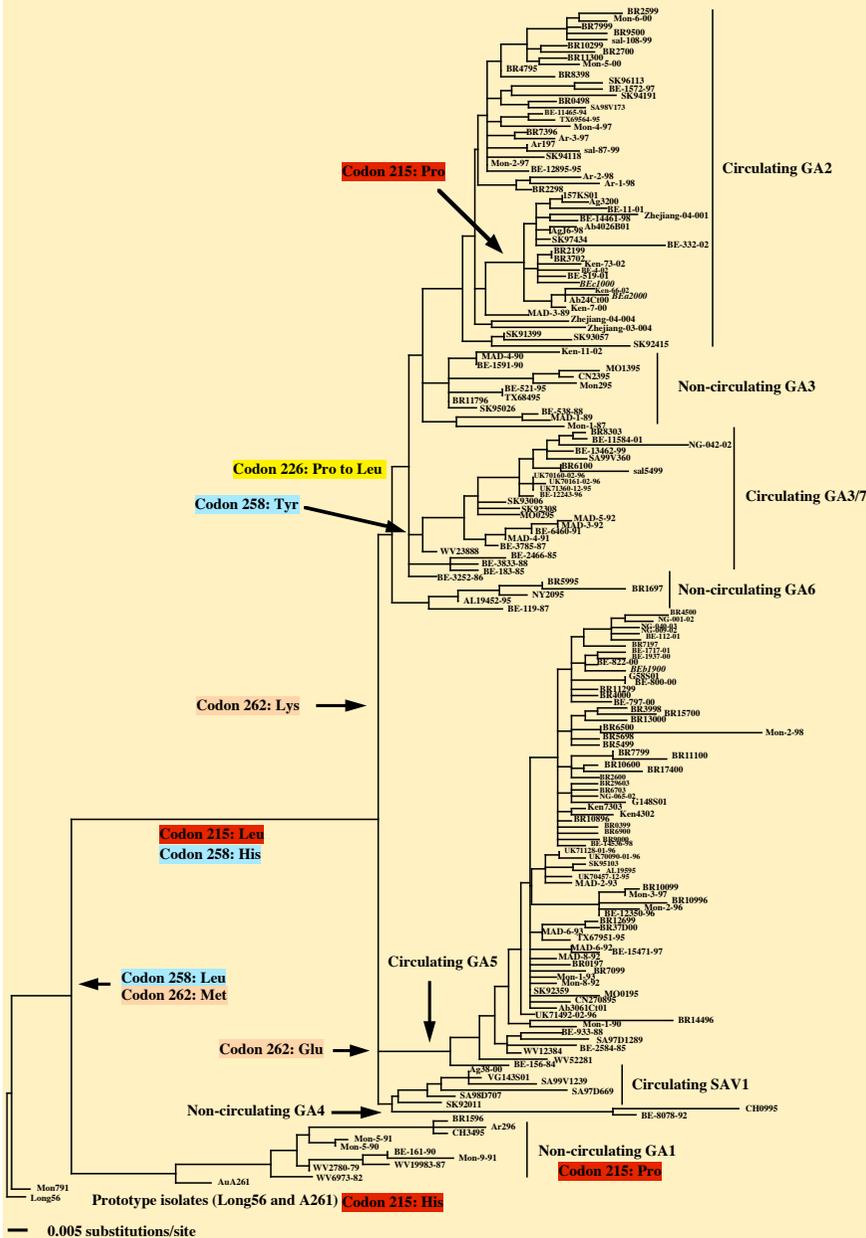
Likelihood ratio tests (LTR) between models of codon evolution for HRSV G gene

LTR	Degree freedom	HRSVA		HRSVB	
		χ^2	χ^2		
M1 vs M2	2	54.9518	20.143		
M1 vs M3	4	103.1264	86.5162		
M2 vs M3	3	48.1746	66.3732		
M7 vs M8	2	36.8912	17.161		

Positively selected sites:

224 (Lys), 227 (Ile), 237 (Leu), 247 (Ser), 258 (Lys)

Allelic substitution in RSV A



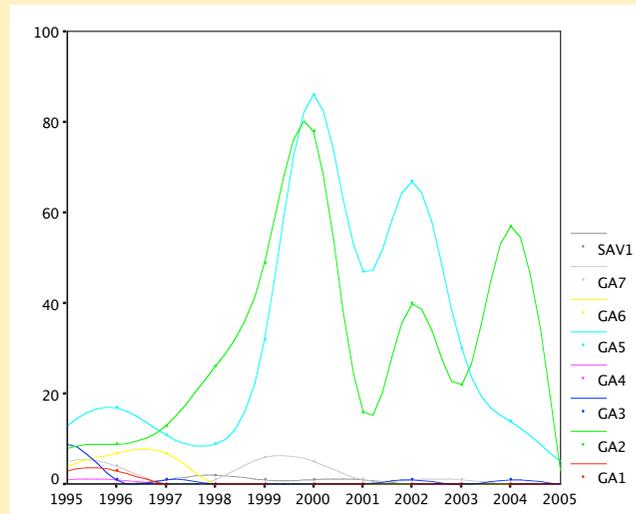
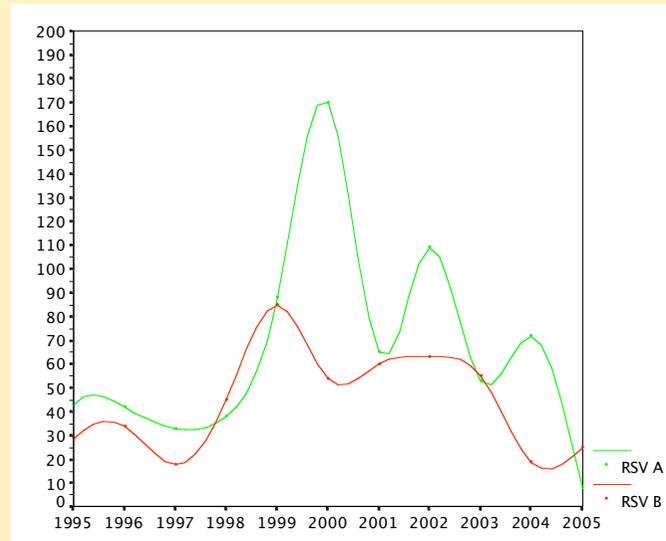
Likelihood ratio tests (LTR) between models of codon evolution for HRSV G gene

LTR	Degree freedom	HRSVA		HRSVB	
		χ^2	χ^2		
M1 vs M2	2	54.9518	20.143		
M1 vs M3	4	103.1264	86.5162		
M2 vs M3	3	48.1746	66.3732		
M7 vs M8	2	36.8912	17.161		

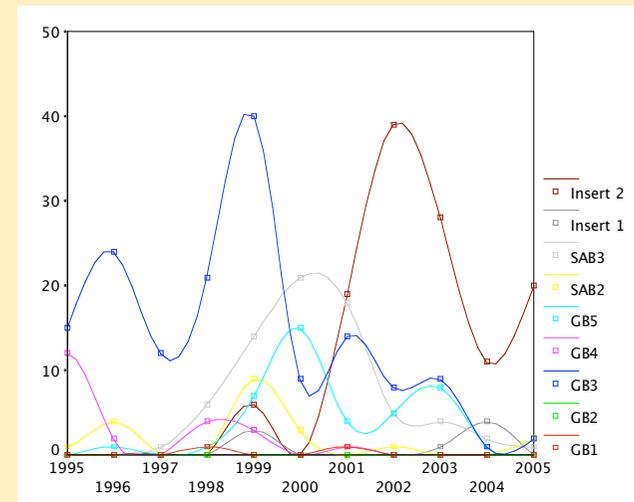
Positions 215 (His), 226 (Pro) 262(Met) and 258 (Leu) at the C-terminus, had a high posterior probability (>98%) under M2, M3 and M8 models

RSV Dynamics

RSV A&B

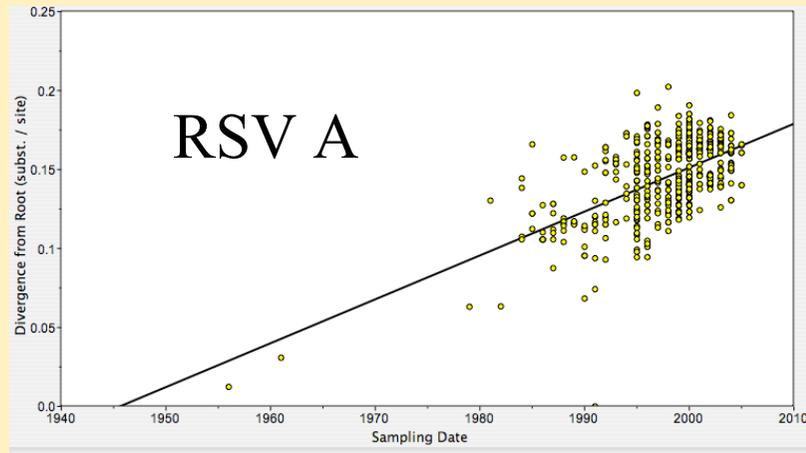


RSV A

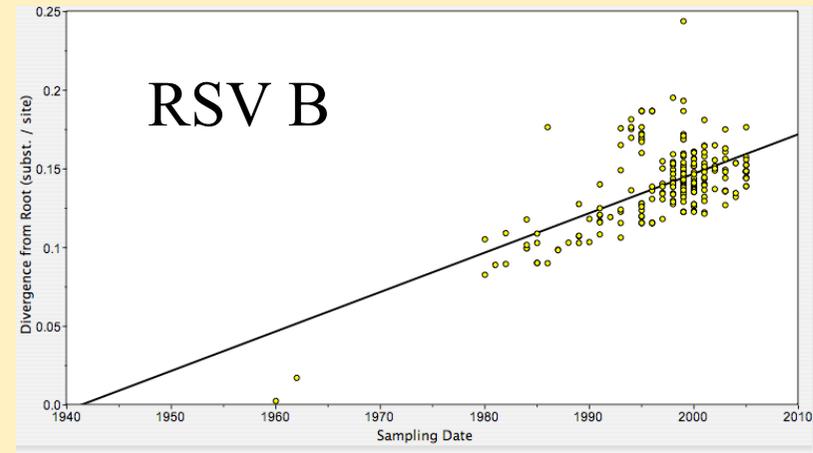


RSV B

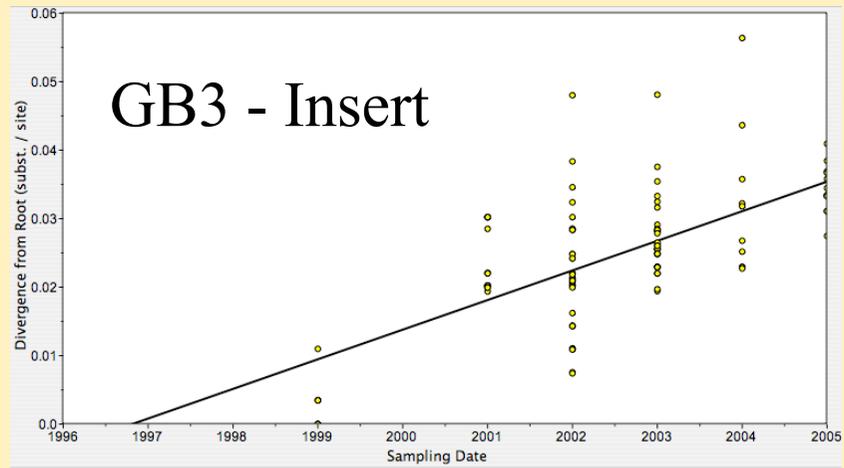
RSV - Phylodynamics



Rate estimate = $2.7798E-3$
MRCA Date estimate = 1945.6
R squared = 0.3563



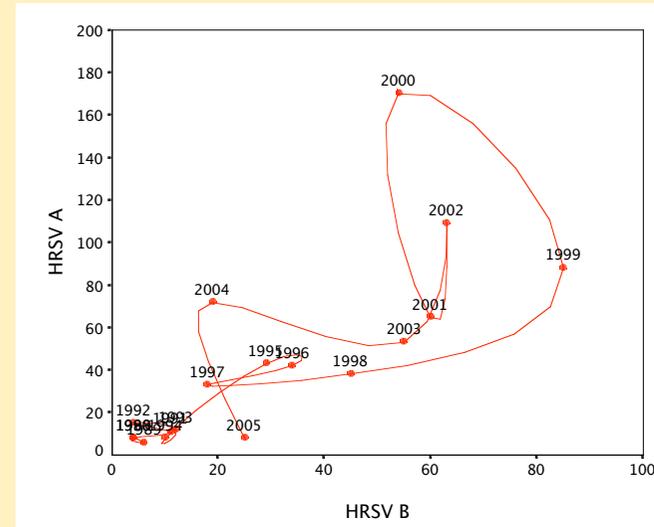
Rate estimate = $2.5077E-3$
MRCA Date estimate = 1941.4
R squared = 0.3645



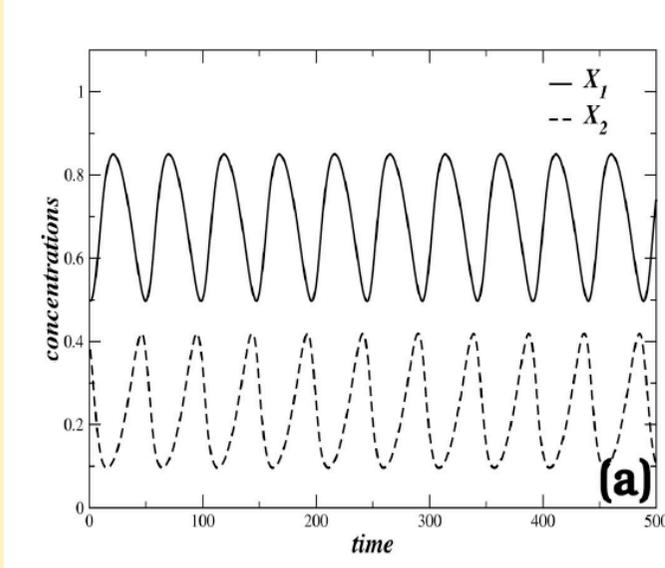
Rate estimate = $4.3248E-3$
MRCA Date estimate = 1996.8
R squared = 0.4693

RSV A&B Interactions:

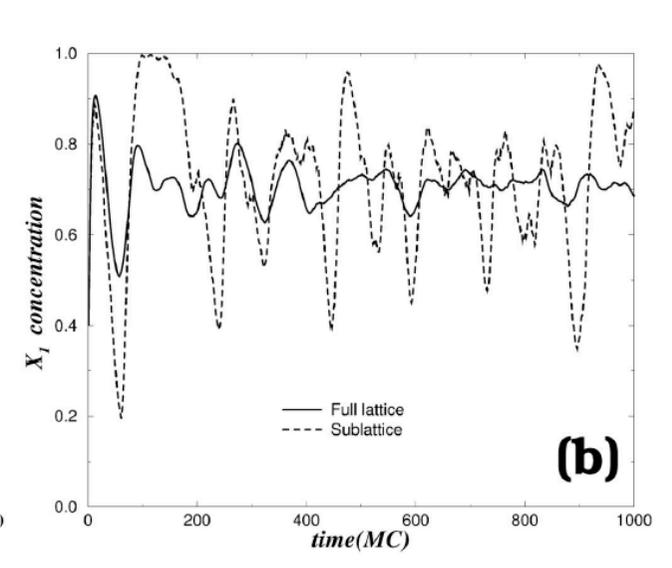
Explained by a 3 component
Predator-prey System.



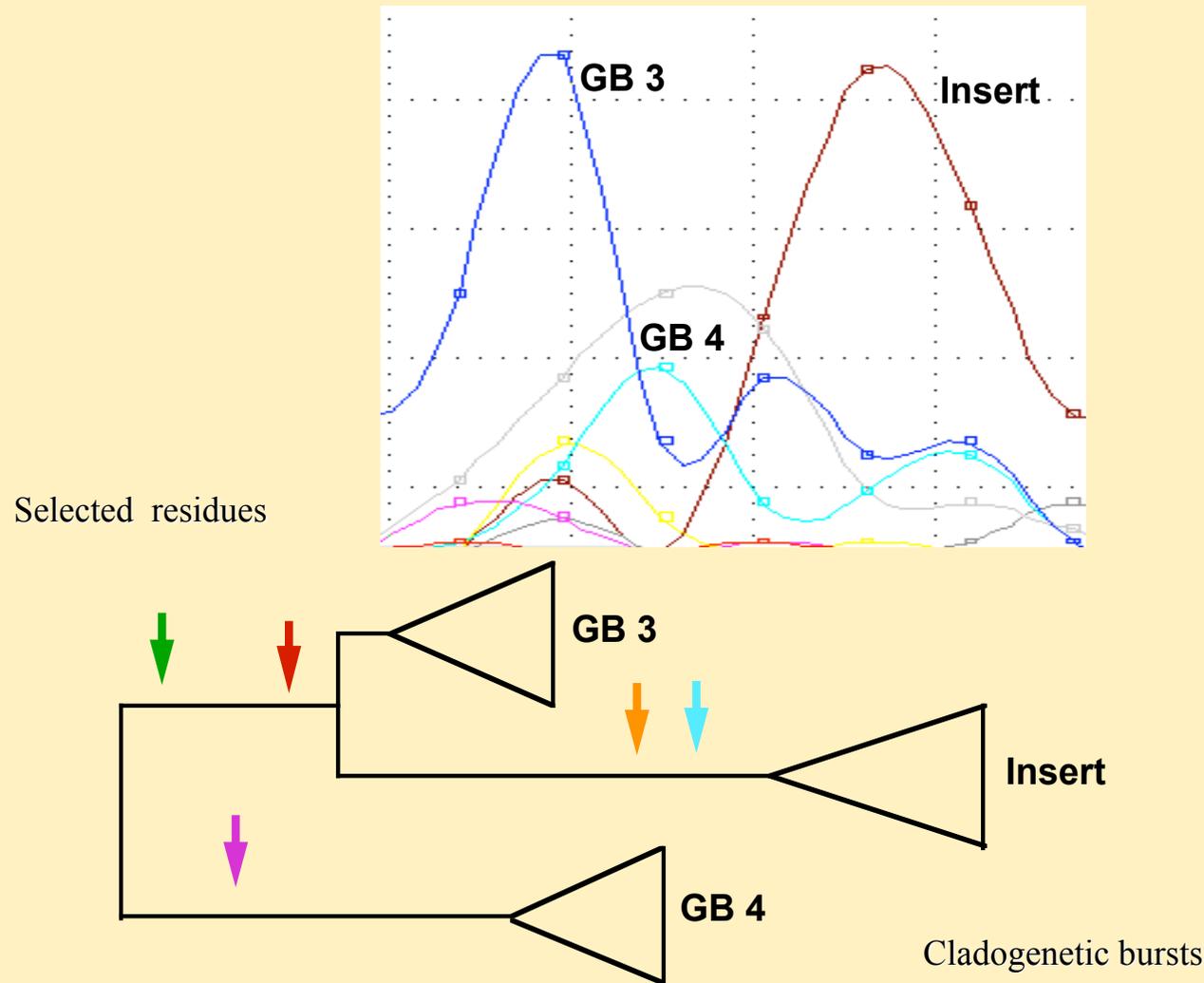
TSEKOURAS, PROVATA, AND TSALLIS



PHYSICAL REVIEW E **69**, 016120 (2004)



A model for the "Immune-Dynamics" of HRSV



Conclusão



Agradecimentos:

- ★ FAPESP
- ★ CNPq
- ★ ICB - USP