



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
BIOLOGIA DOS AGENTES INFECCIOSOS E PARASITÁRIOS

ESTUDO DA SOROPREVALÊNCIA DA CO-INFECCÃO PELO *Vírus da hepatite C* (VHC) EM PACIENTES PORTADORES DO *Vírus da imunodeficiência humana 1* (HIV-1) E/OU COM SIDA/AIDS NO ESTADO DO AMAPÁ

FRANCIS CHRISTIAN DA SILVA PEREIRA

**Belém-Pará
2005**

FRANCIS CHRISTIAN DA SILVA PEREIRA

**ESTUDO DA SOROPREVALÊNCIA DA CO-INFECCÃO PELO *Vírus da*
hepatite C (VHC) EM PACIENTES PORTADORES DO *Vírus da imunodeficiência*
humana 1 (HIV-1) E/OU COM SIDA/AIDS NO ESTADO DO AMAPÁ**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto

**Belém
2005**

FRANCIS CHRISTIAN DA SILVA PEREIRA

ESTUDO DA SOROPREVALÊNCIA DA CO-INFECCÃO PELO *Vírus da hepatite C* (VHC) EM PACIENTES PORTADORES DO *Vírus da imunodeficiência humana 1* (HIV-1) E/OU COM SIDA/AIDS NO ESTADO DO AMAPÁ

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto
Departamento de Patologia, UFPA

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado
Departamento de Patologia, UFPA

Profa. Dra. Antônia Benedita Rodrigues Vieira
Departamento de Patologia, UFPA

Profa. Dra. Karla Tereza Silva Ribeiro
Departamento de Patologia, UFPA

Prof. Dr. Sídney Emanuel Batista dos Santos (Suplente)
Departamento de Patologia, UFPA

**Belém
2005**

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto, pelo apoio e dedicação na orientação deste trabalho, bem como pelo exemplo de competência e dedicação profissional.

Ao Governo do Estado do Amapá pela oportunidade concedida, incentivando o aprimoramento profissional, através da busca do conhecimento.

Aos pacientes atendidos no Serviço de Assistência Especializada do Amapá – SAE pela colaboração, pois sem eles este trabalho não seria possível.

Ao Laboratório Central do Amapá – LACEN-AP pelo apoio logístico para realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Virologia da Universidade Federal do Pará – UFPa pela colaboração na realização da etapa experimental.

Aos colegas do mestrado, pelo período que convivemos e crescemos juntos.

A minha família, em especial minha esposa Andreia, que em todos os momentos difíceis soube compreender minha ausência, apoiando todas as minhas iniciativas.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

	Página
Figura 1 – Representação esquemática do HIV-1.....	11
Figura 2 – Representação do ciclo de replicação do HIV-1.....	12
Figura 3 – Número estimado de pessoas infectadas com o HIV-1 no mundo.....	14
Figura 4 – Representação da estrutura morfológica e do genoma do VHC.....	16
Figura 5 – Distribuição do anti-VHC de acordo com o grau de escolaridade.....	37
Tabela 1 – Distribuição do anti-VHC de acordo com o gênero e a faixa etária.....	36
Tabela 2 – Distribuição de anti-VHC de acordo com o gênero e a opção sexual.....	36
Tabela 3 – Fatores de risco e distribuição da prevalência do VHC.....	38
Tabela 4 – Distribuição do anti-VHC de acordo com os valores de contagem de linfócitos TCD4 ⁺	39
Tabela 5 - Distribuição do anti-VHC de acordo com os valores de carga viral do HIV-1.....	40

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	03
RESUMO.....	07
ABSTRACT.....	08
1 INTRODUÇÃO.....	09
1.1 <i>VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA.....</i>	09
1.1.1 Histórico.....	09
1.1.2 Classificação e Morfologia.....	10
1.1.3 Ciclo de replicação do HIV-1.....	11
1.1.4 Transmissão.....	13
1.1.5 Distribuição Geográfica.....	14
1.1.6 Diagnóstico Laboratorial.....	15
1.2 <i>O VÍRUS DA HEPATITE C (VHC).....</i>	15
1.2.1 Classificação.....	15
1.2.2 Estrutura e Função do Genoma Viral.....	15
1.2.3 Patogenia.....	17
1.2.4 Epidemiologia.....	18
1.2.5 Transmissão.....	21
1.2.6 Diagnóstico Laboratorial.....	21
1.3 ESTUDO DA CO-INFECÇÃO HIV-1/VHC.....	23
1.3.1 Aspectos Epidemiológicos da Co-infecção.....	23
1.3.2 Impacto da Co-infecção HIV-1/VHC.....	27
1.4 OBJETIVOS.....	30

1.4.1	Objetivo Geral.....	30
1.4.2	Objetivos Específicos.....	30
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	31
2.1	AMOSTRA POPULACIONAL.....	31
2.2	COLETA DAS AMOSTRAS.....	31
2.3	MÉTODOS.....	31
2.3.1	Ensaio Imunoenzimático (EIE).....	31
2.3.2	Citometria de Fluxo.....	32
2.3.3	Quantificação da Carga Viral Plasmática do HIV-1.....	33
2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
3.	RESULTADOS.....	35
3.1	SOROPREVALÊNCIA.....	35
3.2	FATORES DE RISCO ASSOCIADOS.....	37
3.3	A ASSOCIAÇÃO DA CARGA VIRAL DO HIV-1 E DA CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4 ⁺ COM A PRESENÇA DE ANTI-VHC.....	38
4.	DISCUSSÃO.....	41
4.1	SOROLOGIA PARA ANTI-VHC.....	41
4.2	FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À CO-INFECÇÃO HIV- 1/VHC.....	42

4.3	A RELAÇÃO DA CO-INFEÇÃO COM OS MARCADORES DE PROGRESSÃO DA INFECÇÃO PELO HIV-1	43
5.	CONCLUSÕES.....	45
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
	ANEXOS.....	57

RESUMO

No presente estudo a soroprevalência da infecção pelo *Vírus da hepatite C* (VHC) foi investigada em indivíduos portadores da infecção pelo *Vírus da imunodeficiência humana 1* (HIV-1) da cidade de Macapá, Estado do Amapá, Brasil. Um total de 120 indivíduos infectados pelo HIV-1 foi testado para a presença de anti-VHC usando um ensaio imunoabsorvente ligado a enzima. Todos os pacientes envolvidos no presente estudo foram testados para a carga viral plasmática do HIV-1 e para os níveis de células T CD4⁺ no momento do consentimento em fazer parte do estudo. Os pacientes responderam a um questionário epidemiológico no momento da coleta de sangue. Do total de 120 amostras testadas apenas sete (5,83%) foram soropositivas para anti-VHC. Quanto ao gênero, quatro (57,2%) e três (42,8%) eram homens e mulheres, respectivamente. A idade dos indivíduos soropositivos para anti-VHC variou de 21 a 40 anos entre os homens e de 21 a 60 entre as mulheres. Considerando o impacto da co-infecção nos valores de carga viral plasmática do HIV-1 e na contagem de células T CD4⁺ não foram observadas diferenças significativas (*Odds Ratio*=2,7368, *p*=0,3624; *Odds Ratio*=1,7803, *p*=0,7764). O uso de drogas injetáveis e de *piercing* mostrou ser um importante fator de risco para a co-infecção (*p*<0,05). Os resultados do presente estudo representam os primeiros achados acerca da co-infecção HIV-1/VHC no Estado do Amapá e demonstra a necessidade de um estudo continuado objetivando avaliar a soroprevalência da infecção pelo VHC no Amapá e detectar o real impacto clínico da co-infecção HIV-1/VHC no paciente.

ABSTRACT

In the present study, the seroprevalence of *Hepatitis C virus* (HCV) infection was investigated among Human immunodeficiency virus-infected subjects from the city of Macapá, state of Amapá, Brazil. A total of 120 HIV-1-infected subjects were tested for the presence of anti-HCV using an enzyme-linked immunosorbent assay. All the patients enrolled in the present study were tested for plasma HIV-1 viral load and CD4⁺ T-cells at the time of acceptance to join the study. The patients responded to an epidemiological questionnaire at the moment of blood collection. Seven out of 120 tested samples (5,83%) were seropositive for anti-VHC. Concerning gender, four(57,2%) and three(42,8%) were male and female, respectively. The ages of HCV seropositive subjects ranged from 21 to 40 years for males and from 21 to 60 for females. Take into account the impact of co-infection on plasma HIV-1 viral load and CD4⁺ T-cells quantification it was not observed significant differences (*Odds Ratio*=2.7368, *p*=0.3624; *Odds Ratio*=1.7803, *p*=0.7764). The intravenous drug use and piercing showed to be important risk factors to co-infection (*p*<0.05). The results of the current study represent the first report about HIV-1/HCV co-infection in the state of Amapá, and highlight the need for continuous study aiming to evaluate the seroprevalence of HCV infection in Amapá and to detect the real clinical impact of HIV-1/HCV co-infection on the patient.

1. INTRODUÇÃO

1.1 VIRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

1.1.1 Histórico

Em 1982, em Paris, Barre-Sinoussi e colaboradores reportaram o isolamento de um novo retrovírus a partir de linfonodo de um paciente de 33 anos, homossexual. Os exames demonstraram linfadenopatias axilares e inguinais, febre persistente e perda de peso. O paciente tinha história de promiscuidade sexual com diversos episódios de gonorréia e de tratamento para sífilis. O vírus isolado desse paciente apresentava características biológicas similares ao *Vírus linfotrópico de células T humanas* (HTLV), o que indicava ser um membro da família *Retroviridae*, sendo inicialmente denominado de Vírus Associado a Linfadenopatia (LAV) (Barre-Sinoussi *et al.*, 1983).

Em 1984, nos Estados Unidos, um vírus idêntico ao descrito por Barre-Sinoussi *et al.* (1983) foi isolado de diversos pacientes com imunodeficiência e de indivíduos homossexuais do sexo masculino e assintomáticos. Esse vírus novo foi designado HTLV-III (Sarngadharan *et al.*, 1984). Esta nova entidade clínica foi denominada de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA/AIDS) e, atualmente, o agente etiológico é denominado *Vírus da imunodeficiência humana* (HIV).

O HIV foi isolado a partir de fluidos vaginal e/ou cervical de quatro mulheres, que tinham anticorpos contra o vírus. A quantidade isolada inicialmente era tão baixa que a identificação do vírus foi possível somente depois da passagem em culturas de células mononucleares estimuladas com agentes mitogênicos. Os resultados indicaram que o fluido vaginal, sob determinadas circunstâncias, poderia ser uma fonte da transmissão do vírus (Wosfy *et al.*, 1986).

Um outro novo vírus foi isolado de dois pacientes com AIDS, na África Ocidental. A identificação parcial das características morfológicas deste vírus revelou que ele apresentava propriedades bastante similares ao LAV/HTLV-III, mas diferia em alguns de seus componentes antigênicos (Clavel, 1986). Esse vírus foi denominado inicialmente de LAV-II e, atualmente, de *Vírus da imunodeficiência humana 2* (HIV-2).

O primeiro caso de AIDS causado pelo HIV-2 nos Estados Unidos foi diagnosticado em dezembro de 1987. O paciente, um africano da África Ocidental, apresentava perda de peso e sintomas neurológicos. O paciente não descreveu uma história de intercurso sexual, uso de agulhas não estéreis, ou de doação de sangue nos Estados Unidos (CDC, 1988).

1.1.2 Classificação e Morfologia

O HIV pertence à família *Retroviridae* e ao gênero *Lentivirus*. O vírus caracteriza-se por ser envelopado, levemente pleomórfico, esférico, medindo de 80 a 100 nm de diâmetro (Figura 1). Em sua superfície é possível identificar pequenas projeções, de cerca de 80 nm, partindo do envelope. O nucleocapsídeo é icosaédrico e constituído pelo ácido nucléico viral associado a proteínas estruturais e funcionais. O vírus apresenta como genoma, duas moléculas de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples e de polaridade positiva. O comprimento do genoma é de 9.200 nucleotídeos. Os vírus apresentam três principais genes codificantes das proteínas dos vírus, na seguinte ordem: *5'-gag-pol-env-3'*. Há genes adicionais (*vif*, *vpr*, *vpu*, *tat*, *rev*, *nef*), cujos produtos estão envolvidos na regulação da síntese e do processamento do RNA e de outras funções replicativas (ICTV, 2002).

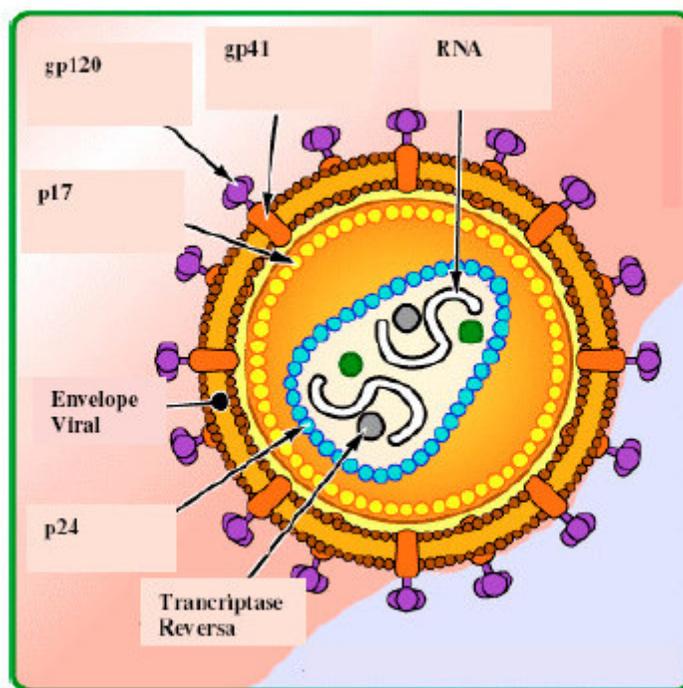


Figura 1 – Representação esquemática do HIV (adaptado de <http://health.howstuffworks.com/aids3.htm>)

1.1.3 Ciclo de replicação do HIV-1

As partículas de HIV-1 ligam-se especificamente às células que contêm a molécula CD4 em sua superfície. A ligação ocorre por meio de interações específicas entre a glicoproteína do envelope viral (gp120) e o domínio amino-terminal do CD4 (Figura 2). Estas interações são suficientes para a ligação, mas não para que ocorra a infecção (Chapman & Weiss, 1997).

Diferentemente de outros retrovirus, os lentivirus de primatas necessitam de proteínas adicionais de superfície para promover a fusão entre o envelope viral e membrana celular. Para o HIV-1 a fusão da membrana pode ser desencadeada por um dos diversos receptores de quimiocinas, incluindo CXCR4 e CCR5 (Moore, 1997).

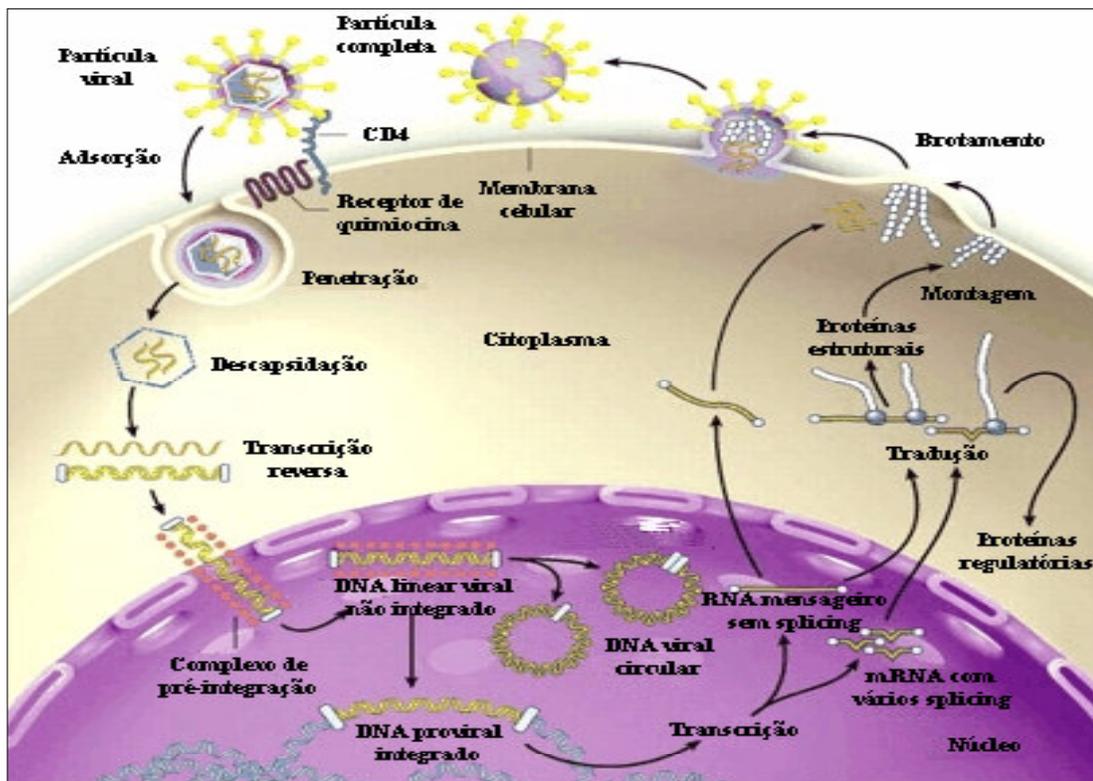


Figura 2 – Representação do ciclo de replicação do HIV-1 (adaptado de Furtado *et al.*, 1999).

A transcrição reversa é catalisada, no citoplasma celular, por uma DNA polimerase dependente de RNA (transcriptase reversa) que converte a fita simples de ácido ribonucleico (ssRNA) viral em uma molécula de ácido desoxirribonucleico linear de fita dupla (dsDNA). Os requisitos mínimos para esta etapa da replicação do retrovirus são, duas cópias do RNA genômico de fita simples (ssRNA), o RNA transportador (tRNA) iniciador que se liga próximo a região 5' terminal da fita de RNA viral e a proteína heterodimérica p51 e p66, que têm atividades de transcriptase reversa e RNase H, respectivamente (Berkout & Jeang, 1992).

A transcriptase reversa é ativada por um sinal ainda não identificado no citoplasma para iniciar a síntese de DNA a partir de um iniciador de RNA que está

ligado a fita de RNA genômico viral. Uma vez sintetizado, o DNA viral é transportado para o núcleo como parte de um complexo de pré-integração que parece incluir a proteína integrase, as proteínas da matriz, a transcriptase reversa, a proteína Vpr, bem como, a proteína celular do hospedeiro HGM-I. Após o transporte ativo para o núcleo, o DNA viral é covalentemente integrado ao genôma do hospedeiro por meio da atividade catalítica da enzima integrase (Miller *et al.*, 1997).

Após a produção de proteínas e a síntese de RNA viral, a montagem e o brotamento da partícula viral ocorrem simultaneamente. É por meio desse processo de brotamento que a partícula viral incompleta adquire o envelope (Coffin, 1996b).

Muitas proteínas de superfície celular, incluindo as moléculas de adesão, também são incorporadas, juntamente, com as glicoproteínas do envelope (Wyatt & Sodroski, 1998).

1.1.4 Transmissão

Os principais modos de transmissão do HIV são: a via sexual, o uso de seringas e de agulhas contaminadas, transfusão sanguínea, transmissão congênita e transmissão vertical (Withe & Fenner, 1994).

No Brasil, segundo o Ministério da Saúde, no período de 1982 a 2004, 63,5% dos casos de infecção pelo HIV-1 ocorreram por transmissão sexual sendo a via heterossexual responsável por 40,4% do total de casos. A transmissão sanguínea ocorreu em 21,2% dos casos, sendo que a grande maioria (19,7%) é decorrente do uso de drogas injetáveis. A transmissão perinatal foi responsável por 2,9% do total de casos neste período (Ministério da Saúde, 2004a).

1.1.5 Distribuição Geográfica

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, até dezembro de 2004 trinta e nove milhões e quatrocentas mil de pessoas estavam vivendo com HIV/AIDS no mundo, sendo trinta e seis milhões de adultos e aproximadamente três milhões de crianças, com total de quatro milhões e novecentos mil novos casos. A epidemia global matou, só no ano de 2004, mais de três milhões de pessoas (WHO, 2004; Figura 3).

No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, 362.364 casos de AIDS foram registrados no período de 1980 a junho de 2004, sendo 251.050 do sexo masculino e 111.314 do sexo feminino (Ministério da Saúde, 2004a; Figura 4).



Figura 3 – Número estimado de pessoas infectadas com o HIV-1 no mundo (adaptado de UNAIDS/WHO, 2004).

1.1.6 Diagnóstico Laboratorial

Há situações distintas em que o diagnóstico laboratorial é necessário: (i) no diagnóstico da infecção em indivíduo com ou sem sintomas; (ii) na triagem de doadores de sangue e órgãos, (iii) na triagem voluntária de indivíduos considerados em situação de risco e (iv) em investigações soropidemiológicas (Withe & Fenner, 1994).

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV pode ser realizado por diversas técnicas: (i) determinação sorológica de anticorpos ou antígenos circulantes; (ii) isolamento viral e (iii) detecção de ácido nucleico viral (Hirsh & Curran, 1996).

1.2 O VIRUS DA HEPATITE C (VHC)

1.2.1 Classificação

De acordo com as propriedades moleculares, o Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV) classificou o *Vírus da hepatite C* (VHC) como pertencente à família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus* (ICTV, 2002).

1.2.2 Estrutura e Função do Genoma Viral

A seqüência nucleotídica do RNA genômico do VHC (Figura 4) foi determinada por uma sobreposição de clones de uma biblioteca de DNA complementar (cDNA) obtida de chimpanzés infectados. Nesta seqüência, com 9.379 nucleotídeos, encontra-se uma única longa fase de leitura aberta (*ORF*) que codifica um precursor de poliproteína viral de 3.011 aminoácidos (Choo *et al.*, 1989).

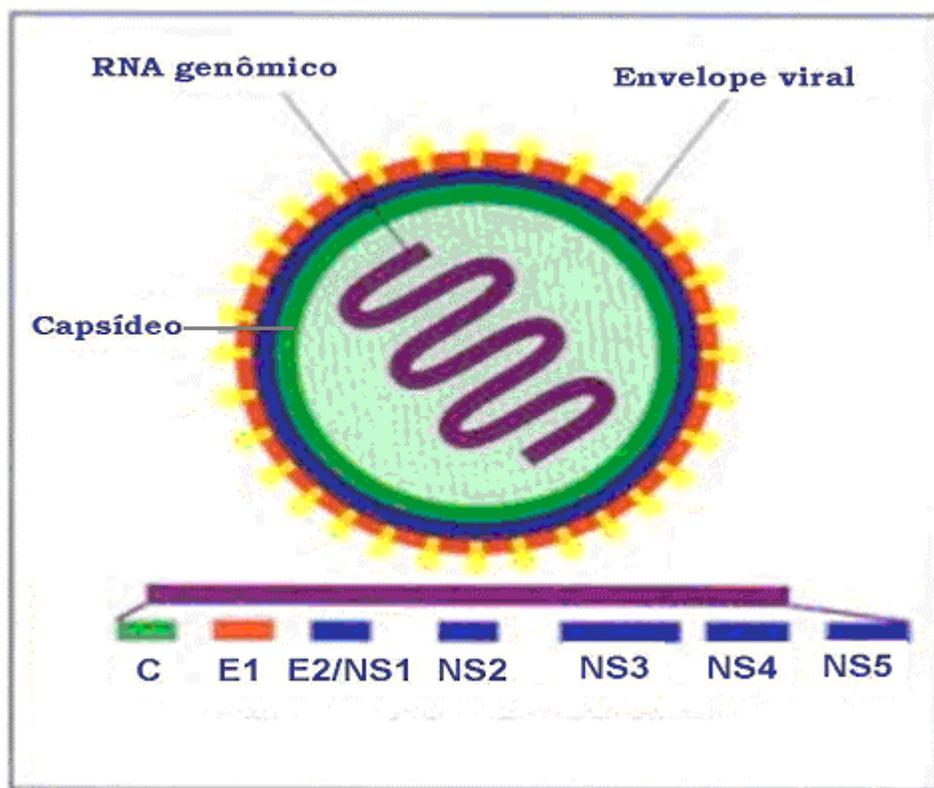


Figura 4 – Representação da estrutura morfológica e do genoma do VHC (adaptado de <http://www.tconline.com/Images/hcv.jpg>).

A transcrição da *ORF* é controlada por uma região não codificante (NCR) na região 5' localizada na posição do nucleotídeo 342, funcionando como um sítio interno de entrada do ribossomo (IRES) que permite a ligação direta dos ribossomos bem próximo do códon de iniciação da *ORF* (Wang *et al.*, 1993).

A poliproteína do VHC sofre clivagem pós-transcricional por proteases celulares e virais em dez produtos diferentes, com as proteínas estruturais localizadas em um terço da porção amino-terminal e as proteínas não estruturais no restante (Bartenschlager & Lohmann, 2000).

O primeiro produto da clivagem da poliproteína é a proteína básica do *core*, formando o principal constituinte do nucleocapsídeo (C) (Yasui *et al.*, 1998). As

glicoproteínas E₁ e E₂ interagem para formar um complexo heterodimérico o qual foi proposto ser uma subunidade funcional do envelope viral (Deleersnyder *et al.*, 1997).

As proteínas não estruturais (NS) são as responsáveis pela regulação do evento de replicação viral.

A proteína NS2 é um polipeptídeo transmembrana com a região C-terminal translocada no lúmen do retículo endoplasmático e a porção N-terminal exposta, pelo menos em parte, para o citoplasma (Santolini *et al.*, 1995).

A NS3 é uma protease de serina e quando ativada é responsável por promover a clivagem da maioria das proteínas não estruturais (Tomei *et al.*, 1993).

A proteína NS4A pode exercer a função de co-fator em uma das seguintes vias: (i) através da estabilização da conformação ativa da NS3 proteinase e (ii) por recrutar a NS3 para o retículo endoplasmático, onde o processo proteolítico presumivelmente ocorre (Lin *et al.*, 1997).

Na região NS5, são codificadas as proteínas NS5A e NS5B, as quais são liberadas pela ação conjunta da NS3 e NS4 e que fazem parte de um complexo de replicação ligado à membrana (Reed *et al.*, 1998).

1.2.3 Patogenia

Os mecanismos responsáveis pela persistência da infecção pelo VHC não foram ainda elucidados. A existência de *quasiespecies* e a grande capacidade mutagênica do vírus propiciam o constante escape à intensa resposta imunológica desenvolvida pelo hospedeiro. A infecção crônica pelo VHC, além de evoluir lentamente, em anos ou décadas, costuma apresentar um amplo espectro clínico, desde

formas assintomáticas com níveis de transaminases normais até a hepatite crônica intensamente ativa, cirrose e hepatocarcinoma (Strauss, 2001).

A resposta antiviral das células T parece desempenhar um papel central na patogênese da infecção pelo VHC. A análise seqüencial da resposta das células T em estágios iniciais da doença pode contribuir para definir as características da resposta por linfócitos T associadas com a cura ou persistência da infecção crônica (Missale *et al.*, 1996).

1.2.4 Epidemiologia

A Organização Mundial da Saúde estima que cerca de 170 milhões de pessoas, 3% da população mundial, estejam infectadas pelo VHC e em risco de desenvolver cirrose hepática e/ou câncer hepático. A prevalência da infecção pelo VHC, de acordo com o continente é de: 5,3% na África, 1,3% nas Américas, 4,6% no Mediterrâneo Oriental, 1,3% na Europa, 2,3% no Sudeste Asiático e 3,9% na Região do Pacífico (WHO, 1999).

Em estudos tendo como base doadores de sangue, foi possível traçar a prevalência do VHC em vários países. De 103.203 doadores testados para a presença de anti-VHC na Escócia e na Irlanda do Norte, por um período superior a três meses, 77 foram classificados como soropositivos (Dow *et al.*, 1993).

Na Inglaterra, foi examinada a prevalência e a severidade da infecção pelo VHC em uma população de doadores de sangue voluntários. Durante 14 meses, apenas 0,35% (999/287.332) de todos os doadores foram positivos para anti-VHC no teste de triagem, sendo 5% (52/999) confirmados como portadores (Mutimer *et*

al., 1995). Na França a soroprevalência de anticorpos anti-VHC encontrada foi de 0,3% na população geral (Ranger *et al.*, 1993).

Com o objetivo de se estimar o risco residual da transmissão do VHC por transfusão sangüínea, foram analisados dados dos Centros de Transfusão da Áustria (Viena) e da Alemanha (Gottingen), no período entre 1990 e 1995. Em Viena, a soroprevalência foi de 0,28% nos doadores de primeira vez e a incidência de soroconversão entre os doadores de repetição, foi de 0.049 por 100 pessoas/ano, entre os anos de 1994 e 1995. Em Gottingen, a prevalência em doadores de primeira vez foi de 0,22% e a incidência foi de 0.093 por 100 pessoas/ano (Riggert *et al.*, 1996).

No Japão, entre abril e dezembro de 1992, de num total de 10.905.489 doadores de sangue, aproximadamente 0,98% apresentaram anticorpos contra o VHC. A soropositividade aumentou com a idade e os valores de transaminases estiveram elevados em ambos os sexos. Em doadores de sangue com alguma história de transfusão a taxa de anti-VHC foi de 7,4% (Yamaguchi *et al.*, 1994).

Nos Estados Unidos, de acordo com o *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) a prevalência entre a população em geral é de 1,8%, sendo 1% em profissionais de saúde, 0,16% em doadores de sangue voluntários, 6% em pessoas que relataram história de doenças sexualmente transmissíveis, 10% nos pacientes em hemodiálise, chegando a 79% em usuários de drogas injetáveis (CDC, 2004).

A maioria do conhecimento sobre a infecção pelo VHC no Brasil foi adquirida em estudos de soroprevalência realizados em doadores de sangue e em pacientes em hemodiálise em diversas cidades (De Paula *et al.*, 2001).

Para se investigar a associação entre a soropositividade pelo VHC e algumas variáveis demográficas, um estudo foi conduzido em 4.762 doadores de sangue

voluntários do Rio de Janeiro, Brasil. A prevalência total da amostra estudada foi de 2,89% (Patino-Sarcinelli *et al.*, 1994).

Para determinar a prevalência e os fatores de risco associados à infecção pelo VHC em gestantes de pré-parto no Hospital Universitário de Campinas, foi entrevistado e testado para a presença de anti-VHC um total de 6.995 mulheres, sendo a soroprevalência encontrada de 0,8% (Lima *et al.*, 2000).

Com a finalidade de determinar a soroprevalência de anticorpos anti-VHC em doadores de sangue, foram analisados os registros epidemiológicos e laboratoriais de 10.090 doadores de sangue do Hemocentro de Apucarana, Paraná, Brasil, do período de janeiro de 1997 a dezembro de 1999. Os resultados da soroprevalência revelaram a presença de anticorpos anti-VHC em 0,9% nos doadores de sangue (Paltanin & Reiche, 2002).

Com objetivo de se investigar a prevalência da infecção pelo VHC, em hemofílicos de Goiânia, amostras de 90 pacientes foram testadas para a presença de anticorpos anti-VHC. Do total de indivíduos analisados, 55 foram soropositivos, resultando em uma prevalência de 60% (Barbosa *et al.*, 2002).

O Departamento de Medicina Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará realizou um estudo soropidemiológico transversal em 752 pacientes em hemodiálise em 12 clínicas de Fortaleza, Ceará. A prevalência de pacientes soropositivos para VHC, nas diversas clínicas de hemodiálise, variou de 6 a 72%, sendo o valor médio de 52% (Medeiros *et al.*, 2004).

1.2.5 Transmissão

Demonstrou-se que o VHC é o agente causal de mais de 90% das hepatites pós-transfusionais. Assim, todas as pessoas que receberam transfusão de sangue ou hemoderivados até o início dos anos 90, com ou sem história de hepatite pós-transfusional, devem ser avaliadas para a provável contaminação com o VHC (WHO, 1999).

No Brasil, a partir de 1993, há a obrigatoriedade dos testes sorológicos (anti-VHC) em candidatos a doação de sangue. Assim, a hepatite pós-transfusional tornou-se rara, mas outros meios, parenterais ou não, continuam a disseminar a doença. Além dos produtos do sangue, agulhas e seringas contaminadas são vias importantes. Outras formas parenterais de contaminação são os procedimentos médicos, odontológicos, de acupuntura ou de tatuagem. Portanto, qualquer material cortante ou perfurante pode ser veículo transmissor do vírus, como o alicate da manicure, a lâmina do barbeiro ou mesmo a escova de dentes, compartilhada por cônjuges e/ou filhos (Strauss, 2001).

Nos Estados Unidos, 60% da transmissão da infecção pelo VHC ocorre entre usuários de drogas injetáveis, 20% por transmissão sexual e 10% por outras formas de exposição conhecidas, tais como: ocupacional, hemodiálise e perinatal (Alter, 1999).

1.2.6 Diagnóstico Laboratorial

Os testes de diagnóstico para hepatite C podem ser divididos em duas categorias gerais: (i) ensaios sorológicos que detectam anticorpos para o VHC e (ii)

ensaios moleculares que detectam, quantificam e/ou caracterizam o genoma do VHC em pacientes infectados (Gretch, 1997).

Os ensaios sorológicos incluem: os testes de triagem baseados em ensaios imunoenzimáticos (EIE) e os ensaios analíticos complementares (confirmatórios) baseados no teste de imunoblot (Pawlotsky, 1997).

O primeiro jogo de clones obtido do genoma do VHC foi utilizado para desenvolver um ensaio sorológico para a detecção da infecção pelo vírus. Um EIE de primeira geração, em que a c100-3-superóxido dismutase humana, uma proteína recombinante, era a fonte do antígeno, tornou-se comercialmente disponível em 1990. Este ensaio era o meio mais eficaz para reduzir o risco da transmissão de VHC entre os doadores do sangue, impedindo novas infecções pelo vírus. O desenvolvimento do EIE de segunda geração, que utilizam antígenos múltiplos levou ao aumento da sensibilidade. O teste sorológico confirmatório é o imunoblot, usado para a sororreatividade contra antígenos específicos do VHC (Urdea *et al.*, 1997).

Os ensaios moleculares incluem a detecção de RNA do VHC, os ensaios quantitativos de carga viral, um parâmetro que estima o nível de replicação viral no fígado, e os testes de análise da sequência genômica do VHC, denominados ensaios de genotipagem (Pawlotsky, 1997).

Atualmente, diversos testes qualitativos comerciais estão disponíveis para a amplificação do ácido nucleico do VHC. Testes qualitativos para amplificação de ácido nucleico são utilizados rotineiramente para auxiliar no diagnóstico da infecção pelo VHC. Estes testes também são considerados os mais sensíveis para o diagnóstico da infecção (Podzorski, 2002).

A análise da carga viral do VHC é um dos procedimentos mais comuns utilizados em laboratórios de biologia molecular. A carga viral tem sido correlacionada com a resposta à terapia antiviral (Podzorski, 2002).

Quanto mais baixo o nível do vírus no início da terapia, maior a taxa de resposta à terapia e melhor a possibilidade de uma resposta em longo prazo (normalização da taxa sérica da Alanina-aminotransferase (ALT) e nenhum RNA do VHC detectável após 06 meses da conclusão da terapia), pois alguns genótipos do VHC respondem muito melhor a terapia diminuindo o tempo de tratamento. Atualmente há disponível no mercado três metodologias para quantificação da carga viral do VHC: O Roche (Belleville, NJ, USA) - AMPLICOR manual e o ensaio COBAS HCV; O ensaio Bayer (Norwood, Mass, USA) - QUANTIPLEX HCV RNA versão 3.0 (*branched* DNA [bDNA]); e o Biomerieux (Marcy-l'Étoile, France) NucliSens que utiliza a metodologia de amplificação baseada na sequência do ácido nucléico (Podzorski, 2002).

1.3. ESTUDO DA CO-INFECÇÃO HIV-1/VHC

1.3.1. Aspectos Epidemiológicos da Co-infecção

A co-infecção HIV-1/VHC é comum e afeta mais de um terço de todas as pessoas infectadas pelo HIV ao redor do mundo. A prevalência entre as categorias de risco varia de acordo com os fatores de risco para a transmissão, envolvendo os usuários de drogas injetáveis e hemofílicos (Bruno *et al.*, 2002).

Em um estudo em Madrid, Espanha, foi analisada a soroprevalência de anticorpos anti-VHC em 95 usuários de drogas injetáveis, onde 66 (69,5%) apresentaram anticorpos contra o VHC e 55 (58%) apresentaram anticorpos contra o HIV. É notável que 45 (81,8%) dos 55 pacientes HIV positivos tenham sido também

positivos para o VHC. A prevalência elevada de anticorpos anti-VHC entre usuários de drogas injetáveis mostra a disseminação elevada entre este grupo populacional. Esta associação aumenta se os pacientes forem também positivos para o HIV (Delgado-Iribarren *et al.*, 1991).

Para determinar a prevalência do VHC em pacientes infectados pelo HIV-1, 92 pacientes do hospital Bichat-Claude Bernard, Paris, França, foram testados, sendo detectado a presença de anti-VHC em dezessete indivíduos (18,48%) (Fegueux *et al.*, 1991).

Para se determinar a prevalência de anticorpos anti-VHC em 53 indivíduos de soropositivos para HIV-1 em Augsburg, Alemanha, soros foram testados. Vinte e sete (51%) de todos os pacientes HIV-1 positivos testados foram positivos para o VHC. A soropositividade, de acordo com os fatores de risco, revelou que 83% (20/24) eram usuários ou ex-usuários de drogas endovenosas, 60% (3/5) haviam recebido transfusão sanguínea, 18% (3/17) eram homossexuais e 14% (1/7) eram heterossexuais (Wedel *et al.*, 1992).

Um estudo retrospectivo em Washington-EUA, com soro de 135 pacientes infectados pelo HIV-1, foi feito para determinar a prevalência de VHC, sendo encontrado 41% dos pacientes positivos para VHC (Walshe *et al.*, 1993).

Para estudar a prevalência da co-infecção HIV-1/VHC em pacientes usuários de drogas injetáveis, soropositivos para HIV-1, em Cadiz, Espanha, 23 soros de pacientes do sexo masculino foram investigados para a presença da anti-VHC. A investigação sorológica foi realizada pelo método de EIE e confirmada por imunoblot e pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Dos 23 pacientes, 19 (82,6%) apresentaram anticorpos contra o VHC e 22 (95,6%) foram positivos na PCR. Nos

pacientes usuários de drogas, a infecção de VHC é geralmente virêmica, embora possam ser negativos para a presença de anticorpos (Perez-Gracia *et al.*, 1996).

Em Paris foram analisadas 500 pacientes soropositivos para HIV-1, sendo encontrada uma prevalência de 31,4% para VHC, com 71,6% dos positivos infectados pelo HIV-1 por via sanguínea (Denis *et al.*, 1997).

De uma amostra de 3.048 indivíduos infectados pelo HIV-1 na Europa, 1.009 (33%) foram positivos para anti-VHC e mais de 3/4 dos usuários de drogas injetáveis testados apresentaram anticorpos contra o VHC (Stubbe *et al.*, 1998).

A hepatite C é mais freqüente nos pacientes soropositivos para o HIV. Em um estudo feito com 482 pacientes portadores do HIV em Rosário, Argentina, 56% apresentaram sorologia positiva para o VHC diferindo significativamente do resultado de 1% encontrado na população geral. Na avaliação da incidência de infecção pelo VHC em 65 pacientes positivos para o HIV (48 do sexo masculino e 17 do sexo feminino), anticorpos e RNA-VHC foram detectados em 20 (31%) pacientes. A incidência de VHC em pacientes HIV positivos com diagnóstico recente foi menor do que a relatada anteriormente (Agostini *et al.*, 1998).

A co-infecção HIV-1/VHC é comum, provavelmente devido à rota de transmissão compartilhada desses vírus. Nos Estados Unidos, estima-se que o número de pacientes HIV-1 positivos co-infectados com VHC pode ser de aproximadamente 240.000, resultando em uma prevalência de 30%. Entretanto, a prevalência da co-infecção HIV-1/VHC varia substancialmente entre os diversos grupos. Na maioria a prevalência do VHC entre portadores de HIV usuários de drogas injetáveis varia de 50% a 90% (Thomas *et al.*, 1996; CDC, 1999b).

A melhoria na qualidade de vida e na sobrevivência de indivíduos infectados pelo HIV desde o início da epidemia tem sido principalmente atribuída à terapia antiretroviral altamente ativa (HAART), pela prevenção continuada e pelo tratamento das infecções oportunistas. Como as complicações relacionadas ao fígado contribuem de forma acentuada para a mortalidade de indivíduos com a infecção pelo HIV-1, a infecção pelo VHC é agora considerada uma infecção oportunista nessa população (CDC, 1999a).

Um estudo realizado na Grécia em 181 pacientes portadores do HIV-1 demonstrou uma soroprevalência de 13,8% para o VHC, sendo que 58,3% dos soropositivos eram usuários de drogas endovenosas e 45,5% relataram ter feito transfusão sanguínea. A prevalência de anticorpos para VHC não houve diferença significativa entre os grupos homossexuais, bissexuais e heterossexuais (Dimitrakopoulus *et al.*, 2000).

Em um estudo de coorte conduzido em 3.048 pacientes na Europa, a prevalência da co-infecção foi de 33%, chegando a 70% em toxicômanos (Sadr & Perrone, 2002).

Na Austrália, foram recrutados 2.086 indivíduos registrados da Base de Dados Observacional do HIV-1 na Austrália (AOHD), sendo 1.702 indivíduos testados para anti-VHC. Destes, 223 apresentaram sorologia positiva para anti-VHC, com uma prevalência de 13,1% entre os voluntários testados. Essa prevalência da co-infecção pelo VHC na Austrália contrasta com os 20-30% observados em países como Estados Unidos, Espanha e Itália, onde o uso de drogas injetáveis contribui amplamente para co-infecção pelo HIV-1/VHC (Lincoln *et al.*, 2003).

A infecção pelo VHC é freqüentemente descrita entre pacientes portadores do HIV-1, especialmente entre aqueles infectados por via parenteral. Em um estudo realizado em Belo Horizonte, a prevalência encontrada da co-infecção HIV-1/VHC foi de 14,8% (96/650) com grande associação ao uso de drogas endovenosas, transfusão sanguínea e hemofilia (Carmo *et al.*, 2000).

Informações limitadas estão disponíveis sobre a infecção pelo VHC nos pacientes soropositivos para o HIV-1 no Brasil. Em um estudo realizado na Escola Paulista de Medicina da Universidade de São Paulo, de janeiro a dezembro de 1996, 1.457 pacientes (1009 homens e 448 mulheres) foram atendidos na clínica de atendimento a pacientes com AIDS e foram testados para infecção pelo VHC, por meio dos métodos de ELISA e da *Nested* PCR. A prevalência de soropositivos para VHC foi de 17,7% (258 pacientes). Desses, 82 pacientes foram submetidos a *Nested* PCR, sendo o resultado positivo em 81 (98%) (Corrêa *et al.*, 2001).

Em Belém-PA, um estudo com 406 indivíduos portadores do HIV-1 a prevalência encontrada para o VHC foi de 16%, com prevalência de 83,7% entre usuários de drogas endovenosas e 22,1% entre transfundidos (Monteiro *et al.*, 2004).

1.3.2 O impacto da co-infecção VHC/HIV-1

A infecção pelo VHC é comum em pessoas com a infecção pelo HIV-1, especialmente naqueles pacientes que sofreram transfusão sanguínea ou tiveram história de uso de drogas injetáveis (Monteiro *et al.*, 2004).

A influência da infecção pelo VHC sobre os pacientes soropositivos para HIV-1 não está clara. Piroht *et al.* (1998) investigaram o impacto da infecção pelo VHC sobre a evolução da contagem de linfócitos T CD4⁺ em pacientes HIV-1 soropositivos,

bem como na evolução clínica. Neste estudo, 496 pacientes HIV-1 soropositivos foram selecionados, sendo que desses, 181 eram VHC soropositivos (36,5%). Foram incluídos no estudo de coorte, 119 pacientes VHC positivos e 119 VHC negativos. Concluiu-se que a progressão clínica da infecção pelo HIV foi mais rápida em pacientes co-infectados pelo HIV-1/VHC do que em pacientes infectados apenas pelo HIV. A infecção pelo VHC pareceu ser um fator de risco significativo em pacientes no estágio inicial da infecção pelo HIV-1 (Piroht *et al.*, 1998).

Embora a infecção pelo HIV-1 inicialmente acelere a progressão da doença pelo VHC, o impacto reverso, isto é, o efeito do VHC sobre a história natural da infecção pelo HIV-1 é incerto e tem sido contestado (Sulkowski *et al.*, 2000). A maioria dos estudos falha em demonstrar uma alteração direta do curso da infecção pelo HIV-1 e da progressão para SIDA/AIDS na presença da co-infecção pelo VHC. No entanto, tem sido sugerido que talvez o valor prognóstico do VHC possa ser mais significativo no estágio inicial da infecção pelo HIV-1. Em uma análise retrospectiva de indivíduos co-infectados por HIV-1/VHC e de indivíduos controles infectados pelo HIV-1, o VHC foi um preditor independente, tanto da progressão clínica quanto imunológica naqueles pacientes com uma contagem inicial de células T CD4⁺ em torno de 600×10^6 células/L (Mandana & Behm, 2002).

O VHC emergiu como o principal patógeno entre os pacientes portadores da infecção pelo HIV-1. A morbidade e a mortalidade foram comparadas entre 263 pacientes somente com HIV-1, 166 pacientes co-infectados HIV-1/VHC, e entre 60 pacientes somente com VHC. Não foram observadas diferenças na carga viral do HIV-1 e na contagem de linfócitos T CD4⁺ entre os grupos HIV-1 e HIV-1/VHC. Descompensação hepática desenvolveu-se em 10% dos pacientes com a co-infecção

HIV/VHC. Em contraste, nenhuma morte ou descompensação hepática foi observada em pacientes sem a co-infecção. Dos pacientes com somente HIV-1, 7% morreram, comparados com 11% dos pacientes co-infectados; sendo que 47% das mortes no último grupo foram decorrentes de falência hepática. Em resumo, a infecção pelo VHC causa aumento da morbidade e mortalidade em pacientes infectados pelo HIV-1 (Monga *et al.*, 2001).

Para se estimar a influencia do VHC sobre a história natural da infecção pelo HIV-1, um estudo longitudinal foi conduzido entre 416 indivíduos infectados pelo HIV-1 através de uso de drogas injetáveis ou por meio da via sexual e com datas de soroconversão desconhecidas. Os pontos de referência foram o diagnóstico da infecção pelo HIV-1 e a contagem dos linfócitos T CD4⁺ menor que 100×10^6 células/L. Anticorpos anti-VHC foram detectados em 214 pessoas (51,4%). A média de perda de células T CD4⁺ foi de 4.83×10^6 células/L por mês entre os indivíduos co-infectados e de 5.70×10^6 células/L por mês entre os outros. Estes resultados sugerem que a co-infecção com o VHC, não influencia a progressão clínica e imunológica da infecção pelo HIV (Dorrucci *et al.*, 1995).

1.4 OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo Geral

Realizar um estudo soroepidemiológico da co-infecção HIV-1/VHC no Estado do Amapá, em pacientes atendidos no Serviço de Assistência Especializada do Estado.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Determinar a soroprevalência de anti-VHC nos pacientes portadores do HIV-1 e/ou com SIDA/AIDS;
- Avaliar os principais fatores de risco para a co-infecção HIV-1/VHC;
- Avaliar o impacto da co-infecção pelo VHC nos níveis de carga viral plasmática do HIV-1 nos pacientes portadores do HIV-1 e/ou com SIDA/AIDS;
- Avaliar o impacto da co-infecção VHC nos níveis de linfócitos T CD4⁺/ T CD8⁺ nos pacientes portadores do HIV-1 e/ou com SIDA/AIDS.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRA POPULACIONAL

Amostras de sangue de 120 pacientes soropositivos para o HIV-1, residentes no Estado do Amapá, foram coletadas no período janeiro a setembro de 2004.

Todos os pacientes foram atendidos no Serviço de Assistência Especializada (SAE), localizado em Macapá, Estado do Amapá. Todos os pacientes, após serem esclarecidos sobre o objetivo da pesquisa, preencheram uma ficha epidemiológica com informações relevantes para a conclusão e discussão do trabalho e assinaram (ou o seu representante legal) um termo de consentimento livre e esclarecido (anexo).

2.2 COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue (5 mL) de 120 pacientes portadores do HIV-1 foram coletadas por punção venosa em dois tubos *Vacutainer (Becton Dickson)*: um contendo EDTA como anticoagulante objetivando as análises de linfocitometria (sangue total) e de quantificação dos níveis de carga viral plasmática do HIV-1 e outro, sem anticoagulante, para a obtenção do soro visando a pesquisa de anticorpos anti-VHC.

2.3 MÉTODOS

2.3.1 Ensaio Imunoenzimático (EIE)

Como teste sorológico para a detecção de anticorpos anti-VHC, foi utilizado um ensaio imunoenzimático da *Ortho Diagnostic EIA - ORTHO VHC 3.0 Test System, USA* (ORTHO-CLINICAL DIAGNOSTICS, 2001).

O ensaio imunoenzimático se desenvolve em três etapas em placas contendo micropoços recobertos com uma combinação de antígenos recombinantes do VHC (c22-3, c200, e NS5).

Durante a primeira etapa do teste incubou-se as amostras (soro) e os controles em micropoços da placa do teste por 60 minutos.

Na segunda etapa do teste, acrescentou-se aos micropoços um anticorpo monoclonal conjugado com peroxidase.

Na terceira etapa adicionou-se aos micropoços um sistema de detecção da enzima, um composto de O-Fenilenodiamina (OPD) e peróxido de hidrogênio.

A intensidade da cor depende da quantidade de conjugado ligado e é, portanto, função da concentração de anti-VHC presente na amostra. A intensidade da cor foi medida com um leitor de microplacas Reader 230-S com filtro de comprimento de onda de 492nm.

2.3.2 Citometria de Fluxo

Amostras de sangue total (5 mL) foram processadas em até quatro horas após a coleta. A contagem de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺ foi determinada por meio de citometria de fluxo (*FacsCount*, *Becton & Dickinson*, *USA*) usando o kit de imunomonitoramento da *FacsCountTM Reagents* de acordo com o protocolo do fabricante (Becton Dickinson, 1993).

Adicionou-se 50uL de amostra com sangue total no tubo contendo anti-CD4 e 50uL de amostra com sangue total no tubo contendo anti-CD8, agitou-se em vortex e incubou-se por uma hora. Após a incubação adicionou-se 50uL da solução

fixadora em cada tubo, agitando-se em vortex e em seguida foi feita a leitura no citômetro de fluxo *FacsCount*, *Becton & Dickinson*. (Becton Dickinson, 1993).

2.3.3 Quantificação da Carga Viral Plasmática do HIV-1

A quantificação dos níveis de carga viral plasmática do HIV-1 foi baseada na metodologia NASBA usando o kit da *NucliSensTM Nasba Diagnostics*. A seqüência da metodologia para a quantificação da carga viral foi de acordo com o manual de instruções do fabricante (Nuclisens NAsba Diagnostics, 2000).

Esta técnica dividiu-se em três etapas, sendo que a primeira, denominada de isolamento, age na separação e purificação do RNA viral do HIV-1. Na segunda etapa, denominada de amplificação, ocorrer a formação de milhões de cópias do RNA viral isolado. Na terceira etapa, detecção, ocorre a hibridização das seqüências amplificadas por meio de sondas, e a leitura do material amplificado por meio de eletroquimioluminescência no aparelho Nuclisens Reader (Nuclisens Nasba Diagnostics, 2000).

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As informações das amostras, bem como os resultados dos ensaios foram armazenados em um banco de dados no Microsoft Access e as análises estatísticas de associação e de correlação entre os parâmetros laboratoriais avaliados foram realizadas por meio dos testes de Kolmogorov Smirnov para se avaliar a possível associação de variáveis independentes com a presença da co-infecção HIV-1/VHC na população em estudo. Também aplicou-se o teste de Risco Relativo (RR) para se estudar a relação da

prevalência de anticorpos contra o VHC e os fatores de risco de exposição. Os dados obtidos foram analisados no programa Bioestat 3.0 (Ayres *et al.*, 2003).

3. RESULTADOS

3.1 SOROPREVALÊNCIA

Os resultados apresentados neste trabalho fazem parte de uma investigação realizada em portadores do HIV-1, atendidos no Serviço de Assistência Especializada do Município de Macapá-AP.

Do total de 120 amostras testadas por EIE para presença de anticorpos contra o VHC apenas 07 apresentaram resultado reagente, resultando em uma prevalência de 5,83% para a presença de anti-VHC. A média de idade da população foi de 32,64 anos com desvio padrão de 10,50 e mediana de 30 anos.

No gênero masculino a prevalência foi de 6,34% e no feminino de 5,17% (teste binomial; $p=0,3826$). Quando distribuídos por faixa etária, no gênero masculino todas as amostras reagentes para anti-VHC encontravam-se na faixa de 21 a 40 anos, enquanto que no sexo feminino, uma encontrava-se na faixa de 21 a 40 anos e duas na faixa de 41 a 60 anos (Teste de Kolmogorov Smirnov; $p=0,9695$). A distribuição da prevalência de anticorpos contra o VHC de acordo com a faixa etária e o gênero está demonstrada na Tabela 1.

Levando-se em consideração a preferência sexual da população estudada, 75% referiram comportamento heterossexual, seguido de 16,67% homossexual, 6,67% bissexual e 1,67% ignorada. A opção sexual não apresentou correlação com a presença de anticorpos anti-VHC na população estudada (Teste de Kolmogorov Smirnov, $\chi^2=0,3750$ e $p=0,8290$). A Tabela 2 apresenta a distribuição de anti-VHC de acordo com o gênero e a opção sexual.

Tabela 1 - Distribuição do anti-VHC de acordo com o gênero e a faixa etária

Idade	Masculino			Feminino			Total		
	N°	Reagente	%	N°	Reagente	%	N°	Reagente	%
0-20	01	00	00	04	00	00	05	00	00
21-40	43	4	9,3	42	01	2,38	85	05	5,88
41-60	15	00	00	08	02	25	24	22	8,33
>60	01	00	00	02	00	00	03	00	00
Não Inf.	02	00	00	02	00	00	04	00	00
Total	62	04	6,34	58	03	5,17	120	07	5,83

Tabela 2 - Distribuição de anti-VHC de acordo com o gênero e a opção sexual

Preferência Sexual	Masculino			Feminino			Total		
	N°	Reagente	%	N°	Reagente	%	N°	Reagente	%
Homossexual	19	02	10,53	01	00	00	20	02	10,00
Heterossexual	35	02	5,71	55	03	5,45	90	05	5,55
Bissexual	07	00	0,00	01	00	00	08	00	0,00
Ignorado	01	00	0,00	01	00	00	02	00	0,00
Total	62	04	6,34	58	03	5,17	120	07	5,83

Quando associados ao grau de escolaridade, a prevalência para anti-VHC encontrada foi de 9,43% (5/58) entre indivíduos com até o 1º grau, e 5,71% (2/37) entre aqueles com até o 2º Grau e não foram encontradas amostras reagentes entre os

indivíduos com até 3º Grau (0/13) e entre os (0/12) que apresentaram a escolaridade ignorada, conforme descrito na Figura 5. Não houve significância da soropositividade para o VHC com relação a escolaridade (Teste de Kolmogorov Smirnov, $p=0,4525$).

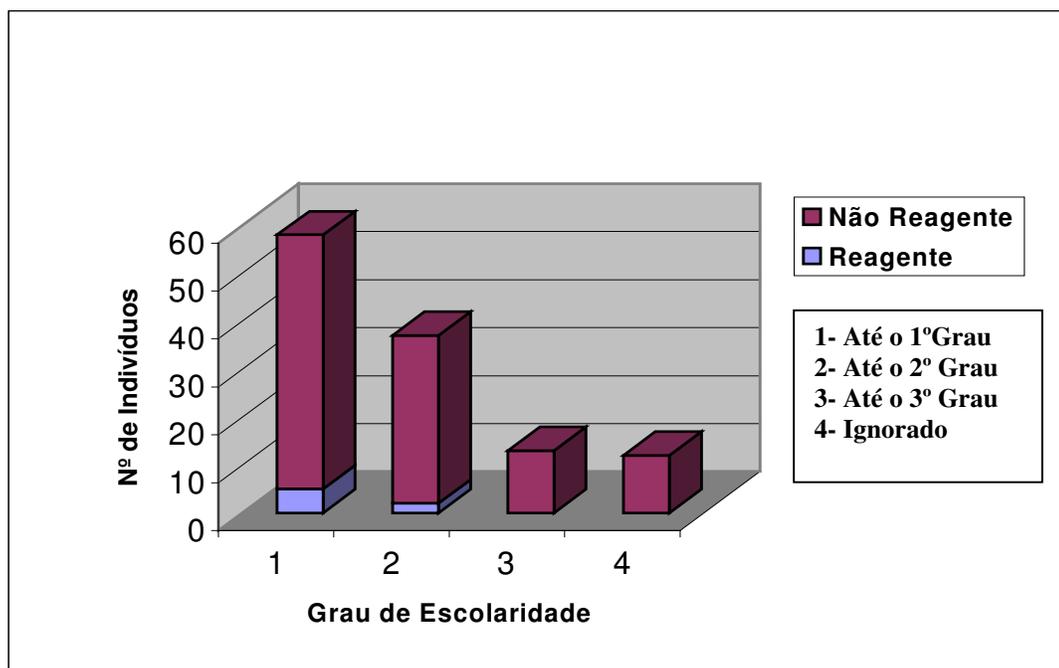


Figura 5 - Distribuição do anti-VHC de acordo com o grau de escolaridade.

3.2 FATORES DE RISCO ASSOCIADOS

Os pacientes foram classificados de acordo com fatores de risco de exposição ao VHC. A prevalência de anti-VHC entre usuários de drogas injetáveis foi de 31,25%, com uma taxa de risco relativo de 5 vezes maior que os indivíduos que negaram ser usuários ($p<0,05$).

A utilização de piercing apresentou uma prevalência de 100% com fator de risco diferenciado ($p<0,01$) em relação aos demais grupos. Na Tabela 3 estão classificadas as prevalências de acordo com os fatores de exposição investigados.

O uso de tatuagem apresentou uma prevalência de 12,12%, não sendo significativo com relação aos indivíduos que não relataram seu uso ($p=0,0847$) com prevalência de 3,44%.

Tabela 3 - Fatores de risco e distribuição da prevalência do *Vírus da hepatite C* (VHC)

Fator de Risco	Presença do Fator de Risco				Ausência do Fator de Risco			
	Nº	Reagente	Não Reagente	%	Nº	Reagente	Não Reagente	%
Receptores de Sangue ou hemoderivados	30	02	28	6,66	90	05	85	5,55
Usuários de Drogas injetáveis	16	05	11	31,25	104	02	102	1,92
Relatos de DST	30	02	28	6,67	90	05	85	5,55
Medicamentos Injetáveis	27	02	25	7,41	93	05	88	5,38
Cirurgias	33	03	30	9,09	87	04	83	4,60
Tratamento Dentário	76	02	74	2,63	44	05	39	11,36
Tatuagem	33	04	29	12,12	87	03	84	3,44
Piercing	03	03	00	100	117	04	113	3,41
Acidente Percutâneo	09	01	08	11,11	111	06	105	5,41
Contato com pacientes portadores de VHB/VHC	08	01	07	12,50	112	06	106	5,36

3.3 ASSOCIAÇÃO DA CARGA VIRAL DO HIV-1 E DA CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4⁺ COM A PRESENÇA DE ANTI-VHC

Durante o trabalho foi realizado o teste de quantificação de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺. A média de linfócitos T CD4⁺ entre as amostras reagentes para VHC

foi de 325,85 células/mm³ e entre as amostras não reagentes foi 310,05 células/mm³. Posteriormente avaliados quanto à associação com a presença de anticorpos anti-VHC, seguindo os critérios de definição de casos de AIDS em adultos e crianças do Ministério da Saúde, as amostras foram divididas em dois grupos (Ministério da Saúde, 2004b) conforme descrito na Tabela 4. Obteve-se uma prevalência de 7,04% entre indivíduos com a contagem de linfócitos T CD4⁺ menor que 350 células/mm³ e 4,08% entre aqueles com contagem maior que 350 células/mm³, não demonstrando interferência da presença de anticorpos anti-VHC nos valores da contagem de linfócitos T CD4⁺ entre os dois grupos (*Odds Ratio*=1,7803; *p*=0,7764).

Tabela 4 - Distribuição do anti-VHC de acordo com os valores de contagem de linfócitos T CD4⁺.

Idade	Masculino			Feminino			Total		
	N	Reagente	%	N	Reagente	%	N	Reagente	%
<350	42	03	7,14	29	02	6,90	71	05	7,04
>350	20	01	5,00	29	01	3,45	49	02	4,08
Total	62	04	6,45	58	03	5,17	120	07	5,83

N= Número de indivíduos pesquisados. %Prevalência para anti-VHC

As amostras foram testadas para a quantificação de carga viral para o HIV-1 e as prevalências estão descritas na Tabela 5. A amostra foi dividida em dois grupos, com carga viral indetectável (<80 cópias/mL) e carga viral detectável (>80 cópias/mL). A média dos valores de carga viral para HIV-1 entre as amostras reagentes para VHC foi de 52.887,14 cópias/mL e entre os não reagentes foi de 88.081,86

cópias/mL. Quando avaliada quanto ao impacto da co-infecção HIV-1/VHC nos níveis de carga viral plasmática do HIV-1 no grupo estudado, este não apresentou resultado significativo (*Odds Ratio*=2,7368; *p*=0,3624).

Tabela 5 - Distribuição do anti-VHC de acordo com os valores de carga viral para o HIV-1

Carga Viral	Masculino			Feminino			Total		
	Nº	Reagente	%	N	Reagente	%	N	Reagente	%
<80 cópias/mL	22	01	4,55	20	03	15	42	04	9,52
>80 cópias/mL	40	03	7,50	38	00	00	78	03	3,85
Total	62	04	6,45	58	03	5,17	120	07	5,83

4. DISCUSSÃO

4.1 SOROLOGIA PARA ANTI-VHC

Os resultados do presente estudo, obtidos pelos testes de EIE, mostraram valores de soroprevalência de 5,83% da infecção pelo VHC. Esse valor encontra-se muito abaixo dos 18,48% a 82,6% encontrados em várias regiões geográficas, tais como: França – 18,48% (Feugeux *et al.*, 1991); Alemanha - 51% (Wedel *et al.*, 1992); EUA - 41% (Walshe *et al.*, 1993); Porto Rico - 82,6% (Perez-Garcia *et al.*, 1996) e Europa - 33% (Stubbe *et al.*, 1998).

Quando comparados com estudos no Brasil os dados apresentam discordância. Corrêa *et al.* (2001) encontraram uma prevalência de anticorpos anti-VHC de 17,7% em São Paulo, Carmo *et al.* (2000) encontraram, em Belo Horizonte, 14,8% de co-infecção VHC/HIV-1 e Monteiro *et al.* (2004) encontraram em Belém do Pará uma prevalência para anti-HCV de 16% entre os portadores do HIV-1. Contudo, o valor de 5,8% de soroprevalência de anti-VHC, aqui encontrados, está próximo a estimativa de 0% a 3,6% da infecção pelo VHC na Amazônia Brasileira (Souto *et al.*, 1996; 1999; Ferrari *et al.*, 1999; Vallinoto., 2003). Assim sendo, o baixo valor de soroprevalência da infecção pelo VHC encontrado no presente estudo deve ser reflexo da epidemiologia desta infecção no Estado do Amapá. Ademais, não foi encontrada nenhuma associação estatisticamente significativa da prevalência da co-infecção HIV-1/VHC com sexo, idade, escolaridade e opção sexual na população estudada.

4.2 FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À CO-INFECÇÃO HIV-1/VHC

A infecção pelo VHC é, freqüentemente, descrita entre pacientes portadores do HIV-1, especialmente entre os infectados por via parenteral (Carmo *et al.*, 2000), o que reflete a rota de transmissão compartilhada por estes vírus.

Quanto a avaliação dos fatores de risco associados, não foi encontrada uma associação significativa entre receptores de sangue e/ou hemoderivados 6,66% ($p=0,4110$). Esses resultados discordam dos achados de Wedel *et al.* (1992) que encontraram 60% de prevalência neste grupo. Na Grécia, Dimitrakoulus *et al.* (2000) evidenciaram uma soroprevalência de 45,5% entre aqueles indivíduos que receberam transfusão de sangue e/ou de hemoderivados. Da mesma forma, Monteiro *et al.* (2004) encontraram em Belém (Pará) 83,7% de co-infecção entre os indivíduos que mencionaram ter recebido transfusão. Entretanto, os nossos resultados são próximos àqueles encontrados por Corrêa *et al.* (2001) que descreveram uma prevalência de 4,7% da co-infecção HIV-1/VHC em indivíduos transfundidos de São Paulo.

A transmissão do VHC é primariamente descrita por troca de sangue contaminado, contudo rotas alternativas tem sido sugeridas para explicar os casos de infecção em indivíduos que relatam não terem feito uso de drogas injetáveis, bem como terem recebido transfusão sanguínea e/ou de hemoderivados (Massad *et al.*, 1999). Durante a entrevista, foi perguntado aos pacientes quanto à utilização de *piercing*. Três pacientes responderam afirmativamente, sendo todos soropositivos para anti-VHC. Relatos de outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), do uso de medicamentos injetáveis, de cirurgias, de tratamento dentário, de tatuagem, de acidente percutâneo e de

contato com pacientes portadores do VHC e VHB, não apresentaram resultados significantes.

Dentre os indivíduos que relataram fazer uso de drogas injetáveis a prevalência de 31,25% diferiu significativamente do grupo que não relatou fazer uso de este tipo de droga 1,92 ($p < 0,001$), corroborando com a literatura apesar de apresentar-se abaixo da encontrada em outras regiões quando associadas a este fator de risco, tais como: na Grécia onde a prevalência foi maior do que 75% (Stube *et al.*, 1998); no Estados Unidos com prevalência estimada entre 50 e 90% (Thomas *et al.*, 1996b); em São Paulo com 58,5% (Corrêa *et al.*, 2001) e em Belém-PA com 83,7% no referido grupo (Monteiro *et al.*, 2004)

4.3 A RELAÇÃO DA CO-INFECÇÃO COM OS MARCADORES DE PROGRESSÃO DA INFECÇÃO PELO HIV-1

O impacto da co-infecção pelo VHC em pacientes portadores do HIV-1 ainda não está totalmente compreendido. Neste trabalho foram realizados, em todas as amostras, os testes de quantificação da carga viral para o HIV-1 e de contagem de linfócitos T CD4⁺/T CD8⁺, com o objetivo de se avaliar o impacto da co-infecção nestes parâmetros.

As análises estatísticas não mostraram nenhuma significância da presença da co-infecção HIV-1/VHC nos valores da carga viral para o HIV-1 e nos de linfócitos T CD4⁺/T CD8⁺. A influência da infecção pelo VHC sobre a progressão da AIDS é contestada, uma vez que grande parte dos estudos tem falhado em estabelecer qualquer tipo de associação (Sulkowski *et al.*, 2000; Mandana & Behn, 2002). Dorrucchi *et al.* (1995), em um estudo prospectivo, não perceberam diferenças na depleção de

linfócitos T CD4⁺ entre os pacientes portadores e não portadores da co-infecção HIV-1/VHC, sugerindo assim, que a infecção pelo VHC não influencia a progressão clínica da infecção pelo HIV-1. Assim sendo, os resultados aqui obtidos parecem apoiar essa hipótese, entretanto, vale ressaltar que o número de pacientes co-infectados foi pequeno, não sendo possível fazer uma comparação precisa com o grupo de não co-infectados.

O presente estudo representa os primeiros achados acerca da co-infecção VHC/HIV-1 no Estado do Amapá e demonstra a necessidade de um estudo continuado e prospectivo, envolvendo um tamanho amostral maior, para que se possa confirmar a prevalência aqui descrita e determinar se a co-infecção exerce algum papel na história natural da infecção pelo HIV-1.

5. CONCLUSÕES

1. A prevalência encontrada de 5,83% de co-infecção HIV-1/VHC apresentou-se mais baixa do que os dados encontrados em outros estudos, mostrando uma característica diferenciada quanto a prevalência global desta co-infecção entre os indivíduos portadores da infecção pelo HIV no Estado do Amapá;
2. Quanto ao perfil da população investigada, não foi observada significância da soropositividade para o VHC quanto ao gênero, a idade, a escolaridade e a opção sexual;
3. Dentre os fatores de riscos investigados, o uso de drogas injetáveis apresentou valores significativos, corroborando a literatura e demonstrando a importância desta via de transmissão para o VHC;
4. Outro fator de risco importante, associado à co-infecção, foi a utilização de *piercing*;
5. A avaliação do impacto da co-infecção HIV-1/VHC nos valores da quantificação de Carga Viral para o HIV-1 e contagem de linfócitos T CD4⁺/T CD8⁺ mostrou resultados não significativos, o que pode estar associado ao reduzido número de amostras positivas para a co-infecção VHC/HIV-1.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINI, M.C., LUPO, S., BORTOLOZZI, R., PALAZZI, J., SABATO, F., PELIZZARI, A., BARAVALLE, E. Hepatitis C in HIV positive patients of recent diagnosis. *International Conference of AIDS*. 12: 543, 1998.
- ALTER, M.J. Hepatitis C virus infection in the United States. ***Journal of Hepatology***. 31:88-91, 1999.
- AYRES, M., AYRES Jr., M., AYRES, D. L. Bioestat 3.0 Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Brasília; Sociedade Civil Mamirauá-CNPq, 2003. 290p.
- BARBOSA, A.P., MARTINS, R.M.B., TELES, S.A. SILVA, S.A. OLIVEIRA, J.M., YOSHIDA, C.F.T. Prevalence of Hepatitis C Virus Infection among Hemophiliacs in Central Brazil. ***Memórias do Instituto Oswaldo Cruz***, 97: 643-644, 2002.
- BARRE-SINOUSI, F., CHERMANN, J.C., REY, F., NUGEYRE, M.T., CHAMARET, S., DAUGET, C., GRUEST, J., ALEXER-BLIN, C., VEZINET-BRUN, F., ROUZIOUX, C., ROZEMBAUM, W., MONTAGNIER, L. Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency Syndrome (AIDS). ***Science, New Series***, 220:868-871, 1983.
- BARTENSCHLAGER, R., LOHMANN, V. Replication of hepatitis C virus. ***Journal of General Virology***, 81: 1631-1648, 2000.
- BECTON DICKINSON IMMUNOCYTOMETRY SYSTEMS. Simultest™ CD4/CD8 (Leu™ -3a/2a) Reagent. For In Vitro Diagnostic Use 50 Tests per vial—Catalog No. 340039. 1993.

- BERKHOUT, B., JEANG, K.T. Functional roles of the TATA promoters and enhancers in basal and Tat induced expression of the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat. **Journal of Virology**, 66:139-149, 1992.
- BRUNO, R., SACCHI, P., PUOTI, M., SORIANO, V., FILICE, G. VHC chronic hepatitis in patients with HIV: clinical management issues. **The American Journal of Gastroenterology**, 97: 1598-1606, 2002.
- CARMO, B.A., LIMA, A.A., ANDRADE C.A., OLIVEIRA J.G.F., SANTI, L.Q., BICALHO, H.N.C., SILVA, S.M.N. Epidemiological study of hepatitis C virus (VHC)/HIV coinfection in Brazil. *In: Resume of The XIII International AIDS*, wEoRa531, 2000.
- CDC - CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Hepatitis C: Epidemiology prevalence of VHC. **http://www.cdc.gov/ncdi/diseases/hepatitis/c_training/edu/1/epidem-prev-table-1.htm**. Acesso em 08 de maio de 2004.
- CDC - CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Prevalence of Hepatitis C Virus Infection Among Clients of HIV Counseling and Testing Sites—Connecticut, 1999, *MMWR* 50 (27) 577–581, 1999b.
- CDC - CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 1999 USPHS/IDSA Guidelines for the Prevention of Opportunistic Infections in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus, *MMWR* 48 1999a.
- CDC - CENTER FOR DISEASE CONTROL, *MMWR WEEKLY*. **Epidemiologic notes and reports AIDS due to HIV-2 infection**- New Jersey. 37: 33-35, 1988.
- CHAPMAN, P.R., WEISS, R. A. Spilit choice of co-receptors. **Nature**, 388: 230-231, 1997.

- CHOO, Q.L., KUO, G., WEINER, A.J., OVERBY, L.R., BRADLEY, D.W., HOUGHTON, M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**. 21;244(4902), 359-62, 1989.
- CLAVEL, F., GUÉTARD, D., BRUN-VÉZINET, F., CHAMARET, S., REY, M., SANTOS-FERREIRA, M.O., LAURENT, A. G., DAUGET, C., KATLAMA, C., ROUZIOUX, C., KLATZMANN, D., CHAMPALIMAUD, J.L., MONTAGNIER, L. Isolation of a new human retrovirus from west African patients with AIDS. **Science**, 233: 343-346, 1987.
- COFFIN, J. M. *Retroviridae: The Viruses and Their Replication*. In: **Fundamental Virology**. Fields, B. N., Knipe, D. M., Howley, P. M. (eds.). Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996. P.763-843.
- CORRÊA, M. C. J. M., BARONE, A. A., GUASTINI, C. Hepatitis c virus seroprevalence and risk factors among patients with HIV infection. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 43(1):15-19, 2001.
- DE PAULA, V.S., ARRUDA, M.E., VITRAL, C.L., GASPAR, A.M.C. Seroprevalence of Viral Hepatitis in Riverine Communities from the Western Region of the Brazilian Amazon Basin. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 96: 1123-1128, 2001.
- DEDNIS, F., ADJIDE, C.C., ROGEZ, S., DELPEYROUX, C. ROGEZ, J.P., WEINBRECK, P. Seroprevalence of HBV, VHC and HDV hepatitis markers in 500 patients infected with the human immunodeficiency virus. **Pathology Biology**, 45(9):701-708, 1997.

- DELEERSNYDER, V., PILLEZ, A., WYCHOWSKI, C., BLIGHT, K., XU, J., HAHN, Y. S., RICE, C. M., DUBUISSON J. Formation of Native Hepatitis C Virus Glycoprotein Complexes. **Journal of Virology**, 71: 697-704, 1997.
- DELGADO-IRIBARREN A., PADILLA B., GOMEZ RODRIGO J., ELVIRO J. Hepatitis C virus (VHC) antibodies among intravenous drug abusers and association with human immunodeficiency virus (HIV) antibodies. **International Conference of AIDS**. 7:16-21, 1991.
- DIMITRAKOPOULOS A., TAKOU A., HAIDA A., MOLANGELI S., GIALERAKI A., KORDOSSIS T. The Prevalence of Hepatitis B and C in HIV-positive Greek Patients: Relationship to Survival of Deceased AIDS Patients. **Journal of Infection**, 40(2), 127-131, 2000.
- DORRUCCI, M., PEZZOTTI, P., PHILLIPS, A.N., LEPRI, A.C., REZZA, G. Coinfection of hepatitis C virus with human immunodeficiency virus and progression to AIDS. Italian seroconversion study. **Journal of Infectious Disease**, 172: 1503-1508, 1995
- DOW, B.C., COOTE, I., MUNRU, H. Confirmation of hepatitis C virus antibody in blood donors. *Journal of Medical Virology*, 41:215–220, 1993.
- FEGUEUX, S., MENASIE, S., MASLO, C., ELIAS, A., BRANGER, M., JAULIN, P., COULAND, J.P. Hepatitis C virus (VHC) antibodies (Ab) in HIV patients. **International Conference of AIDS**. 7: 234: 16-21, 1991.
- FERRARI J.O., FERREIRA M.U., TANAKA A., MIZOKAMI M. The seroprevalence of hepatitis B and C in an Amerindian population in the southwestern Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 32: 229-302, 1999.

- GRETCH, D.R. Diagnostic tests for hepatitis C. **Hepatology**, 26(supplement1):43S-47S, 1997.
- HIRSH, M. S., CURRAN, J. Human immunodeficiency viruses. **In: Fields Virology**. Fields, B. N., KNIPE, D.M., HOWLEY, P. M., Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1996. p. 1964-1965.
- ICTV - The International Committee on Taxonomy of Viruses. Human immunodeficiency virus 1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/610650001/htm>. 2002.
- INNOGENETICS BIOTECHNOLOGY FOR HEALTH CARE. INNO-LIA VHC Ab III update, Line Immunoassay for the detection of antibodies to human hepatitis C virus in human serum or plasma, p. 6-7, 2001.
- LIMA, M.P.J.S., PEDRO, R. J., ROCHA, M.D.C. Prevalence and risk factors for hepatitis C virus (VHC) infection among pregnant Brazilian women. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, 70: 319-326, 2000.
- LIN, C., WU, J. W., HSIAO, K., SU, M.S.S. The hepatitis C virus NS4A protein: Interactions with the NS4B and NS5A proteins. **Journal Of Virology**, 71: 6465-6471, 1997.
- LINCOLN, D., PETOMENOUS, K., DORE, G.J. HIV/HBV and HIV/CHV coinfection, and outcomes following highly active antiretroviral therapy. **HIV Medicine**, 4:241-249, 2003.
- MANDANA, K., BEHM, B.W. Hepatitis C in the setting of HIV co-infection. **Microbes and infection**, 4: 1247-1251, 2002.
- MASSAD E., ROZMAN M., AZEVEDO R.S., SILVEIRA A.S., TAKEY K., YAMAMOTO Y., STRAZZA L., FERREIRA M.M., BURATTINI M.N.

- Seroprevalence of HIV, HCV and syphilis in Brazilian prisoner preponderance of parenteral transmission. **European Journal of Epidemiology**, **15**: 439-445, 1999.
- MEDEIROS, M.T.G., LIMA, J.M.C., LIMA, J.W.O., CAMPOS, H.H., MEDEIROS, M.M.C, FILHO, J.M.C. Prevalência e fatores associados à hepatite C em pacientes de hemodiálise. **Revista de Saúde Pública**, **38**: 187-193, 2004.
- MILLER, M. D., FARNET, C.M., BUSHMAN, F.D. Human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes: studies of organization and composition. **Journal of Virology**, **71**: 5382-5390, 1997.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico AIDS 2004**. Ano I(01)1ª a 26ª Semana epidemiológica, 2004.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Critérios de definição de casos de ADIS em adultos e crianças**. Série Manuais N°60, Brasil, 2004.
- MISSALE, G., BERTONI, R., LAMONACA, V., VALLI, A., MASSARI, M., MORI, C., RUMI, M.G., HOUGHTON, M., FIACCADORI, F., FERRARI, F. Different Clinical Behaviors of Acute Hepatitis C Virus Infection Are Associated with Different Vigor of the Anti-viral Cell-mediated Immune Response. **Journal of Clinical Investigation**, **98**: 706-714, 1996.
- MONGA, H.K., RODRIGUES-BARRADAS, M.C., BREAUX, K., KHATTAK, K., TROISI, C.L., VELZ, M., YOFFE, B. Hepatitis C virus infection-related morbidity and mortality among patients with human immunodeficiency virus infection. **Clinical Infectious Disease**, **33**: 240-247, 2001
- MONTEIRO, R.C.C.M., NASCIMENTO, M.M.P., PASSOS, A.D.C., FIGUEIREDO, J.F.C. Hepatite C: prevalência e fatores de risco entre portadores do VIH/SIDA em

- Belém, Pará, na Amazônia Brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina tropical**. 37(II), 40-46, 2004.
- MOORE, J. P. Co-receptors: implications for HIV pathogenesis and therapy. **Science**, 276: 51-52, 1997.
- MUTIMER, D.J., HARRISON, R.F., O'DONNELL, K.B. Hepatitis C virus infection in the asymptomatic British blood donor. **Journal of Viral Hepatitis**, 2:47-53, 1995.
- NUCLISENS NASBA DIAGNOSTICS. **Guia de Treinamento**. Versão 1.0., 2000, 200p
- ORTHO-CLINICAL DIAGNOSTICS, Inc. ORTHO VHC 3.0 ELISA Test System with enhanced SAVe (Sample Addition Verification), Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay for the detection of Antibody to Hepatitis C Virus (Anti VHC) in human Serum or Plasma. Pag 51-52, 2001.
- PALTANIN, L.F., & REICHE, E.M.V. Soroprevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em doadores de sangue, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 36: 393-399, 2002.
- PATINO-SARCINELLI, F., HYMAN, J., CAMACHO, L.A., LINHARES, D.B., AZEVEDO, J.G. Prevalence and risk factors for hepatitis C antibodies in volunteer blood donors in Brazil. **Transfusion**, 34: 138-41, 1994.
- PAWLOTSKY, J.M. Diagnostic tests for hepatitis C. **Journal of Hepatology**. 31 Supplement 1:71-79, 1999.
- PEREZ-GRACIA, M.T., GALAN, F., PEREZ-RAMOS, S., RODRIGUEZ-IGLESIAS, M. A. Hepatitis C infection in injecting drug users HIV-positive with serological atypical pattern of hepatitis B. **International Conference of AIDS**, 301: 7-12, 1996.

- PIROTH, L., DUONG, M., QUANTIN, C., ABRAHAMOWICZ, M., MICHARDIERE, R., AHO, L., GRAPPIN, M., BUISSON, M., WALDNER, A., PORTIER, H., CHAVANET, P. Does hepatitis C virus co-infection accelerate clinical and immunological evolution of HIV-infected patients? **AIDS**, 12: 381-388, 1998.
- PODZORSKI, R.P. Molecular Testing in the Diagnosis and Management of Hepatitis C Virus Infection. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**. 126(3), 285–290, 2002.
- RANGER, S., MARTIN, P., ROUSSANE, M.C., DENIS, F. Prevalence of hepatitis C virus antibodies in the general population and in selected groups of patients in Limoges, France. **International Journal of gastroenterology and Hepatology**. 34: 50-51, 1993.
- REED, K. E., GORBALENYA, A. E., RICE, C. The NS5A/NS5 Proteins of Viruses from Three Genera of the Family *Flaviviridae* are Phosphorylated by Associated Serine/Threonine Kinases. **Journal of Virology**, 72: 6199–6206, 1998.
- RIGGERT, J., SCHWARTZ, D.W., UY, A., SIMSON, G., JELINEK, F., FABRITZ, H., MAYR, W.R., KOHLER, M. Risk of hepatitis C virus (VHC) transmission by anti-VHC-negative blood components in Austria and Germany. **Journal of American Microbiology**, 72: 35-39, 1996.
- SADR, B. F., PERRONE, C. Co-infection par le virus de l'hépatite C et le virus de l'immunodéficience humaine: aspects actuels. 30: 43-48, supl-1, 2000.
- SANTOLINI, E., PACINI, L., FIPALDIN, C. I., MIGLIACCIO, G., LA MONICA, N. The NS2 Protein of hepatitis C virus is a transmembrane polypeptide. **Journal of Virology**, 69: 7461-7471, 1995.

- SARNGADHARAN, M.G., DE VICO, A.L., BRUCH, L., SCHUPBACH, J., GALLO, R.C. HTLV-III: the etiologic agent of AIDS. **Princess Takamatsu**, 15:301-308, 1984.
- SOUTO F.J.D., FONTES C.J.F., GASPAR A.M., PARANÁ R., LYRA L.G. Concomitant high prevalence of hepatitis C virus antibodies and hepatitis B virus markers in a small village of the Amazon region, Mato Grosso State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 38: 221-223, 1996.
- SOUTO F.J.D., FONTES C.J.F., MARTELLI C.M.T., TURCHI M.D., MARTINS R.M., DE ANDRADE A.L.S.S. Hepatitis C virus prevalence among an immigrant community to the southern Amazon, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 94: 719-723, 1999.
- STRAUSS, E. Hepatite C. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 34: 69-82, 2001.
- STUBBE, L., SORIANO, V., ANTUNES, F. Hepatitis C in the EuroSIDA cohort of european HIV-infected patients: prevalence and prognostic value (abstract 22261), **Conference record of 12th World AIDS conference (Geneva, Switzerland) Geneva, Marathon Multimedia**, 1998.
- SULKOWSKI, M. S., MAST, E. E., SEEFF, L. B., THOMAS, D. L. Hepatitis C virus infection as an opportunistic disease in persons infected with human immunodeficiency virus. **Clinical Infectious Disease**, 30: 577-584, 2000.
- THOMAS, D.L.S.J., ALTER, H.J., VLAHOV, D., COHN, S., HOOVER, D.R., CHEUNG, L., NELSON, K.E. Effect of human immunodeficiency virus on hepatitis C virus infection among injecting drug users, **Journal of Infectious Disease**, 174: 690–695 1996.

- TOMEI, L., FAILLA, C., SANTOLINI, E., DE FRANCESCO, R., LA MONICA, N.
NS3 is a serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein.
Journal of Virology, 67: 4017-4026, 1993.
- URDEA, M. S., WUESTEHUBE, L. J., LAURENSEN, P. M., WILBER, J. C. Hepatitis C—diagnosis and monitoring. **Clinical Chemistry**, 43:8(B):1507–1511, 1999
- VALLINOTO, A. C. R., PONTES, G. S., RODRIGUES, A. M. C., MACHADO, L. F. A., ISHAK, M. O. G., ISHAK, R. Serological Survey for Hepatitis C Virus Infection among Two Population Groups from the Amazon Region of Brazil.
Revista Paraense de Medicina, 17: 07-11, 2003.
- WALSHE, D.K., GIBERT, C.L., NUGENT, R., BALES, Z., SEEFF, L.B., GORDIN, F.M. Hepatitis C virus (VHC) and its association with chronic hepatitis in an HIV-infected cohort at an inner city hospital. **National Conference of Human Retroviruses and Related Infections (1st)**. 100: 12-16, December, 1993.
- WANG, C., SARNOV, P., SIDDIQUI, ^a Translation of human hepatitis C virus RNA in cultured cells is mediated by a internal ribosome binding mechanism. **Journal of Virology**, 67: 3338-3344, 1993.
- WEDEL, S., MULLER-RUBINSKI, S., RICHTER, G., WIENBECK, M. Hepatitis C virus (VHC) infection in HIV infected patients. **International Conference of AIDS**, 8: B173, 19-24; (abstract no. PoB 3516), July, 1992 .
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **AIDS Epidemic Update 2004**.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hepatitis C**.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/print.html>. Revisado em outubro de 2000. Acessado em 08 de maio de 2004.

- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. **Journal of Viral Hepatitis**, 6:35–47, 1999.
- WITHE, D. O., FENNER, F. J. *Retroviridae*. In: **Medical Virology**. Australia, **Academic Press**, 1994, p. 550.
- WITHE, D. O., FENNER, F. J. *Retroviridae*. In: **Medical Virology**. Australia, **Academic Press**, 1994, 555
- WOFSY, C. B., COHEN, J. B., HAUER, L. B., PADIAN, N. S., MICHAELIS, B. A., EVANS, L. A., LEVY, J. A.. Isolation of AIDS-associated retrovirus from genital secretions of women with antibodies to the virus. **Lancet**. 1(8480):527-529, 1986.
- WYATT, R., SODROSKI, J. The HIV-1 envelope glycoproteins: fusogens, antigens, and immunogens. **Science**, **280**: 1884-1888, 1998.
- YAMAGUCHI, K., KIYOKAWA, H., MACHIDA, J., OBAYASHI, A., NOJIRI, N., UEDA, S., TAKATSUKI, K. Seroepidemiology of hepatitis C virus infection in Japan and VHC infection in haemodialysis patients. **Microbiology Review**, 14: 253-8, 1994.
- YASUI, K., WAKITA, T., TSUKIYAMA-KOHARA, K., AHASHI, S. F., KAJITA, T., MORADPOU, D. R., WANDS, J. R., KOHARA, M. The native form and maturation process of hepatitis C virus core protein. **Journal of Virology**, 72: 6048-6055, 1988.

ANEXO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE VIROLOGIA

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1. Estou sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa sobre *Avaliação de fatores de natureza viral , de cunho infeccioso (co-infecção) e genéticos do hospedeiro humano, que influenciam o curso da progressão da doença no indivíduo infectado pelo vírus da imunodeficiência humana tipo I (HIV-1)*, que está sendo desenvolvida pela Universidade Federal do Pará e Laboratório Central do Amapá (LACEN/AP).
2. Para que eu decida em participar ou não da pesquisa me foram prestadas as seguintes informações:
3. O título do projeto é *Avaliação de fatores de natureza viral , de cunho infeccioso (co-infecção) e genéticos do hospedeiro humano, que influenciam o curso da progressão da doença no indivíduo infectado pelo vírus da imunodeficiência humana tipo I (HIV-1)*.
4. O pesquisador responsável é o Prof. Dr. Ricardo Ishak, Biomédico, Professor da Universidade Federal do Pará e, como co-pesquisadores, os alunos do curso de pós Graduação do curso de Biologia dos agentes infecciosos e parasitários (UFPA) e funcionários do LACEN/AP: Anna Carmem de Souza Pimentel, Francis Christian da Silva Pereira, Ivanete do Socorro Pinheiro da Silva, Márcia do Socorro Cavalcante Porcy, Márcio Ronaldo Chagas Moreira.
5. O objetivo da pesquisa é vigilância epidemiológica molecular das cepas de HIV-1 circulantes na região correlacionando-as com os quadros clínicos, com as co-infecções e com os marcadores genéticos do hospedeiro.
6. Durante a pesquisa o paciente deverá responder a um questionário, depois será submetido a coleta de sangue para exame de laboratório e consentirá aos pesquisadores o acesso aos seus prontuários para informações adicionais como quantificação de carga viral e CD4⁺/CD8⁺, e o possível uso de terapia para os agentes virais avaliados na pesquisa .
7. Essa pesquisa não oferece riscos, porque os métodos, ou seja, as práticas são de uso rotineiro. Uma quantidade de sangue suficiente (10ml) será coletada para a detecção de marcadores genéticos do vírus e do hospedeiro.
8. Serão utilizados materiais esterilizados, descartáveis, como agulhas, seringas, não oferecendo risco para a pessoa.
9. Ninguém é obrigado a participar da pesquisa, assim como poderá deixar a pesquisa no momento que quiser, pois não haverá prejuízo pessoal por esta causa.
10. Não haverá nenhum tipo de despesas para participação da pesquisa, assim como não haverá nenhuma forma de pagamento para participação.

11. O grande benefício desta pesquisa para todos os que participam, é possibilitar um melhor entendimento sobre os subtipos do HIV-1 circulantes em nossa região, as possíveis associações com marcadores genéticos de resistência e o impacto das co-infecções na progressão para a SIDA/AIDS.
12. A participação na pesquisa é sigilosa, isto significa que, somente os pesquisadores ficarão sabendo de sua participação. Os dados utilizados na pesquisa terão uso exclusivo neste trabalho, sem a identificação individual do participante.

Assinatura do Pesquisador Responsável

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido(a) sobre o conteúdo da mesma, assim como seus riscos e benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame.

Macapá, ____ / ____ / ____

Assinatura do participante

- a) Descrever subtipos de HIV-1 no Estado do Amapá
- b) Monitorar o aparecimento de novas cepas do HIV-1
- c) Realizar a soroepidemiologia para Citomegalovirus, Hepatites B e C e HTLV I/II

Universidade Federal do Pará
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Patologia
Laboratório de Virologia
Fone:91-211-1587

Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá
Div. de Biologia Médica
Serviço de Imunologia e Virologia
Fone:96-212-6175/212-6115



**LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO AMAPÁ
“PROFº REINALDO DAMASCENO”**

IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

1- IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA NºRG: _____
 NOME : _____ DATA: _____
 FILIAÇÃO : PAI: _____
 MÃE: _____
 DATA DO NASCIMENTO: ___/___/___ ESTADO CIVIL: _____
 DOC.IDENTIDADE: _____ ORG.EXP.: _____
 SEXO: [] MASCULINO [] FEMININO
 ESCOLARIDADE: _____ PROFISSÃO: _____
 ENDEREÇO : _____ BAIRRO: _____
 CIDADE : _____ ESTADO: _____ FONE: _____

2- CONDIÇÃO EPIDEMIOLÓGICA :
 [] HOMOSSEXUAL [] BISSEXUAL [] HETEROSSEXUAL [] HEMOFÍLICO
 [] RECEPTOR DE SANGUE E/OU DERIVADOS [] USUÁRIOS DE DROGAS INJETÁVEIS
 [] TATUAGEM [] PIERCING [] ACUMPUNTURA [] CIRURGIAS
 [] RELATO DE OUTRAS DSTs
 [] MEDICAMENTOS INJETÁVEIS [] TRATAMENTO DENTÁRIO
 [] ACIDENTE PERCUTÂNEO
 [] CONTATO COM INDIVÍDUO SORO-POSITIVO PARA HEPATITE B OU C []

ESPECIFICAR: _____
 - VIAGEM PARA OUTRO ESTADO OU PAÍS NOS ÚLTIMOS 12 MESES ?
 [] NÃO [] SIM, ESPECIFICAR: _____

3- CONDIÇÃO CLÍNICA :
 [] ASSINTOMÁTICO [] LINFOADENOPATIA PERSISTENTE GENERALIZADA [] ARC
 [] AIDS

4- OBSERVAÇÕES SOBRE O (A) PACIENTE:

 REQUISITANTE/CARIMBO

MACAPÁ,

ASSINATURA DO RESPONSÁVEL: _____