FLÁVIO AUGUSTO DE PÁDUA MILAGRES

Coinfecção pelos vírus da hepatite C (VHC) e vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) ou 2 (HTLV-2) em ambulatório de referência de São Paulo : avaliação epidemiológica, clínica, laboratorial e histológica

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias
Orientador: Prof. Dr. Aluísio Augusto Cotrim Segurado

São Paulo

2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Milagres, Flávio Augusto de Pádua

Coinfecção pelos vírus da hepatite C (VHC) e vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) ou 2 (HTLV-2) em ambulatório de referência de São Paulo : avaliação epidemiológica, clínica, laboratorial e histológica / Flávio Augusto de Pádua Milagres. -- São Paulo, 2006.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias.

Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientador: Aluísio Augusto Cotrim Segurado.

Descritores: 1.Hepacivirus 2.Infecções por deltaretrovirus 3.Vírus 1 linfotrópico T humano 4.Vírus 2 linfotrópico T humano 5.Análise discriminante 6.Estudos epidemiológicos 7.Fatores de risco 8.Abuso de substâncias por via endovenosa 9.Fígado/patologia

USP/FM/SBD-174/06

À minha esposa Karina e à minha filha Gabriela, meus amores, pelo apoio,
compreensão e paciência durante a realização deste trabalho

À minha irmã Simone e meu irmão Antonio Carlos, responsável este por me
introduzir no estudo dos retrovírus e pelos exemplos em minha vida

Aos meus pais Carlos e Liliane

Aos pacientes

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Aluísio Augusto Cotrim Segurado, por quem aprendi a admirar pelo exemplo de vida acadêmica, dedicação, competência e humanismo.

À Profa. Titular Maria Irma Seixas Duarte, pela importante colaboração na avaliação histopatológica de todos os casos dessa pesquisa e valiosas sugestões apresentadas durante o exame de qualificação.

Ao Dr. Edson Abdala e Dr. Arnaldo Etzel pelo comprometimento com o qual participaram do exame de qualificação, contribuindo com suas sábias avaliações e sugestões na fase final desta pesquisa.

À Mestra Ana Teresa Viso, pelo apoio na coleta de dados e disponibilidade em compartilhar informações dos pacientes controle.

À Dra. Roosecelis Araújo Brasil, pelo auxílio na descrição dos achados histopatológicos estudados.

À Silvia Helena Lima e demais funcionários do Laboratório de Investigação Médica em Virologia (LIM-52) pelo importante auxílio na realização dos testes de biologia molecular para diagnóstico de infecção pelos vírus HTLV-1/2.

À Agnelice Ramalho dos Santos, auxiliar de enfermagem, pela inestimável ajuda no Ambulatório da Divisão de Clínica de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do HC-FMUSP.

À Rosemeire Aparecida Moraes Ribeiro e Roseli Antonia Santo, da secretaria de Pós-graduação da Área de Concentração em Doenças Infecciosas e Parasitárias do Curso de Pós Graduação senso estrito da FMUSP, pelo apoio constante.

Ao Rogério Ruscito Prado, pela importante colaboração na análise estatística.

A todos os colegas da CASA da AIDS e do Ambulatório da Divisão de Clínica de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do HC-FMUSP, pela agradável convivência e auxílios mútuos.

SUMÁRIO

Lista de Figuras
Lista de Tabelas
Lista de Quadros
Resumo
Summary

1. Introdução	1
1.1. Infecção pelo vírus da hepatite C (VHC)	2
Histórico	2
Aspectos virológicos	3
Epidemiologia da infecção pelo VHC	4
Formas de transmissão do VHC	5
Patogenia da infecção pelo VHC	9
História natural e manifestações clínicas da infecção pelo VHC	9
Diagnóstico da infecção pelo VHC	12
1.2. Infecções causadas pelos vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) e 2 (HTLV-2)	14
Histórico	14
Aspectos virológicos	14
Epidemiologia das infecções causadas pelo HTLV-1 e HTLV-2	17
Formas de transmissão do HTLV-1 e HTLV-2	19
Patogenia, história natural e manifestações clínicas das infecções causadas pelo HTLV-1 e HTLV-2	20
Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia associada ao HTLV-1 (PET/HAM)	22
Leucemia/Linfoma de células T do adulto (LLcTA)	24
Diagnóstico das infecções causadas pelo HTLV-1 e HTLV-2	26
1.3. Coinfecção VHC – HTLV	28
2. Justificativa	35
3. Objetivos	37

4. Métodos	39
4.1. Delineamento do estudo	40
4.2. Seleção de casos e controles	40
4.3. Critérios de exclusão	43
4.4. Algoritmos diagnósticos	44
Diagnóstico de infecção pelo vírus da hepatite C	44
Diagnóstico das infecções pelos vírus HTLV-1 e HTLV-2	49
4.5. Procedimentos do estudo	53
Inclusão de casos e controles	53
Coleta de dados	54
Montagem de banco de dados	55
Seleção de variáveis	55
Variáveis sócio-demográficas e hábitos	56
Variáveis de risco de exposição às infecções de transmissão sangüínea ou sexual	56
Variáveis relacionadas ao quadro clínico	57
Variáveis laboratoriais	57
Variáveis associadas à histologia hepática	59
4.6. Análise estatística	61
4.7. Aspectos éticos	64
5. Resultados	65
6. Discussão	88
7. Conclusões	106
8. Anexos	109
9. Referências	124

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Seleção de casos e controles	42
Figura 2. Comparação entre as medianas das contagens de plaquetas entre pacientes com infecção por VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC	74
Figura 3. Comparação entre as concentrações medianas de AST entre pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC	76
Figura 4. Comparação entre as concentrações medianas de ALT entre pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC	77
Figura 5. Comparação entre as concentrações medianas de GGT entre pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC	78
Figura 6. Padrões de alteração histológica do parênquima hepático observados em pacientes com coinfeção por VHC/HTLV	82/83
Figura 7. Padrões de alteração histológica do parênquima hepático observados em pacientes com infecção pelo VHC	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Análise bivariada para comparação de pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC, no tocante a variáveis sócio-demográficas	67
Tabela 2 -Análise bivariada para comparação de pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC, no tocante às variáveis tabagismo e uso de álcool	68
Tabela 3 -Análise bivariada para comparação de pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC, no tocante a variáveis de risco de exposição às infecções de transmissão sangüínea ou sexual	70
Tabela 4 -Análise bivariada para comparação de pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC, no tocante à variáveis clínicas	72
Tabela 5 -Distribuição e comparação dos resultados observados à avaliação hematológica de pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC	73
Tabela 6 -Distribuição e comparação das concentrações séricas de enzimas hepáticas e da atividade de coagulação de pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC	75
Tabela 7 -Distribuição e comparação das comparações séricas dos resultados laboratoriais de glicose, bilirrubinas e proteínas totais e frações (albumina e globulinas), de pacientes VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC	79
Tabela 8 -Análise bivariada para comparação de pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC no tocante às alterações histológicas do parênquima hepático	81
Tabela 9 -Acurácia discriminatória da análise discriminante e sua validação por meio da técnica <i>leave-one-out</i> aplicada em pacientes com VHC/HTLV-1, VHC/HTLV-2 e VHC	87

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Protocolo de amplificação de seqüências genômicas de VHC por reação de <i>nested</i> PCR	47
Quadro 2 - Variáveis laboratoriais e valores de normalidade HC-FMUSP – 1993-2005	58
Quadro 3 - Escore de fibrose e atividade necroinflamatória conforme classificação de Ishak et al. (1995)	59
Quadro 4 - Coeficientes para variáveis de interesse (UDEV, parceiro sexual com hepatite, sexo e faixa etária) e constante das funções classificatórias, respectivamente, dos grupos VHC, VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2 – HC-FMUSP - 1993-2005	85

RESUMO

Milagres FAP. *Coinfecção pelos vírus da hepatite C (VHC) e vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) ou 2 (HTLV-2) em ambulatório de referência de São Paulo : avaliação epidemiológica, clínica, laboratorial e histológica* [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 142p.

Por apresentarem mecanismos de transmissão superponíveis, a infecção concomitante pelo vírus da hepatite C (VHC) e pelos vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) e 2 (HTLV-2) é esperada. Considerando a relevância dessas infecções em nosso meio e a existência de lacunas no conhecimento da coinfeção VHC/HTLV, conduziu-se este estudo transversal, com o objetivo de comparar uma série de pacientes coinfectados, com indivíduos infectados pelo VHC isoladamente, no tocante a características sócio-demográficas e de exposição aos agentes virais, alterações clínicas e laboratoriais, bem como alterações histológicas do parênquima hepático. Selecionaram-se, com base em algoritmos de diagnóstico sorológico e de biologia molecular, pacientes adultos assistidos em ambulatórios do Hospital das Clínicas da FMUSP entre janeiro de 1993 e agosto de 2005, que apresentaram viremia pelo VHC, associada, ou não, a infecção por HTLV-1 ou HTLV-2, excluindo-se da amostra os coinfectados pelo VHB ou HIV. Coletaram-se dos pacientes selecionados características sócio-demográficas, informações acerca de exposição a vírus de transmissão sexual ou sangüínea, sinais e sintomas clínicos relacionados às infecções causadas pelo VHC ou HTLV, bem como dados laboratoriais hematológicos e de função hepática. Procedeu-se ainda à revisão sistemática dos achados histopatológicos do parênquima hepático, seguindo-se a classificação de Ishak. Compararam-se, então, os grupos VHC, VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2, empregando-se o teste de χ^2 para as variáveis categóricas e o teste de Kruskal-Wallis para as variáveis contínuas. Em seguida, pela análise discriminante linear de Fischer, definiram-se funções classificatórias com variáveis que conjuntamente diferenciassem os grupos estudados. Finalmente, a acurácia discriminatória das funções classificatórias foi avaliada por validação cruzada, empregando-se a técnica *leave-one-out*. Compuseram a população estudada 85 pacientes, sendo 55 no grupo VHC, 24 no grupo VHC/HTLV-1 e 6 no grupo VHC/HTLV-2. À análise bivariada, não se observou diferença significativa entre os grupos no tocante a características sócio-demográficas, hábito de fumar, fatores de exposição às infecções virais, tais como transfusão sangüínea, tatuagem, acupuntura, ou número de parceiros sexuais. Ao contrário, o relato de uso de álcool, drogas endovenosas, ou cocaína inalatória, bem como a parceria sexual com UDEV foi mais freqüente entre os pacientes do grupo VHC/HTLV-2, enquanto o relato de parceiro sexual com hepatite predominou no grupo VHC. Do ponto de vista clínico, apenas a queixa de dor abdominal apresentou-se em freqüência significativamente diferente entre os grupos,

sendo mais prevalente no grupo VHC. Em relação aos achados laboratoriais, apesar de contida nos intervalos de normalidade, houve diferença significativa na contagem de plaquetas em sangue periférico, com valores medianos mais elevados nos grupos de coinfectados. As concentrações séricas de aminotransferases e de GGT foram mais altas no grupo VHC. Apesar de freqüentemente encontradas alterações sugestivas de hepatopatia pelo VHC, como fibrose hepática e atividade necroinflamatória, a análise histopatológica não mostrou diferença significativa entre os grupos. À análise discriminante de Fischer, definiram-se funções classificatórias que melhor diferenciam os pacientes estudados, incluindo as variáveis sexo, faixa etária, relato de uso de drogas endovenosas e parceria sexual com indivíduo com hepatite. Por meio de validação cruzada, verificou-se que a acurácia discriminante das funções classificatórias foi alta (87,3%) para a identificação dos infectados pelo VHC isoladamente e intermediária (66,7%) para os coinfectados VHC/HTLV-2. O método não se mostrou, contudo, clinicamente útil na distinção de pacientes com infecção VHC/HTLV-1.

Descritores: 1. Hepacivirus 2. Infecções por deltaretrovirus 3. Vírus 1 linfotrópico T humano 4. Vírus 2 linfotrópico T humano 5. Análise discriminante 6. Estudos epidemiológicos 7. Fatores de risco 8. Abuso de substâncias por via endovenosa 9. Fígado/patologia

SUMMARY

Milagres FAP. *Co-infection with hepatitis C virus (HCV) and human T-lymphotropic virus types 1 (HTLV-1) and 2 (HTLV-2) in a reference outpatient clinic in São Paulo : epidemiologic, clinical, laboratory and histological evaluation* [Dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 142p.

Co-infection with hepatitis C virus (HCV) and human T-lymphotropic virus types 1 (HTLV-1) and 2 (HTLV-2) is expected, as these viruses share common infection routes. Due to the relevance of these viral infections in Brazil and the existing gaps in knowledge about HCV/HTLV co-infection, we carried out this cross-sectional survey. A cohort of co-infected patients was compared to HCV-infected subjects, in regard to socio-demographic features, risk factors for viral acquisition, clinical and laboratory data, as well as liver histopathologic findings. Based on established serologic and molecular diagnostic algorithms, we selected HCV-viremic adult patients who attended the Hospital das Clínicas-FMUSP outpatient clinic from January 1993 to August 2005, whether or not they presented co-infection with HTLV-1 or HTLV-2. HBV and HIV-infected individuals were excluded from the sample. We collected patients' sociodemographic characteristics, risk of exposure to blood-borne or sexually-transmitted viral agents, signs and symptoms related to HCV or HTLV disease, as well as laboratory data that included hematologic counts and liver function tests. Histopathologic findings were systematically reviewed, in accordance to the Ishak's scoring system. Patients from the HCV, HCV/HTLV-1 and HCV/HTLV-2 groups, were then compared by means of the χ^2 or Kruskal-Wallis tests for categorical or continuous variables, respectively. In addition, Fischer's linear discriminant analysis was applied to define classification functions that better identified the combined effect of variables important for discrimination of the study groups. Finally, the discriminating accuracy of the model was evaluated by cross-validation, using the *leave-one-out* technique. The study sample comprised 85 patients, 55 in the HCV group, 24 in the HCV/HTLV-1 group and 6 in the HCV/HTLV-2 group. In bivariable analysis, no significant difference was found among groups in regard to socio-demographic features, smoking, risk factors for viral acquisition, such as blood transfusion, tattooing, acupuncture, or number of sexual partners. In contrast, alcohol consumption, use of intravenous drugs or inhaled cocaine and sexual partnership with an intravenous drug user were more frequent in the HCV/HTLV-2 group, whereas patients in the HCV group more often reported a sexual partner with hepatitis. As far as clinical data are concerned, abdominal pain was the only variable to be reported differently, being more prevalent in the HCV group. Even though within normal ranges, co-infected patients presented higher median platelet counts, whereas aminotransferase and GGT levels were higher among HCV-infected subjects. No significant difference was seen in liver histopathologic findings, though HCV liver disease-associated

abnormalities, such as fibrosis and necroinflammatory activity were often found in patients from the three groups. Classification functions, defined by discriminating analysis included as relevant variables sex, age, intravenous drug use and sexual partner with hepatitis. Cross-validation yielded high (87.3%) and intermediate (66,7%) discriminating accuracies for the HCV and HCV/HTLV-2 functions. However, this method was not shown clinically useful to distinguish HCV/HTLV-1 co-infected patients.

Descriptors: 1. Hepacivirus 2. Deltaretrovirus infections 3. Human T-lymphotropic virus 1 4. Human T-lymphotropic virus 2 5. Discriminant analysis 6. Epidemiologic studies 7 Risk factors 8. Intravenous substance abuse 9. Liver/pathology

1. INTRODUÇÃO

---

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

De modo a contextualizar o interesse pelo estudo da infecção concomitante pelo vírus da hepatite C (VHC) e pelo vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) e 2 (HTLV-2) apresenta-se a seguir uma revisão dos conhecimentos atuais acerca das infecções causadas por cada um desses agentes virais e das informações disponíveis na literatura médica sobre a coinfeção VHC/HTLV-1/2 propriamente dita.

1.1. Infecção pelo vírus da hepatite C (VHC)

Histórico

A identificação do vírus da Hepatite C deveu-se aos estudos da *Chiron Corporation* e do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) norte-americano no ano de 1989. Um chimpanzé foi identificado com altos títulos de um agente infeccioso, capaz de transmitir hepatite não-A não-B (HNANB), entidade essa que incluía os casos de hepatites, nos quais era possível excluir o diagnóstico de infecção pelo vírus da hepatite A (VHA), vírus da hepatite B (VHB), citomegalovírus e o vírus de Epstein-Barr.

Do soro desse animal foi obtida uma suspensão, que provavelmente continha o agente causador da hepatite. Após extração dos ácidos nucléicos, sintetizou-se molécula de DNA complementar (cDNA), que foi inserida em um clone vetor (*gt11*) e expressa em *Escherichia coli*. Tais clones foram lisados para expressar suas proteínas e hibridados com soros de pacientes que apresentavam diagnóstico de HNANB. Um único clone, denominado 5-1-1 mostrou-se reativo. A clonagem e expressão desse gene em leveduras *Saccharomyces cerevisiae* resultaram na identificação do antígeno C100-3, o primeiro a ser utilizado em testes sorológicos para detecção de anticorpos contra o VHC. A pesquisa por marcadores sorológicos prosseguiu, permitindo dessa forma avaliar parâmetros epidemiológicos, tais como a prevalência, incidência e transmissão do novo agente viral, denominado vírus da hepatite C (VHC) (Choo et al., 1989; Kuo et al., 1989; Morton, Kelen, 1998).

Aspectos virológicos

O vírus da hepatite C é um vírus esférico, envelopado, de aproximadamente 50 nm de diâmetro, composto por uma fita de RNA de cerca de 9.500 nucleotídeos.

Esse agente viral é classificado na família *Flaviviridae*, porém em um gênero particular, distinto dos flavivírus ou pestivírus, pois apesar de apresentar estrutura genômica geral semelhante a esses, possui particularidades que o distinguem (Mcgarvey et al., 1998). Para identificar esse novo gênero, recentemente foi proposto o nome Hepacivirus (Lerat, Hollinger, 2004; Thomson, Finch, 2005).

No que se refere às suas características moleculares, o genoma do VHC organiza-se numa fita simples de RNA, com polaridade positiva, entre duas porções terminais altamente conservadas – 5' e 3' não codificadoras (NC). A região 5'NC é altamente conservada entre os isolados de VHC estudados em todo mundo, exibe similaridade genética superior a 99%, sugerindo-se assim possuir um papel regulador importante durante a replicação viral. Por outro lado, devido a sua alta homogeneidade genética, essa região genômica normalmente é eleita para a seleção de *primers* (iniciadores), utilizados em testes diagnósticos moleculares baseados na amplificação de seqüências nucleotídicas por meio da reação em cadeia por polimerase (PCR). A região 5'NC é seguida na estrutura do genoma viral por uma única seqüência de leitura aberta (ORF – *Open Reading Frame*), responsável pela codificação de uma poliproteína com aproximadamente 3.000 aminoácidos que, após processada, origina quatro proteínas virais estruturais (core, E1, E2 e p7) e seis proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS5A, NS5B) (Takamizawa et al., 1991; Major, Feinstone, 1997; Thomson, Finch, 2005).

Epidemiologia da infecção pelo VHC

Segundo a Organização Mundial de Saúde, existem cerca de 170.000.000 de portadores do VHC no mundo. De modo geral, considera-se que a prevalência da infecção pelo VHC alcance 3% da população mundial, com variações entre 0,1% a taxas superiores a 12%, dependendo do país (Lam, 1999; Afdhal, 2004; Campiotto et al., 2005).

Segundo revisão de estudos soropidemiológicos de infecção pelo VHC em candidatos a doador de sangue, encontra-se variação da prevalência dessa infecção na Europa de 0,1 a 1,5%, comparando-se países localizados mais ao norte ou ao sul, com maior prevalência na região mediterrânea. Na Ásia (China, Japão e Tailândia) as prevalências variam entre 1 a 2%. Na África, encontram-se grandes variações regionais, com taxas que oscilam entre 0,5 a 10%, podendo algumas vezes atingir 20%. A região central e oriental do continente africano são as mais afetadas. No Egito são registradas as maiores soroprevalências, variando entre 13 a 20%. Na América do Norte, o Canadá e os EUA apresentam prevalências de 0,3% e 0,6%, respectivamente (Botté, Janot, 1996). Estima-se para esse último que a hepatite crônica associada ao VHC contribua com 8.000 a 10.000 mortes em cada ano, podendo tal cifra triplicar nos próximos 10 a 20 anos (Lam, 1999).

Na América do Sul, as prevalências de infecção pelo VHC variam entre 0,9% na Argentina até 1,7% no Brasil, com vasta diversidade de freqüências nesse último, por ser um país de dimensões continentais e diferentes etnias (Campiotto et al., 2005). Em um estudo de base populacional para avaliar a prevalência de infecção por VHC no município de São Paulo, Focaccia et al. (1998) detectaram prevalência de 1,42% (0,70-2,12%). Ao lado disso, inquéritos soropidemiológicos para infecção por VHC na população geral e entre candidatos a doador de sangue nas diferentes regiões do Brasil demonstraram prevalências variáveis segundo a região administrativa considerada, como segue: 0,9% a 2,4% para a Norte, 1,7% a 3,4% para a Nordeste, 1,0% a 1,4% para a Centro-Oeste, 0,8% a 2,8% para a Sudeste e 1,1% a 2,1% para a Sul (Carrilho et al., 1998).

Formas de transmissão do VHC

O vírus da Hepatite C é encontrado em elevadas concentrações no sangue periférico, sendo transmitido principalmente por exposição a sangue infectado (Lam, 1999).

Existem no entanto, numerosas formas de transmissão do VHC identificadas (Alter et al., 1998). Até 1990, a principal forma de transmissão era através de transfusão de sangue e hemocomponentes. A partir dessa

data, com o desenvolvimento de testes sorológicos para pesquisa de anticorpos anti-VHC, e sua implementação na triagem de candidatos doadores de sangue a partir de 1992, o risco de transmissão associado à hemoterapia reduziu-se substancialmente, sendo atualmente estimado em 0,01 – 0,001% por unidade de bolsa transfundida (Alter et al., 1999; Lam, 1999; Memon, Memon, 2002).

O uso de drogas endovenosas (UDEV), então, passou a ser a principal forma de aquisição da infecção pelo VHC, com prevalência variada em diferentes partes do mundo. Em países como o EUA e Austrália, 68% e 80% das infecções pelo VHC, respectivamente, estão associados a essa forma de transmissão. Vários países da Europa também identificam o UDEV como o principal fator de risco para transmissão desse vírus (Shepard et al., 2005).

Com relação à transmissão sexual do VHC entre casais, acredita-se que esta, embora possível, não tenha relevância epidemiológica (Nakashima et al., 1995) em condições habituais. Tengan et al. (2001), em um estudo de transmissão do VHC entre casais no estado de São Paulo, sugeriram que a alta prevalência de infecção pelo HCV entre os parceiros sexuais de indivíduos infectados por esse agente viral pode ser atribuída, pelo menos parcialmente, à transmissão sexual.

Sabe-se que a prevalência de infecção pelo VHC é maior entre heterossexuais com outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), homens homossexuais, profissionais do sexo e parceiras sexuais usuárias de drogas. Também há correlação entre a infecção pelo VHC e o número de parceiros, com a atividade sexual que envolva trauma e com infecção concomitante com HIV (Tanaka et al., 1997; Memon, Memon, 2002).

Muitos autores evidenciam que no contato familiar, além da atividade sexual, o compartilhar de utensílios pessoais como lâminas de barbear, escovas de dente, cortadores de unhas e alicates, pode ser importante na transmissão intrafamiliar do vírus da hepatite C (Memon, Memon, 2002; Cavaleiro, 2004).

Outros riscos de aquisição do VHC incluem a exposição ocupacional a sangue contaminado, a hemodiálise e o uso de cocaína inalatória. *Piercing* e tatuagem são potenciais vias de transmissão, quando realizados com equipamentos contaminados com sangue (LAM, 1999).

Não há evidências que sugiram a transmissão através do leite materno (Memon e Memon, 2002). O risco de transmissão vertical pode variar de 0 a 30%, dependendo da intensidade de viremia do HCV na mãe e da existência de coinfeção com HIV (Nakashima et al., 1995; Morton, Kelen, 1998).

Patogenia da infecção pelo VHC

O mecanismo de dano hepático induzido pelo vírus da hepatite C não é claramente definido e envolve fatores virais, fatores do hospedeiro e fatores ambientais. A persistência da viremia em aproximadamente 85% dos casos é a característica primordial da infecção pelo VHC, levando à ativação crônica do sistema imune e refletindo a inabilidade do sistema imunológico em estabelecer uma resposta antiviral efetiva (Inchauspé, 1996; Neumann-Haefelin et al., 2005).

História natural e manifestações clínicas da infecção pelo VHC

O conhecimento da história natural do vírus da hepatite C (VHC) é dificultada pelo fato de sua fase aguda ser geralmente inaparente e a fase crônica, freqüentemente assintomática com duração prolongada (Rosenberg, 2002).

A ocorrência de hepatite aguda está associada a apenas 25% dos casos, após período de incubação que pode durar até sete semanas. Nesses indivíduos podem ocorrer sintomas como icterícia e outras manifestações indistinguíveis das observadas em outros tipos de hepatites

virais. Após a fase aguda, aproximadamente 15% dos casos apresentam clareamento viral e presumidamente, cura da infecção (Lam, 1999).

O desenvolvimento de hepatite crônica pode ser identificado em 50-85% dos indivíduos infectados, independentemente de terem ou não apresentado manifestações clínicas na fase aguda da infecção. Desses, aproximadamente 20% progridem para cirrose, após uma evolução média de 20 anos (Tong et al., 1995).

Um estudo de coorte realizado em 131 pacientes com infecção crônica pelo VHC adquirida após transfusão sangüínea, identificou como manifestações clínicas mais freqüentes a fadiga (67,2%), seguido por dor abdominal (19,8%), anorexia (14,5%) e perda de peso (6,1%) (Tong et al., 1995).

A progressão da fibrose hepática na infecção pelo VHC está associada com quatro fatores independentes: sexo masculino, idade à infecção, sendo mais rápida a progressão para aqueles com idade superior a 40 anos, coinfeção com outros vírus, como VHB ou HIV, e consumo diário de álcool superior a 50g/dL. Fatores como a competência imune do paciente em produzir e regular os linfócitos T citotóxicos e a síntese de citocinas também estão associados à progressão da cirrose (Poynard et al., 1997).

Uma vez instalada, a transição para cirrose descompensada manifesta-se através de complicações secundárias à insuficiência hepática como icterícia, varizes hemorrágicas, ascite e encefalopatia (Afdhal, 2004).

O carcinoma hepatocelular (CH) é a complicação mais importante observada em pacientes com cirrose hepática associada ao VHC (Thomson e Finch, 2005). A infecção pelo VHC vem determinando aumento na incidência de CH em muitos países desenvolvidos, incluindo Japão, Espanha, França e Itália, onde a proporção atribuída à infecção pelo VHC varia de 50 a 70% (Shepard et al., 2005).

A infecção pelo VHC também está associada à ocorrência de várias manifestações extra-hepáticas, tais como crioglobulinemia, porfiria cutânea tardia, poliarterite nodosa, *síndrome sicca-like* e líquen plano. Os mecanismos fisiopatológicos determinantes de tais doenças parecem ser tanto de natureza imunológica, com a presença de anticorpos anti-teciduals como o anticorpo LKM1, como diretamente relacionados à lesão viral (Boschi-Pinto, 2000).

Diagnóstico da infecção pelo VHC

O diagnóstico laboratorial dessa infecção baseia-se na detecção de anticorpos anti-VHC em sangue periférico, procedimento realizado inicialmente por métodos de elevada sensibilidade (100%) e especificidade (entre 99,6% a 99,8%), tais como o ensaio imunoenzimático convencional (ELISA), ou o ensaio imunoenzimático com micropartículas (MEIA), que empregam em sua base antigênica peptídeos sintéticos derivados das proteínas do VHC (Sáez-Alquézar et al., 1996).

Entre os testes ELISA, os testes conhecidos como de primeira geração continham somente proteínas virais derivadas da região NS-4. Os testes de segunda geração passaram a incluir em adição às proteínas da região NS-4, proteínas do *core* e região NS-3, garantindo maior especificidade à reação. Já os testes de terceira geração contém uma proteína adicional da região NS-5 (Kuo et al., 1989; de Lamballerie et al., 1996).

Posteriormente, as amostras reagentes aos métodos de triagem devem ter sua reatividade confirmada por métodos de elevada especificidade, como o *recombinant immunoblot assay* (RIBA) ou *Western Blot* (WB). A detecção de RNA viral plasmático por meio de amplificação de seqüências genômicas virais, pela reação em cadeia por polimerase (PCR), realizada de forma qualitativa ou quantitativa ou pela técnica do ácido

desoxirribonucleico ramificado (*branched* – DNA, bDNA) permite confirmar uma infecção viral atual, distinguindo-a das situações de soropositividade com clareamento viral. Ao lado disso, a pesquisa direta de viremia plasmática possui vantagens adicionais em relação ao método de RIBA, uma vez que esta última técnica tem o inconveniente de apresentar cerca de 10% a 20% de resultados inconclusivos ou indeterminados (Paltanin et al., 2002).

1.2. Infecções causadas pelos vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) e 2 (HTLV-2)

Histórico

O isolamento do HTLV-1 a partir de amostras de sangue periférico foi descrito em 1980, nos Estados Unidos, em um homem com linfoma cutâneo de células T (Poiesz et al., 1980) e em seguida, no Japão, de forma independente por Miyoshi et al. (1983), em uma mulher com leucemia de células T do adulto (LcTA). O HTLV-2 foi isolado em 1982 de um paciente com uma variante de células T da leucemia *hairy-cell* (Kalyanaraman et al., 1982).

Aspectos virológicos

Os vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) e do tipo 2 (HTLV-2) foram os primeiros vírus humanos identificados que pertencem à família *Retroviridae*, subfamília *Oncovirinae*, gênero *Deltaretrovirus* (Retrovirus, 2006).

Apresentam-se como partículas esféricas de 100 nm de diâmetro, com uma porção central (*core*) composta pelo nucleocapsídeo, contendo duas cópias de ácido ribonucleico (RNA) de fita única com 8,8 e 9 kilobases, a enzima transcriptase reversa e as proteínas da matriz, além de um envelope parcialmente originado da membrana da célula hospedeira, que contém as glicoproteínas transmembrana e de superfície (Schupbach, 1989).

Os genomas provirais do HTLV-1 e 2 apresentam similaridade de 65% entre si, que resulta na tradução de várias proteínas semelhantes, levando a altas taxas de reações cruzadas nos testes sorológicos (Sodroski et al., 1984). Seus principais genes são (Seiki et al., 1983):

- *gag*, que codifica as proteínas do core viral (antígeno grupo-específico), a precursora p52 e suas derivadas p15, p19 e p24;
- *pol*, que origina as enzimas transcriptase reversa (uma polimerase) (p99), RNase, endonuclease e protease;
- *env*, responsável pela codificação das glicoproteínas externas do envelope, a precursora gp61/68 e sua derivada gp46, e da glicoproteína transmembrana gp21;

- região *pX*, que apresenta quatro ou cinco seqüências abertas de leitura (*Open Reading Frames* – ORFs), respectivamente, no caso de HTLV-1 e HTLV-2:
  - *pX-I*: codifica a proteína *p12*, considerada um oncogene fraco;
  - *pX-II*: codifica a proteína *p30^{II}* / *p13^{II}* (no HTLV-2, a proteína *p28^{II}*);
  - *pX-III*: apresenta o gene *rex*, que codifica a proteína *p27/21^{rex}* (no HTLV-2, *p26/24^{rex}*), responsável pela regulação pós-transcricional da síntese de proteínas estruturais do vírus;
  - *pX-IV*: contém o gene *tax*, que codifica a proteína *p40^{tax}* (no HTLV-2, *p37^{tax}*), transativadora do segmento LTR do genoma viral e de genes da célula eucariótica infectada, como os que codificam a interleucina 2 e a cadeia α de seu próprio receptor (CD25), o fator de crescimento de granulócitos e monócitos (GM-CSF), a molécula de adesão intercelular (ICAM-1) e outros. Tem uma ação inibidora sobre o gene da β -polimerase (enzima de reparação do DNA hospedeiro);

- pX-V (apenas no HTLV-2): codifica a proteína p11^v (Greene et al., 1990);
- segmentos LTR (*Long Terminal Repeat*), segmentos longos repetitivos presentes nas duas extremidades do genoma viral, que embora representem regiões não codificantes, contêm elementos reguladores da transcrição viral.

Epidemiologia das infecções causadas pelo HTLV-1 e HTLV-2

A infecção causada pelo HTLV-1 é endêmica no Japão, Caribe, África, América do Sul e Europa oriental. Estima-se que 20 a 30 milhões de pessoas estejam infectadas pelo HTLV-1 no mundo, entretanto, a maioria delas permanece assintomática ao longo de toda a vida (Nicot, 2005).

Não há estimativas globais para a prevalência de infecção pelo vírus HTLV-2. No entanto, essa é mais elevada entre usuários de drogas endovenosas (UDEV) nos EUA, Europa, América do Sul e Ásia, atingindo taxas inferiores a 1% em certos países da Europa até superiores a 60% no Vietnã. Além disso, acomete mais intensamente diversas populações indígenas das Américas (Araújo e Hall, 2004).

A maioria dos dados de soroprevalência da infecção causada pelo HTLV-1 e HTLV-2 provém de estudos em populações de baixo risco para essas infecções, tais como candidatos a doação de sangue ou sob alto risco de aquisição dessas retrovíroses, como os UDEV. Para estimar a soroprevalência dessas infecções na população geral, Taylor et al. (2005) realizaram um estudo em 234.078 gestantes na Europa, obtendo taxa de prevalência de 4,4 por 10.000, com variações de 0,7 por 10.000 na Alemanha até 11,5 por 10.000 na França, superando em mais de 6 vezes a prevalência de 0,07 por 10.000 entre candidatos à doação de sangue na população européia.

No Brasil, maior país da América do Sul, as estimativas baseadas nas prevalências estabelecidas em inquéritos soroepidemiológicos com candidatos a doador de sangue, conduzidos em diferentes regiões do país, apontam para a existência de aproximadamente 2,5 milhões de pessoas infectadas pelo HTLV-1. Nesse cenário, o Brasil constitui o país com o maior número absoluto de portadores dessa retrovírose (Carneiro-Proietti et al., 2002). Cabe destacar que, em função da população brasileira ser extremamente heterogênea, composta por nativos indígenas, descendentes de africanos trazidos na época da escravidão e de imigrantes de países europeus e asiáticos, existem várias possibilidades distintas de introdução desses agentes virais em nosso país (Araújo, Andrada-Serpa, 1996; Colin et al., 2003).

Em um estudo realizado com candidatos a doador de sangue em cinco cidades brasileiras (Manaus, Recife, Salvador, Rio de Janeiro e Florianópolis), a soroprevalência de infecção pelo HTLV-1 foi 0,41%. A cidade de Salvador apresentou a maior prevalência (1,35%), provavelmente devido a suas características sócio-demográficas (Galvão-Castro, et al., 1997).

Em São Paulo, Ferreira et al. (1995), estudando 17.063 candidatos à doação de sangue, encontraram prevalências de 0,15% e 0,03% para as infecções pelos vírus HTLV-1 e HTLV-2, respectivamente.

Formas de transmissão do HTLV-1 e HTLV-2

Os mecanismos de transmissão reconhecidos para o HTLV-1 incluem a transmissão da mãe infectada para seu filho, especialmente através do aleitamento materno (Fujino et al., 2000; Maloney et al., 2003; Olbrich-Neto et al., 2004), transmissão horizontal através de transfusão de hemocomponentes celulares (Edlich et al., 2000; Soares et al., 2004), o uso comum de objetos contaminados com sangue (McIntyre, 2001) e o relacionamento sexual (Bartholomew et al., 1987; Murphy et al., 1989). Em uma investigação de transmissão familiar de HTLV-1, Kajiyama et al. (1986) demonstraram risco de transmissão de HTLV-1 do marido para esposa de

60,8% e da esposa para o marido em 0,4% em um período de 10 anos de parceria sexual ativa.

Em relação ao HTLV-2, admite-se que seus mecanismos de transmissão sejam os mesmos descritos para o HTLV-1 e outros retrovírus humanos (Roucoux et al., 2005).

Patogenia, história natural e manifestações clínicas das infecções causadas pelo HTLV-1 e HTLV-2

Acredita-se que apenas 1% a 4% das pessoas infectadas pelo HTLV-1 apresentem manifestações clínicas relacionadas à infecção. Na maioria dos casos, essas exteriorizam-se anos, ou mesmo décadas, após a infecção primária (Méndez et al., 1997).

Dentre as manifestações clínicas mais importantes da infecção pelo HTLV-1, destacam-se, em relação a sua morbidade ou letalidade, a paraparesia espástica tropical, também conhecida como mielopatia associada ao HTLV-1 (PET/MAH) e a leucemia/linfoma de células T do adulto (LLcTA). Adicionalmente, verifica-se a associação causal entre essa retrovirose e diversas outras síndromes de natureza inflamatória, tais como

uveíte, polimiosite e artropatia crônica inflamatória (Yamaguchi, 1994; Edlich et al., 2000).

Já a infecção pelo HTLV-2 é considerada menos patogênica, havendo poucos relatos de alterações neurológicas associados a essa retrovirose (Araújo e Hall, 2004).

Do ponto de vista patogênico, acredita-se que a infecção pelo HTLV tenha início através da interação das glicoproteínas do envelope viral com receptores situados junto à membrana plasmática das células alvo (linfócitos T CD4+). Após a introdução do material genético no citoplasma da célula, observa-se a transcrição reversa do RNA viral, dando origem à molécula de DNA complementar de fita dupla, que após a migração para o núcleo da célula, integra-se ao genoma passando a ser denominada DNA proviral. Embora permaneça latente na maioria das células T, e dessa forma indetectável pelo sistema imune do hospedeiro, a infecção produtiva pelo HTLV induz a ativação de linfócitos, os quais respondem através de múltiplos mecanismos da resposta imune celular e humoral (Carneiro-Proietti et al., 2002; Brasil, 2003).

Paraparesia Espástica Tropical/Mielopatia Associada ao HTLV-1 (PET/HAM)

O risco de desenvolvimento da PET/MAH em portadores do vírus é estimado em 1,9%, variando de acordo com o sexo, de 1,3% entre os homens a 1,8% entre as mulheres, justificando-se tal discrepância pela participação de cofatores associados, tais como início mais precoce da atividade sexual (Maloney et al., 1998).

Essa doença neurodegenerativa caracteriza-se clinicamente como uma mielopatia crônica, de evolução lentamente progressiva, com desenvolvimento de paraparesia espástica com liberação piramidal, preferencialmente em membros inferiores. Incide geralmente entre a 4ª e 5ª décadas de vida. O quadro paraparético é freqüentemente acompanhado de distúrbios esfinterianos, tais como retenção urinária e/ou fecal e de distúrbios sensoriais discretos (Morgan, 1990; Osame et al., 1990).

Os achados liquóricos mais freqüentes nessa condição compreendem uma leve pleocitose linfomonocitária e discreta hiperproteinorraquia, com distribuição oligoclonal das gamaglobulinas (Osame et al., 1987; Spina-França et al., 1990; Edlich et al., 2000). À ressonância nuclear magnética do sistema nervoso, verifica-se hipersinal na medula espinhal, caracteristicamente em localização preferencial correspondente à medula

torácica, e, em casos mais avançados de doença, sinais de atrofia medular (Ogata et al., 1993; Carneiro-Proietti et al., 2002). Ao lado disso, podem-se também observar áreas de hiper-sinal em substância branca periventricular, predominantemente em regiões posteriores dos ventrículos cerebrais (Edlich et al., 2000; Milagres et al., 2002).

Histopatologicamente identifica-se processo inflamatório resultante de infiltração linfocitária na medula espinhal, sendo que os elementos celulares são, ao longo do tempo, substituídos por degeneração da substância branca e reação glio-mesenquimal (Araújo e Hall, 2004).

Do ponto de vista patogênético, fortes evidências sugerem que o tecido nervoso seja lesado de forma indireta pelo HTLV-1. Linfócitos infectados, apresentando maior capacidade de migração para o sistema nervoso central, liberariam citocinas e outros fatores neurotóxicos, que seriam lesivos às células do parênquima (Araújo e Andrada-Serpa, 1996).

A evolução clínica da PET/MAH apresenta uma fase inicial de inflamação ativa, onde a progressão da incapacidade é mais rápida e uma fase de evolução crônica, caracterizada por diminuição da atividade inflamatória, com predomínio de manifestações dependentes de seqüelas do dano neurológico já estabelecido (Araújo et al., 1995).

Leucemia/Linfoma de células T do adulto (LLcTA)

A leucemia/Linfoma de células T do adulto (LLcTA), descrita originalmente no Japão por Yoshida et al. (1982) caracteriza-se como uma leucemia de linfócitos T maduros, que incide geralmente em adultos, apresentando-se clinicamente como adenomegalia generalizada, acompanhada de hepatoesplenomegalia, lesões osteolíticas, hipercalcemia e freqüentes manifestações cutâneas, em especial, a eritrodermia (Yamaguchi et al., 1994). No sangue periférico, podem ser encontrados linfócitos com morfologia atípica, exibindo núcleos multilobulados (células ATL), característicos dessa afecção. Ao longo da vida 1 a 5 % dos portadores de infecção pelo HTLV-1 poderá desenvolver a LLcTA, sob diferentes formas clínicas, classificadas por Shimoyama e colaboradores (1991) em:

- Aguda, com sinais e sintomas acima descritos, acompanhados de hipercalcemia e elevação dos níveis séricos de desidrogenase láctica. Nesses casos encontra-se número elevado de células ATL em sangue periférico.
- Crônica, com predomínio de linfonomegalia e hepatoesplenomegalia, acompanhadas de leucocitose. Frequentemente notam-se tosse e alterações cutâneas. A

calcemia é habitualmente normal, podendo-se observar elevações dos níveis séricos de desidrogenase láctica. Encontra-se número máximo de células ATL correspondente a 10% do total de leucócitos no sangue periférico.

- Indolente (*smoldering*), com manifestações praticamente exclusivas à pele, com áreas de eritema, pápulas ou nódulos cutâneos. Apresenta evolução lenta, sem alterações séricas de cálcio ou desidrogenase láctica. Encontra-se 0,5% a 3% de células ATL.
- Linfomatosa, com linfonodomegalia acentuada, sem células atípicas em sangue periférico.

As evidências que demonstraram o papel etiológico do HTLV-1 nessa doença são: A - presença de LLcTA em região endêmica para infecção pelo HTLV-1; B - todos os pacientes com LLcTA apresentam anticorpos para HTLV-1 e C - a integração monoclonal do DNA proviral nas células leucêmicas dos pacientes, confirmando que a LLcTA surgiu da transformação maligna de uma célula previamente infectada com HTLV-1 (Franchini, 1995).

Nas duas formas mais agressivas da ATL, as formas aguda e linfomatosas, a síndrome tumoral causa linfadenomegalia generalizada, hepatoesplenomegalia, lesões ósseas líticas e múltiplas lesões viscerais com infiltração cutânea e pulmonar (Bazarbachi et al., 2001). Nesses indivíduos o prognóstico é reservado, com sobrevida média de 12 meses, apesar do emprego de regimes quimioterápicos atuais.

Devido à superposição de sinais clínicos com outras doenças linfoproliferativas (leucemia linfóide crônica, síndrome de Sézary e linfomas), a LLcTA possivelmente permanece subdiagnosticada em vários países do mundo (Shimoyama, 1991), inclusive o Brasil (Jorge, 2001)

Diagnóstico das infecções causadas pelo HTLV-1 e HTLV-2

O diagnóstico laboratorial de infecção pelo HTLV baseia-se na detecção sorológica de anticorpos especificamente voltados a antígenos virais. Vem sendo realizado em situações de rastreamento, como na triagem sorológica para HTLV-1/2 em hemocentros nacionais, obrigatória desde 1993 (Brasil, 2003), ou frente a casos de suspeita clínica de doença associada a essas retrovíroses. Na investigação da infecção pelo HTLV-1/2, o teste imunoenzimático (ELISA) é o mais utilizado, especialmente na triagem sorológica em bancos de sangue, mas, apesar de sua alta

sensibilidade e especificidade, tal técnica pode exibir baixo valor preditivo positivo, além de possuir o inconveniente da reatividade cruzada entre os tipos 1 e 2. Atualmente, a maioria dos testes de ELISA utilizados comercialmente emprega em sua base antigênica lisado de células infectadas, acrescido de proteínas virais obtidas por tecnologia recombinante, ou de peptídeos sintéticos, com o intuito de aumentar seu desempenho analítico. Na prática clínica são ainda necessariamente utilizados testes sorológicos confirmatórios, realizados por meio da reação de *Western Blot* (WB) (Carneiro-Proietti et al., 2002; Colin et al., 2003).

Em contraste à infecção pelo VHC, não se reconhece a possibilidade de clareamento viral após uma infecção pelo HTLV. Nesse sentido a detecção sorológica de anticorpos específicos, voltados a antígenos do *core* e do envelope viral, é suficiente para diagnóstico de infecção atual por esses retrovirus.

Assim sendo, o emprego diagnóstico da amplificação de seqüências genômicas do DNA proviral de HTLV pela PCR, a partir de células mononucleares do sangue periférico, fica reservado aos casos de sororreatividade indeterminada aos testes de WB, para esclarecimento dos casos soropositivos, nos quais os testes confirmatórios não foram capazes de identificar o tipo de HTLV responsável pela infecção ou para a elucidação de casos de transmissão materno-infantil.

1.3. Coinfecção VHC - HTLV

Por apresentarem mecanismos de transmissão inter-humana superponíveis, a ocorrência de infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) e vírus linfotrópicos de células T humanas tipo 1 ou 2 (VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2) é esperada em grupos populacionais expostos aos mesmos fatores de risco de aquisição viral.

Entre usuários de drogas, por exemplo, de la Fuente e colaboradores (2006) avaliaram a prevalência e os principais fatores de risco para a infecção pelo HTLV-1/2 em jovens residentes das principais cidades da Espanha. Apesar de não terem encontrado evidência de infecção pelo HTLV-1 nessa população, observaram que 6,2% e 3,5% dos jovens estudados, respectivamente, em Madri e Barcelona, eram soropositivos para a infecção causada pelo HTLV-2. Essa infecção retroviral mostrou-se fortemente associada às coinfeções pelo HIV ou VHC, e ao uso recente de drogas injetáveis (em período inferior a 30 dias).

Analogamente, avaliando-se as infecções virais em UDEV argentinos, observou-se prevalência de 44,3% para HIV, 54,6% para VHC, 42,5% para o vírus da hepatite B (VHB), 2,3% para HTLV-1 e 14,5% para HTLV-2. Nos indivíduos infectados por HTLV as múltiplas coinfeções foram a regra. Todos os pacientes soropositivos para infecção pelo HTLV-1 e 92% dos

pacientes com HTLV-2 mostraram-se coinfectedados com HIV. Dentre os usuários HIV-positivos, as coinfeções mais significativas foram com VHC e HTLV-2 (Weissenbacher et al., 2003).

Em inquérito soropidemiológico conduzido em 226 pacientes hemofílicos de Belo Horizonte, revelou-se soropositividade para infecção por HTLV-1/2 em 4,9%. Nesses 16 indivíduos as coinfeções com outros agentes infecciosos de transmissão sangüínea foram comuns, mostrando-se a infecção por HTLV associada à soropositividade concomitante a HIV, VHC e *Trypanosoma cruzi* (Carneiro-Proietti et al., 1998).

Já entre homens que fazem sexo com homens, em estudo realizado na Argentina, Pando et al. (2006) estimaram a prevalência das infecções por VHC e HTLV-1/2 em 1,9% e 0,3%, respectivamente. Esses autores, entretanto, não detalharam em seu estudo a prevalência de coinfeção entre tais agentes virais.

A presença de coinfeções foi evidenciada em estudo de portadores do HIV, realizado no Centro de Referência em AIDS de Londrina. Entre pacientes atendidos nesse serviço, foram encontradas soroprevalências de 21% para infecção pelo VHC e de 0,8% e 4,9%, respectivamente, para as causadas por HTLV-1 e HTLV-2. Essas infecções retrovirais foram mais freqüentes entre os UDEV (59,2%) e apresentaram forte associação com a

infecção causada pelo VHC (OR=22,6; IC 95%=10,35-49,35) (Morimoto et al., 2005).

Ferreira et al. (1995), estudando uma população de candidatos à doador de sangue em São Paulo, encontraram prevalência de infecção pelo HTLV-1/2 igual a 0,18% (IC 95%=0,11-0,24). Nessa população pôde-se identificar associação significativa entre a infecção pelo HTLV-1 com a etnia asiática (OR=15,1) e com idade superior a 50 anos. A infecção pelo vírus da hepatite C, por sua vez, mostrou-se fortemente associada às infecções causadas pelos vírus HTLV-1 (OR=21,8) e HTLV-2 (OR=75,2), sugerindo maior risco dessas coinfeções também para a população de candidatos a doador de sangue.

A coinfeção VHC/HTLV merece ainda ser avaliada do ponto de vista patogénético. Acredita-se que interações observadas na infecção simultânea por esses agentes virais possam alterar sua história natural.

No tocante à interação agente-hospedeiro, há evidências de que a infecção causada pelo HTLV-1 pode acarretar disfunção da resposta imune celular (Biasutti, 2001; Goon, Bangham, 2004; Porto et al., 2004). O estudo da coorte de Miyazaki, localidade japonesa, na qual a infecção pelo HTLV-1 é endêmica (taxa de soroprevalência de 20%), avaliou, entre outros aspectos, o impacto dessa infecção retroviral sobre a imunidade do hospedeiro infectado. Hisada e colaboradores (1998), ao estudarem 300

pacientes dessa população, demonstraram, por meio de análise multivariada, que a anergia ao teste tuberculínico, empregando o PPD (*Purified Protein Derivative*), foi significativamente maior entre os pacientes infectados pelo HTLV-1, quando comparados aos soronegativos para essa infecção (OR=2,8). De forma interessante, a coinfeção VHC/HTLV-1 elevou ainda mais o risco de anergia ao PPD (OR=5,2).

Sabe-se que a capacidade de resposta imune celular está significativamente associada ao clareamento da infecção pelo VHC, bem como ao desenvolvimento e progressão da hepatopatia relacionada a esse agente viral. Uma vez que esse mecanismo efetor da resposta imune pode estar deficiente na infecção pelo HTLV-1, é de se cogitar que a história natural da infecção pelo VHC possa ser alterada na coinfeção VHC/HTLV-1.

Nesse sentido, buscou-se avaliar a associação entre coinfeção VHC/HTLV-1 e hepatocarcinoma em áreas de alta endemicidade de ambas infecções virais. Em estudo transversal japonês, Okayama et al. (1995) verificaram que a soroprevalência de infecção pelo HTLV-1 em pacientes com carcinoma hepatocelular associado ao VHC (30%) foi superior à de pacientes de mesma idade com hepatite crônica causada por esse agente (9,5%). Sugeriu-se que tal coinfeção possa, em áreas de alta endemicidade para essa retrovirose, contribuir para elevar o risco de desenvolvimento dessa neoplasia hepática em indivíduos com hepatite crônica pelo VHC.

Estudos realizados a partir do seguimento da coorte populacional de Miyazaki corroboraram o papel da coinfeção VHC/HTLV-1 na alteração da história natural da infecção pelo VHC. Nessa série de pacientes, verificou-se que a infecção pelo VHC associou-se de modo estatisticamente significativa com morbidade por doença hepática (RR=3,5) e com mortalidade por carcinoma hepatocelular (RR=8,2). Ao se avaliar especificamente o papel da coinfeção VHC/HTLV-1, condição essa encontrada em 28% dos indivíduos portadores de VHC dessa localidade, observou-se sinergismo entre as duas infecções tanto em relação à morbidade por doença hepática (RR=5,9), como também para o risco de morte por câncer hepático (RR=21,9). Interpretou-se assim que, em pacientes com coinfeção VHC/HTLV-1, a infecção de células T CD4+ por esse retrovírus possa interferir na resposta citotóxica específica contra hepatócitos infectados pelo VHC, determinando ineficácia dessa resposta, com conseqüente persistência da lesão hepática, aceleração da progressão da doença e eventual desencadeamento do processo de hepatocarcinogênese (Boschi-Pinto et al., 2000).

Ao lado disso, sabe-se que em indivíduos soropositivos para a infecção pelo VHC a prevalência e a intensidade da viremia plasmática, bem como a resposta virológica ao tratamento com interferon são associadas à capacidade de resposta imune específica do hospedeiro. Analisando esses marcadores, Kishihara et al. (2001) observaram que a prevalência de viremia plasmática de RNA do VHC foi significativamente mais elevada entre os coinfectados com HTLV-1, quando comparados aos portadores de VHC,

isoladamente. Esse achado sugere menor probabilidade de clareamento da infecção pelo VHC na presença de coinfecção pelo HTLV-1. Ao lado disso, notou-se também que os pacientes coinfectados apresentaram menor frequência de resposta virológica sustentada ao tratamento antiviral com interferon, quando comparados aos indivíduos infectados pelo VHC, isoladamente. Nesse estudo, no entanto, não se mostrou associação entre a coinfecção com HTLV-1 e a intensidade de viremia plasmática do VHC.

Um aumento da intensidade de replicação do VHC poderia justificar maior prevalência e intensidade de viremia plasmática em pacientes infectados por esse agente. Embora não haja evidências conclusivas de que a coinfecção VHC/HTLV-1 possa induzir maior replicação do VHC *in vivo*, trabalhos experimentais revelaram que a linhagem celular MT-2, infectada pelo HTLV-1, é permissiva à invasão pelo VHC e suporta infecção produtiva desse agente viral (Kato et al., 1995; Mizutani et al., 1996).

Raciocínio análogo vem sendo levantado à análise das repercussões clínico-laboratoriais na coinfecção pelos vírus VHC e HIV. Na presença de imunodepressão, causada pela infecção por esse lentivirus, demonstra-se progressão mais rápida da hepatopatia associada ao VHC (Pavan et al., 2003; Winnock et al., 2004; Rodriguez-Torres et al., 2006). Nesse último estudo, os autores demonstraram que o grupo coinfectado, em sua maioria composta por jovens UDEV, apresentou viremia plasmática do RNA de VHC significativamente mais elevada e atividade necroinflamatória hepática mais

intensa do que o grupo com infecção por VHC. O tempo médio de evolução para cirrose entre os coinfectados foi de 32 anos, significativamente inferior aos 42 anos, observados entre indivíduos infectados pelo VHC, isoladamente.

2. JUSTIFICATIVA

Pelo exposto, verifica-se que ainda existem lacunas no conhecimento dos aspectos clínico-epidemiológicos da coinfeção VHC/HTLV.

Visando contribuir para maior compreensão dos fatores associados à essa coinfeção, assim como seu impacto clínico-laboratorial em nosso meio, foi idealizado o presente estudo. Sua condução justifica-se ainda pela importância epidemiológica que as infecções causadas por VHC e HTLV apresentam em nosso país, quando comparada à observada em outras regiões do mundo.

A execução dessa investigação científica foi facilitada pelo fato da Divisão de Clínica de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DMIP HC-FMUSP) dispor de serviços ambulatoriais especializados, já bem estruturados, para o atendimento de pacientes portadores do VHC desde 1988 e para os infectados por HTLV-1/2 desde 1991 (Segurado, 2001).

3. OBJETIVOS

Comparar uma série de pacientes coinfectados pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 ou 2 (VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2) com indivíduos infectados pelo vírus da hepatite C no tocante a:

- características sócio-demográficas e exposição a essas infecções virais
- alterações clínicas e laboratoriais
- alterações histológicas do parênquima hepático

4. MÉTODOS

4.1. Delineamento do estudo

O trabalho foi desenvolvido como um estudo transversal com a participação voluntária dos sujeitos. Aos candidatos foi fornecida uma explicação sucinta do objetivo da pesquisa e suas implicações, ressaltando o caráter confidencial das informações.

4.2. Seleção de casos e controles

Foram considerados elegíveis como **casos**, adultos (idade igual ou superior a 18 anos) com diagnóstico de infecção concomitante pelo VHC e HTLV-1 ou HTLV-2 (**coinfectados VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2**), definido com base em algoritmos laboratoriais detalhados a seguir, matriculados na DMIP HC-FMUSP e atendidos no ambulatório especializado de portadores dos vírus HTLV-1/2, no período de janeiro de 1993 a agosto de 2005. É importante ressaltar que essa população foi constituída, em sua maioria, por pacientes encaminhados ao ambulatório após doação de sangue na Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo.

Como **controles**, consideraram-se elegíveis os pacientes **infectados pelo VHC** e não infectados pelo HTLV-1 ou HTLV-2, com idade igual ou superior a 18 anos e em acompanhamento no ambulatório da DMIP HC-FMUSP, tomando como base os algoritmos de diagnóstico laboratorial descritos mais pormenorizadamente a seguir.

Para identificação dos pacientes elegíveis como **casos** ou **controles** foram avaliadas as fichas de dados padronizadas, preenchidas no atendimento ambulatorial desses pacientes, bem como os resultados de exames laboratoriais, obtidos por consulta aos terminais informatizados do ambulatório da DMIP HC-FMUSP. Os procedimentos utilizados nessa seleção encontram-se esquematizados de modo sintético na Figura 1.

Figura 1. Seleção de casos e controles – HC-FMUSP – 1993 a 2005

4.3. Critérios de exclusão

Na seleção tanto de **casos** como de **controles**, excluíram-se os pacientes que apresentavam:

- infecção atual ou pregressa pelo vírus da hepatite B (VHB), definida por reatividade ao antígeno de superfície viral (AgHBs) ou presença de anticorpos voltados ao antígeno do *core* viral (anti-HBc total), por método imunoenzimático
- coinfeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV-1), definida pela reatividade à pesquisa de anticorpos específicos (anti-HIV) pelo método imunoenzimático (ELISA) e confirmada por reatividade a antígenos do *core* e do envelope virais ao método de *Western blot*
- história de recepção de transplante de órgãos

Na investigação das alterações histológicas do parênquima hepático, foram ainda excluídos dos grupos de **casos** e **controles**, os pacientes dos quais não se dispunha de fragmento hepático representativo, conforme definido por Colloredo et al. (2003), no arquivo de material biológico da Divisão de Anatomia Patológica do HC-FMUSP.

4.4. Algoritmos diagnósticos

Diagnóstico de infecção pelo vírus da hepatite C

O diagnóstico de infecção pelo VHC foi realizado através dos seguintes métodos:

- Teste enzimático (ELISA) de segunda geração ou terceira geração sororreagente em uma primeira amostra de sangue periférico, realizado segundo recomendações do fabricante.
- Amplificação genômica do RNA do VHC, por meio de reação em cadeia por polimerase tipo aninhado (*nested* PCR), a partir de uma segunda amostra de plasma, obtida de sangue periférico, utilizando tecnologia desenvolvida por Garson et al. (1990a, 1990b), com modificações *in house*, conforme detalhado a seguir.

Após o tratamento inicial da amostra, o RNA viral foi transcrito em seu DNA complementar (cDNA), pela ação da enzima transcriptase reversa, e posteriormente amplificado em duas reações em cadeia por polimerase (PCR) consecutivas do tipo aninhado (*nested* PCR), utilizando quatro oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) PTC-1 (5'CGT TAG TAT GAG TGT

CGT G3') e NCR-2 (5' ATA CTC GAG GTG CAC GGT CTA CGA GAC CT3') (primeira amplificação) e PTC-3 (5'AGT GTC GTG CAG CCT CCA GG3') e NCR-4 (5' CAC TCT CGA GCA CCC TAT CAG GCA GT3') (segunda amplificação) (Genomic Engenharia Molecular Ltda., São Paulo-SP, Brasil), da região 5' não codificante do genoma viral.

Reação de extração do RNA e síntese do DNA complementar (cDNA) do VHC

O RNA do VHC foi extraído a partir de 100µl de soro somados a 250 µl de Trizol LS (Gibco BRL). Após rápida agitação, foram acrescentados 50µl de clorofórmio (CHCl₃) e o tubo submetido novamente a agitação vigorosa.

Em seguida, a solução foi centrifugada a aproximadamente 10.000g por 5 minutos. Após a separação da fase aquosa, esta foi transferida para um novo tubo contendo 300µl de isopropanol, e submetida a nova centrifugação por 10 minutos, sendo o sobrenadante desprezado e o precipitado resultante lavado com etanol. Após a retirada do volume líquido, com a secagem completa do etanol residual, o precipitado de RNA foi submetido a uma reação de transcrição reversa para obtenção do cDNA. Os componentes da solução para essa etapa foram:

-5µl de tampão 5x concentrado para enzima transcriptase reversa (Gibco BRL)

- 2µl de dithiothreitol (DTT) 0,1 M (Gibco BRL)
- 2µl de desoxirribonucleosídeos trifosfatados (dNTP) 10mM (Pharmacia Biotech)
- 1µl de inibidor de ribonuclease clonado (Gibco BRL) 10U/µl
- 1µl de enzima transcriptase reversa (Super Script II - Gibco BRL)
- 0,5µl do primer NCR-2 a 50pmol/µl
- Água Milli-Q, tratada com DEPC até completar o volume de 25µl

A reação de transcrição reversa ocorreu inicialmente a uma temperatura de 42°C por 60 minutos, seguida por 15 minutos a 95°C.

O cDNA resultante foi submetido a *nested*-PCR nas seguintes condições:

Reação em cadeia por polimerase (*nested*-PCR)

Primeira amplificação

Ao volume de 10µl de cDNA, foram adicionados 40µl de uma solução, contendo:

- 5µl de tampão da enzima Taq-DNA-polimerase 10x concentrado (Gibco BRL)

- 2µl de desoxirribonucleosídeos trifosfatados (dNTP) 10mM (Pharmacia Biotech)
- 1,2µl de MgCl₂, 50mM (Gibco BRL)
- 0,5µl de primer (externo) PTC-1 a 50pmol/µl
- 0,5µl de primer (externo) NCR-2 a 50pmol/µl
- 0,5µl de enzima *Taq*-DNA-polimerase (Gibco BRL)
- Água Milli-Q, tratada com DEPC até completar o volume de 40µl

O primeiro ciclo de amplificação foi realizado em termociclador automático (Pharmacia LKB-Gene ATAQ Controler), seguindo-se o protocolo abaixo discriminado (Quadro 1).

Quadro 1 - Protocolo de amplificação de seqüências genômicas de VHC por reação de *nested* PCR

Fase	Temperatura	Tempo	nº de ciclos
Desnaturação	94°C	40seg	25
Anelamento dos <i>primers</i>	55°C	40seg	25
Extensão	72°C	40seg	25
Extensão final	72°C	7min	1

Segunda amplificação (*nested* PCR)

-5µl do produto resultante da primeira amplificação, foram adicionados 45µl de uma solução, contendo:

- 5µl de tampão da enzima *Taq*-DNA-polimerase 10x concentrado (Gibco BRL)
- 3µl de desoxirribonucleosídeos trifosfatados (dNTP) 10mM (Pharmacia Biotech)
- 1,2µl de MgCl₂, 50mM (Gibco BRL)
- 0,5µl de primer (interno) PTC-3 a 50pmol/µl
- 0,5µl de primer (interno) NCR-4 a 50pmol/µl
- 0,5µl de enzima *Taq*-DNA-polimerase (Gibco BRL)
- Água Milli-Q, tratada com DEPC até completar o volume de 45µl

O protocolo seguido na segunda amplificação da *nested* PCR foi idêntico ao descrito para a primeira amplificação (Quadro 1).

Os produtos da segunda amplificação foram submetidos a eletroforese, em gel de agarose a 3% corado com brometo de etídeo (Gibco BRL) e visualizados através de radiação ultravioleta. A positividade, ou seja, a presença de seqüências amplificadas do genoma de VHC foi evidenciada com a visualização de banda fluorescente correspondente a 187 pb. Foi utilizado, como referência, padrão de peso molecular de 100 pb. (Garson et al., 1990; Garson et al., 1990a).

Os testes acima descritos foram realizados no Laboratório da Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo e no Laboratório de Investigação Médica em Hepatites (LIM-47) do HC-FMUSP.

Diagnóstico das infecções pelos vírus HTLV-1 e HTLV-2

O diagnóstico das infecções pelo HTLV-1 e HTLV-2 foi realizado através dos seguintes métodos:

- Detecção em duplicata, de anticorpos específicos no soro dos pacientes testados por ensaio imunoenzimático (ELISA) com *kits* comerciais (*Organon Teknika Corp.*, Durham, NC, no período de janeiro de 1992 a junho de 1993, e Embrabio, São Paulo, SP, a partir de julho de 1993), segundo recomendações dos fabricantes.
- Confirmação de sororeatividade pelo método de *Western Blot*, utilizando-se, até 1996, o *kit* comercial WB2.3 e, a partir de 1997, o WB2.4 (*Diagnostic Biotechnology Ltda.*, Cingapura), de acordo com os critérios de interpretação recomendados pelo fabricante e descritos a seguir:

Soropositivo para infecção por HTLV-1, presença de reatividade às proteínas codificadas pelo gene *gag* (p19 e/ou p24), e aos peptídeos recombinantes derivados de proteínas codificadas pelo gene *env* (gd21 e rgp46-1).

Soropositivo para infecção por HTLV-2, presença de reatividade às proteínas codificadas pelo gene *gag* (p19 e/ou p24), e aos peptídeos recombinantes derivados de proteínas codificadas pelo gene *env* (gd21 e rgp46-2).

Soropositivo para infecção por HTLV, presença de reatividade às duas proteínas codificadas pelo gene *gag* (p19 e p24), e ao peptídeo recombinante derivado da proteína codificada pelo gene *env* (gd21), na ausência de reatividade aos peptídeos recombinantes tipo-específicos (rgp46-1 ou rgp46-2).

Soroindeterminado, presença de sororreatividade com perfil distinto do exigido pelos critérios definidos acima como de soropositividade.

Soronegativo infecção por HTLV, ausência de reatividade a antígenos virais.

- Amplificação genômica de seqüências provirais de HTLV-1/2 pela técnica de PCR (Heneine et al., 1992), realizada em amostras de sangue colhidas com anticoagulante ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA), submetidas a processamento de lise dos glóbulos vermelhos, por reação com solução de saponina a 0,4% em solução salina a 0,5%. Os glóbulos brancos remanescentes foram lavados três vezes com solução salina 0,9%, sendo a

suspensão de leucócitos, então, submetida à extração de DNA, seja por meio do emprego de *kit* comercial GFX^{TM} *Genomic – Blood DNA Purification* 27-9603-01 (Amersham Pharmacia Biotech Inc.) ou DNAzol^{TM} (Gibco) após digestão com enzima proteolítica proteinase K (Innis et al., 1990).

A amplificação de seqüências *tax* do DNA proviral foi executada pelo método de PCR aninhada (*nested* PCR), empregando-se *primers* consensuais para os vírus HTLV-1 HTLV-2. Na primeira etapa de amplificação utilizaram-se os *primers* SK 43 (*tax*, HTLV-1, nt 7359-7378) (5' CGG ATA CCC AGT CTA CGT GT 3') e SK 44 (*tax*, HTLV-1, nt 7517-7497) (5' GAG CCG ATA ACG CGT CCA TCG 3'), e na segunda etapa os *primers* TAX1 (*tax*, HTLV-1, nt 7375-7394) (5' GTG TTT GGC GAT TGT GAT CA 3') e TAX2 (*tax*, HTLV-1, nt 7502-7486) (5' CCA TCG ATG GGG TCC CA 3'). Foram realizados 35 ciclos de amplificação em temperaturas de 94, 55 e 72°C para a desnaturação do DNA, pareamento dos *primers* e extensão das cadeias, em ciclador térmico automático (Perkin Elmer Corp., Emeryville, EUA). Em todas as reações foram empregados controles externos positivos (amostras comprovadamente positivas) e negativos (amostras comprovadamente negativas e alíquota da solução de reagente sem amostra biológica).

Consideraram-se positivas para região *tax* as amostras que revelaram produtos de amplificado com 159 pb e 128 pb à PCR primária e *nested* PCR respectivamente.

Após eletroforese em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídeo (BrEt), a distinção entre infecção pelo HTLV-1 ou pelo HTLV-2 dependeu da análise de polimorfismo de fragmentos de restrição (*restriction fragment length polymorphism* – RFLP) dos produtos da *nested* PCR, empregando-se a endonuclease de restrição *Taq-I* (Promega Corp., Madison, EUA), conforme protocolo descrito por Tuke e colaboradores (1992). Os produtos da digestão foram visualizados após nova eletroforese em gel de agarose, com coloração pelo brometo de etídio (Maniatis et al., 1989), identificando-se seqüências nucleotídicas de 122 ou 69 e 53 pb respectivamente nas infecções pelos vírus HTLV-1/2.

Os testes sorológicos anti-HTLV da casuística estudada foram realizados na Divisão de Sorologia-Departamento de Diagnóstico e Pesquisa da Fundação Pró-sangue/Hemocentro de São Paulo.

Os testes de biologia molecular para diagnóstico de infecção pelo HTLV foram realizados no Laboratório de Investigação Médica em Virologia (LIM-52) do HC-FMUSP.

4.5. Procedimentos do estudo

Inclusão de casos e controles

Os pacientes elegíveis como **casos** e **controles** foram convidados a participar do projeto de pesquisa durante suas avaliações ambulatoriais periódicas na DMIP HC-FMUSP, a partir da aprovação do protocolo de investigação pela CAPPESq em novembro de 2003 (Anexo A). Aqueles que não compareceram a consultas foram convidados, por meio de contato telefônico realizado pelos investigadores, a comparecer ao ambulatório para avaliação clínica e demais procedimentos do estudo. Os pacientes com os quais não foi possível contato telefônico tiveram apenas seus prontuários revisados.

Coleta de dados

Os pacientes que concordaram em participar do estudo foram incluídos na pesquisa, tomando-se como momento da admissão, data anterior à realização de biópsia hepática, que não excedesse 60 dias da execução desse procedimento e prévia a qualquer intervenção terapêutica especificamente relacionada ao manejo da infecção pelo VHC.

As entrevistas individuais com os pacientes incluídos no estudo nos grupos de **casos e controles** foram realizadas de forma padronizada pelo investigador ou por colaboradores ligados ao ambulatório de atendimento a pacientes portadores do VHC, após discussão do instrumento de coleta (Anexo B). Assim também coube ao investigador proceder à coleta dos dados clínicos e laboratoriais desses pacientes. Os dados laboratoriais incluídos na análise do estudo referem-se às determinações executadas por ocasião da admissão dos pacientes no estudo.

O estudo histológico do tecido hepático foi realizado nos **casos e controles** por meio de revisão sistemática das lâminas de biópsia hepática, segundo os critérios diagnósticos de Ishak et al. (1995). Todos os exames histopatológicos foram analisados pelo mesmo observador, experiente nesse

tipo de avaliação, e de forma cega para a situação de inclusão do paciente no estudo como **caso** ou **controle**.

Montagem de banco de dados

Inicialmente foi elaborado um banco de dados informatizado, utilizando-se o *software* microsoft excel, versão 2002, contendo os dados obtidos com o instrumento de coleta padronizado. Para condução da análise estatística, utilizou-se ainda o *software* SPSS, versão 13.0.

Seleção de variáveis

Para seleção das variáveis de interesse foram levantados na literatura os fatores de risco potencialmente associados à aquisição viral, as variáveis clínicas, laboratoriais e histológicas relacionadas à infecção pelos vírus HTLV-1/2 e VHC, a plausibilidade biológica das possíveis associações e a disponibilidade das informações a partir dos dados coletados.

Variáveis sócio-demográficas e hábitos

Foram avaliadas as variáveis sexo; faixa etária - categorizada em quatro estratos (de 18 a 29 anos; de 30 a 39 anos; de 40 a 49 anos; igual ou superior a 50 anos); cor da pele (branca, parda, preta, amarela); estado civil (casado, solteiro, separado, viúvo); escolaridade - categorizada em três estratos (até 7 anos, entre 8 e 10 anos e igual ou superior a 11anos) e naturalidade (São Paulo, outro estado).

Foram avaliados também antecedentes associados ao tabagismo e uso de álcool.

Variáveis de risco de exposição às infecções de transmissão sangüínea ou sexual

Foram avaliados antecedentes associados ao uso de drogas endovenosas e de cocaína inalatória, recepção de transfusão sangüínea, tatuagem, acupuntura, parceria sexual com indivíduos portadores de hepatite, parceria sexual com usuário de drogas endovenosas (UDEV) e número de parceiros sexuais no último ano.

Variáveis relacionadas ao quadro clínico

Foram avaliadas variáveis associadas à presença de sinais e sintomas de hepatopatia (tais como icterícia, ascite, epistaxe, eritema palmar, teleangectasias), astenia, dor abdominal, alterações cutâneas, alterações neurológicas (paresias, parestesias) e presença de hepatomegalia e/ou esplenomegalia ao exame clínico.

Variáveis laboratoriais

A avaliação laboratorial compreendeu a determinação das variáveis relacionadas no quadro 2, que descreve ainda seus valores de normalidade.

Quadro 2 - Variáveis laboratoriais e valores de normalidade HC-FMUSP – 1993-2005

Variável	Valor de normalidade
Hemoglobina (g/dL)	11,7-14,0
Hematócrito (%)	35-42
Leucócitos (mil/mm ³)	4-10
Neutrófilos(mil/mm ³)	2-7
Plaquetas (mil/mm ³)	150-450
Aspartato aminotransferase - AST (UI/L)	10-35
Alanina amimotransferase - ALT (UI/L)	9-43
Gama glutamiltransferase - GGT(UI/L)	homem 11-55; mulher 7-33
Fosfatase alcalina - FA (UI/L)	37-147
Atividade de protrombina - AP (%)	80-100
Glicose (mg/dL)	75-115
Bilirrubina direta (mg/dL)	até 0,25
Bilirrubina total (mg/dL)	até 1,1
Proteínas-concentração total (g/dL)	6,7-8,7
Albumina (g/dL)	3,8-5,0
Gamaglobulina (g/dL)	0,7-1,6

Variáveis associadas à histologia hepática

Para a interpretação das alterações histológicas do parênquima hepático utilizou-se a classificação de Ishak et al. (1995), que leva em consideração os seguintes aspectos:

Quadro 3 - Escore de fibrose e atividade necroinflamatória conforme classificação de Ishak et al. (1995)

	escore	Alterações
Arquitetura hepática	0	preservada, sem fibrose
	1	fibrose de alguns espaços porta, com ou sem septos fibrosos curtos
	2	fibrose da maioria dos espaços porta, com ou sem septos fibrosos curtos
	3	fibrose da maioria dos espaços porta com pontes porta-porta ocasionais
	4	fibrose portal com pontes porta-porta e algumas pontes porta-centro
	5	fibrose portal acentuada com numerosas pontes porta-porta e porta-centro com nódulos ocasionais
	6	cirrose
Espaço porta / Inflamação	0	ausente
	1	mínima, em alguns espaços porta
	2	discreta, alguns ou todos os espaços porta
	3	moderada, em todos os espaços portais
	4	intensa, em todos os espaços porta
Hepatite de interface	0	ausente
	1	mínima (focal, em alguns espaços porta)
	2	discreta (focal, na maioria dos espaços porta) (+)
	3	Moderada (contínua, em menos de 50% dos espaços porta ou septos)
	4	intensa (contínua, em número igual ou superior a 50% dos espaços porta ou septos)
Hepatócitos	0	necrose em lise ausente
	1	necrose em lise em um foco à objetiva 10x
	2	necrose em lise em dois a quatro focos à objetiva 10x
	3	necrose em lise em cinco a dez focos à objetiva de 10x
	4	necrose em lise em mais de 10 focos à objetiva de 10x
Necrose confluyente	0	ausente
	1	necrose confluyente focal
	2	necrose de zona 3 em algumas áreas
	3	necrose de zona 3 em muitas áreas
	4	necrose em zona 3 e ocasionais pontes porta-centro
	5	necrose em zona 3 com múltiplas pontes porta-centro
	6	necrose panacinar ou multiacinar

Essas alterações apresentadas de forma semiquantitativa por escores, avaliando-se possíveis alterações da arquitetura hepática, do espaço porta, através da avaliação da inflamação, atividade da hepatite de interface, necrose de hepatócitos e necrose confluyente, possibilitam sua comparação entre diversos estudos.

Para avaliação do grau de fibrose hepática, adotou-se como critério de alteração significativa o escore maior ou igual a três (Al-Mohri et al., 2005).

Para análise da atividade necroinflamatória, empregou-se inicialmente o escore correspondente a soma dos escores relativos a inflamação (compartimento portal), hepatite de interface (compartimento periportal), necrose de hepatócitos (compartimento lobular) e necrose confluyente, optando-se por categorizá-la em dois estratos de intensidade: mínima (escore de 0 a 6) e leve (escore de 7 a 12), em conformidade com dados da literatura.

Na avaliação da atividade necroinflamatória, buscou-se ainda avaliar isoladamente os compartimentos portal, periportal e lobular, classificando as alterações como ausentes (escore igual a 0) ou presentes (escore maior ou igual a 1).

4.6. Análise estatística

Inicialmente, procedeu-se à análise descritiva da série de pacientes incluídos neste estudo (grupos **VHC**, **VHC/HTLV-1** e **VHC/HTLV-2**).

As características das populações expressas por meio de variáveis categóricas relativas a dados sócio-demográficos, hábitos, fatores de risco de exposição às infecções de transmissão sangüínea ou sexual, bem como dados clínicos e laboratoriais foram apresentadas em tabelas de freqüências. As medidas numéricas (variáveis contínuas), relativas a dados laboratoriais referentes aos grupos estudados foram também descritas em tabelas de freqüências, contendo ainda seus valores mínimos e máximos e cálculos de medidas de tendência central (média e mediana) e de dispersão (desvio padrão).

Em análise bivariada compararam-se os grupos **VHC**, **VHC/HTLV-1** e **VHC/HTLV-2** em relação às variáveis categóricas e contínuas de interesse. No primeiro caso, utilizou-se o teste de qui-quadrado de homogeneidade (Agresti, 1990). No caso de variáveis contínuas, empregou-se o teste de Kruskal-Wallis (Conover, 1980).

Em relação aos dados laboratoriais construíram-se, ainda, gráficos do tipo *box-plot* (Bussab, Morettin, 1987) para as variáveis que se mostraram

significativamente diferentes na análise estatística comparativa entre os grupos.

Em seguida, realizou-se a análise discriminante linear de Fischer (Johnson e Wichern, 1998), com o intuito de definir funções classificatórias com as variáveis que conjuntamente poderiam diferenciar os três grupos de pacientes (**VHC**, **VHC/HTLV-1** e **VHC/HTLV-2**). Esse método estatístico identifica o efeito combinado das variáveis relevantes para discriminar diferenças entre os grupos estudados. Pode assim detectar diferenças sutis entre populações, ao aferir matematicamente a influência das diversas variáveis com o propósito de maximizar as diferenças entre os grupos (Bortz, 1993).

Definiram-se assim as funções classificatórias para os grupos **VHC**, **VHC/HTLV-1** e **VHC/HTLV-2**.

Na análise discriminante foram incluídas as variáveis que apresentaram valores de $P < 0,20$ à análise bivariada, e as variáveis sexo e faixa etária, independentemente dos valores de P observados.

Finalmente, com o propósito de avaliar a acurácia discriminatória do modelo construído a partir das funções classificatórias para cada um dos grupos estudados, procedeu-se à validação cruzada (*cross-validation*) da análise discriminante por meio da técnica *leave-one-out* (Chan, 2005; Dong

et al., 2005). Nesse método cada sujeito foi individualmente analisado como elemento externo ao modelo, aplicando-se a ele novas funções classificatórias, construídas com o conjunto dos demais ($n-1$) sujeitos. Posteriormente, computou-se a acurácia de classificação de cada função (em percentual de acerto), comparando-se a situação de cada sujeito à análise discriminante e à etapa de validação. A acurácia discriminatória foi considerada alta, quando o índice de acerto à de validação superou 75% (Dong et al., 2005).

Em toda a análise estatística foi adotado o nível de significância de 5%.

4.7. Aspectos éticos

Os pacientes incluídos durante seu seguimento ambulatorial de rotina assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), apresentado no Anexo C, e receberam orientações sobre as doenças em questão. Os demais pacientes incluídos, que não foram submetidos à entrevista com os pesquisadores, tiveram seu anonimato preservado durante a coleta de dados, bem como a confidencialidade do manejo das informações garantida pela equipe de pesquisadores. Nesses casos prescindiu-se de TCLE.

O projeto de pesquisa foi submetido à Comissão de Ética e Pesquisas do Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias da FMUSP e da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisas (CAPPESq) do HCFMUSP, sendo aprovado sob nº 650/03.

5. RESULTADOS

Participaram desta pesquisa 85 pacientes, sendo que 24 (28,3%) apresentavam coinfecção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (**grupo VHC/HTLV-1**), seis (7%) coinfecção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (**grupo VHC/HTLV-2**) e os demais 55 (64,7%) infecção pelo vírus da hepatite C isoladamente (**grupo VHC**).

Em seu conjunto, a série de casos estudada envolveu 45 (53%) pacientes do sexo masculino e 40 (47%) do sexo feminino, com idades compreendidas entre 20 e 59 anos (mediana 40 anos). Houve predomínio de indivíduos de cor branca (n=61; 71,8%), casados (n=44; 51,8%), com escolaridade compreendida entre 8 e 10 anos, (n=39; 45,9%), e naturais do estado de São Paulo (n=61; 71,8%).

Não se observou diferença estatisticamente significativa em relação às características sócio-demográficas dos pacientes, segundo sua classificação nos grupos VHC, VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2 (tabela 1).

Tabela 1 - Análise bivariada para comparação de 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), seis com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C, no tocante a variáveis sócio-demográficas - HC-FMUSP - 1993-2005

Variável	Grupo						P
	VHC		VHC/HTLV-1		VHC/HTLV-2		
	n	%	n	%	n	%	
Sexo							0,98
masculino	29	52,7	13	54,2	3	50,0	
feminino	26	47,3	11	45,8	3	50,0	
Faixa etária (anos)							0,18
de 18 a 29	17	30,9	5	20,8	1	16,7	
de 30 a 39	9	16,4	6	25,0	4	66,6	
de 40 a 49	19	34,5	9	37,5	1	16,7	
50 ou mais	10	18,2	4	16,7	-	-	
Cor							0,5
branca	39	70,9	17	70,8	5	83,3	
parda	13	23,6	3	12,5	1	16,7	
preta	3	5,5	3	12,5	-	-	
amarela	-	-	1	4,2	-	-	
Estado civil							0,59
casado	30	54,5	10	41,6	4	66,6	
solteiro	14	25,5	9	37,5	1	16,7	
separado	11	20,0	4	16,7	1	16,7	
viúvo	-	-	1	4,2	-	-	
Escolaridade							0,56
até 7 anos	19	34,5	6	25,0	1	16,7	
8 a 10 anos	22	40,0	14	58,3	3	50,0	
11 ou mais anos	14	25,5	4	16,7	2	33,3	
Naturalidade							0,08
São Paulo	35	63,6	21	87,5	5	83,3	
outro estado	20	36,4	3	12,5	1	16,7	

No tocante ao tabagismo e uso de álcool, verificou-se relato desses hábitos, respectivamente, em 31 (36,9%) e 32 (37,6%) pacientes.

Em relação ao hábito de fumar, não se demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes analisados. Em contraste, o uso de álcool mostrou-se significativamente mais freqüente entre os indivíduos com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2), conforme apresentado na tabela 2.

Tabela 2 - Análise bivariada para comparação de 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), seis com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C, no tocante às variáveis tabagismo e uso de álcool - HC-FMUSP - 1993-2005

Variável	Grupo						p
	VHC		VHC/HTLV-1		VHC/HTLV-2		
	n	%	n	%	n	%	
Tabagismo*							0,179
não	38	70,4	12	50	3	50,0	
sim	16	29,6	12	50	3	50,0	
Uso de álcool							0,009
não	40	72,7	12	50	1	16,7	
sim	15	27,3	12	50	5	83,3	

* dado não disponibilizado para 1 paciente do grupo VHC

Ao se avaliarem as variáveis de risco de exposição às infecções de transmissão sangüínea ou sexual, mostrou-se diferença estatisticamente significativa na proporção de pacientes que relataram terem sido usuários de drogas endovenosas (UDEV) ($p<0,001$) (tabela 3). Enquanto 66,7% dos indivíduos pertencentes ao grupo VHC/HTLV-2 referiram tal exposição, nos grupos VHC e VHC/HTLV-1 obtiveram-se apenas dois (3,6%) e quatro (16,7%) relatos, respectivamente. De modo análogo, o uso inalatório de cocaína e a referência à parceria sexual com UDEV foi significativamente mais freqüente entre indivíduos do grupo VHC/HTLV-2, quando comparados aos dos demais grupos.

O relato de parceiro sexual com passado de hepatite foi significativamente mais freqüente entre os pacientes do grupo VHC ($n=5$; 9,1%). Não souberam referir se tiveram parceiros sexuais com hepatite sete e dois pacientes dos grupos VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2, respectivamente.

Já em relação a outras variáveis de risco de exposição a infecções de transmissão sangüínea ou sexual, tais como passado de recepção de transfusão sangüínea, tatuagem, acupuntura e número de parceiros sexuais no último ano, não se observou diferença com significância estatística entre os pacientes dos grupos analisados.

Tabela 3 - Análise bivariada para comparação de 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), seis com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C no tocante a variáveis de risco de exposição às infecções de transmissão sangüínea ou sexual - HC-FMUSP - 1993-2005

Variável	Grupo						p
	VHC		VHC/HTLV-1		VHC/HTLV-2		
	n	%	n	%	n	%	
UDEV							<0,001
não	53	96,4	20	83,3	2	33,3	
sim	2	3,6	4	16,7	4	66,7	
Cocaína inalatória							0,022
não	41	74,5	21	87,5	2	33,3	
sim	14	25,5	3	12,5	4	66,7	
Parceiro sexual UDEV [#]							<0,001
não	53	96,4	17	77,3	-	-	
sim	2	3,6	5	22,7	3	100	
Parceiro sexual com hepatite ^{&}							0,001
não	50	90,9	16	94,1	4	100	
sim	5	9,1	1	5,9	-	-	
Receptor de transfusão sangüínea							0,332
não	32	58,2	12	50,0	5	83,3	
sim	23	41,8	12	50,0	1	16,7	
Tatuagem							0,061
não	51	92,7	23	95,8	4	66,7	
sim	4	7,3	1	4,2	2	33,3	
Acupuntura							0,349
não	48	87,3	23	95,8	6	100	
sim	7	12,7	1	4,2	-	-	
Nº de parceiros no último ano*							0,224
máximo 1	50	92,6	19	79,2	5	83,3	
mais de 1	4	7,4	5	20,8	1	16,7	

[#] dados não disponíveis para 7 e 2 pacientes, respectivamente, dos grupos VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2.

[&] dados não disponíveis para 2 e 3 pacientes, respectivamente, dos grupos VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2.

^{*} dado não disponível para 1 paciente do grupo VHC

UDEV = usuários de drogas endovenosas

Do ponto de vista clínico, buscou-se comparar os pacientes dos diferentes grupos estudados em relação a manifestações associadas às infecções pelo vírus da hepatite C e/ou pelo vírus HTLV (tabela 4). Nesse aspecto, o relato de dor abdominal foi significativamente mais freqüente entre pacientes do grupo VHC. Ao contrário, não se observou diferença significativa na freqüência de relatos de outros sinais e sintomas de hepatopatia (icterícia, ascite, epistaxe, eritema palmar e teleangiectasias), astenia, alterações cutâneas, alterações neurológicas (paresias e parestesias), tampouco na dos achados de hepatomegalia ou esplenomegalia ao exame clínico, quando comparados os pacientes dos grupos VHC, VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2.

Tabela 4 - Análise bivariada para comparação de 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), 6 com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C, no tocante à variáveis clínicas - HC-FMUSP - 1993-2005

Variável	Grupo						p
	VHC		VHC/HTLV-1		VHC/HTLV-2		
	n	%	n	%	n	%	
Dor abdominal							0,024
não	41	74,5	24	100	5	83,3	
sim	14	25,5	-	-	1	16,7	
Sinais e sintomas de hepatopatia							0,194
não	45	81,8	19	79,2	3	50,0	
sim	10	18,2	5	20,8	3	50,0	
Astenia							0,690
não	43	78,2	17	70,8	4	66,7	
sim	12	21,8	7	29,2	2	33,3	
Alterações cutâneas							0,150
não	49	89,1	18	75,0	6	100	
sim	6	10,9	6	25,0	-	-	
Alterações neurológicas							0,499
não	49	89,1	19	79,2	5	83,3	
sim	6	10,9	5	20,8	1	16,7	
Fígado							0,093
não palpável	51	92,7	18	75,0	5	83,3	
palpável	4	7,3	6	25,0	1	16,7	
Baço*							0,052
não palpável	54	98,2	23	100	5	83,3	
palpável	1	1,8	-	-	1	16,7	

* dado não disponibilizado para 1 paciente do grupo VHC/HTLV-1

Apresenta-se a seguir a comparação entre os grupos estudados (VHC, VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2) no tocante aos achados laboratoriais.

No que se refere à avaliação hematológica, a determinação da concentração plasmática de hemoglobina, o hematócrito, bem como o número total de leucócitos e de neutrófilos em sangue periférico não apresentaram diferenças entre os grupos (tabela 5).

Tabela 5 - Distribuição e comparação dos resultados observados à avaliação hematológica, de 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), seis com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C, - HC-FMUSP - 1993-2005

Medida	Grupo	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p
Hemoglobina (g/dL)	VHC	14,80	1,27	14,60	12,30	18,30	0,503
	VHC/HTLV-1	14,78	1,62	15,00	11,90	17,50	
	VHC/HTLV-2	14,12	1,59	13,55	12,60	16,20	
Hematócrito (%)	VHC	43,85	3,84	43,50	36,70	52,90	0,680
	VHC/HTLV-1	43,74	4,62	44,75	36,00	53,10	
	VHC/HTLV-2	42,35	3,96	40,90	38,70	48,30	
Leucócitos (mil/mm ³)	VHC	6,29	1,95	5,90	3,30	13,80	0,437
	VHC/HTLV-1	6,42	1,67	6,10	4,20	12,40	
	VHC/HTLV-2	6,82	1,10	6,70	5,30	8,30	
Neutrófilos (mil/mm ³)	VHC	3,43	1,57	3,30	0,80	9,90	0,293
	VHC/HTLV-1	3,33	0,96	3,10	2,10	5,80	
	VHC/HTLV-2	3,93	0,66	3,90	3,10	5,10	
Plaquetas (mil/mm ³)	VHC	209,16	64,14	208,00	50,00	352,00	0,015
	VHC/HTLV-1	252,04	61,98	247,50	136,00	348,00	
	VHC/HTLV-2	253,83	17,58	248,00	242,00	289,00	

Entretanto, no tocante ao número de plaquetas, observaram-se contagens significativamente menores ($p=0,015$) no grupo VHC, conforme ilustra a figura 2.

* outliers

Figura 2. Comparação entre as medianas das contagens de plaquetas entre 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), seis com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C - HC-FMUSP - 1993-2005

Do ponto de vista da análise bioquímica, verificaram-se concentrações medianas mais elevadas de AST, ALT e GGT, no grupo VHC, conforme resumido na tabela 6 e apresentado de forma gráfica nas figuras 3, 4 e 5, respectivamente.

Tabela 6 - Distribuição e comparação das concentrações séricas de enzimas hepáticas e da atividade de coagulação, de 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), cinco com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C - HC-FMUSP - 1993-2005

Medida	Grupo	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p
AST UI/L	VHC	59,24	43,52	45,00	19,00	222,00	0,047
	VHC/HTLV-1	39,00	20,75	34,00	13,00	81,00	
	VHC/HTLV-2	53,40	41,27	42,00	21,00	124,00	
ALT UI/L	VHC	88,51	75,13	64,00	20,00	399,00	0,011
	VHC/HTLV-1	52,46	38,35	45,00	14,00	192,00	
	VHC/HTLV-2	103,20	122,44	52,00	23,00	320,00	
GGT UI/L	VHC	78,29	25,82	77,00	28,00	184,00	<0,001
	VHC/HTLV-1	60,42	58,80	43,50	15,00	289,00	
	VHC/HTLV-2	42,40	39,25	31,00	8,00	110,00	
FA UI/L	VHC	84,69	91,18	57,00	11,00	578,00	0,177
	VHC/HTLV-1	87,00	44,85	71,00	46,00	229,00	
	VHC/HTLV-2	76,80	42,23	59,00	53,00	152,00	
AP (%)	VHC	88,31	14,49	92,00	29,00	112,00	0,926
	VHC/HTLV-1	89,31	14,30	90,85	48,00	110,00	
	VHC/HTLV-2	90,50	13,37	92,00	71,00	105,00	

AST-aspartato aminotransferase, ALT-alanina aminotransferase, GGT- gama glutamil transferas, FA-fosfatase alcalina, AP-atividade de protrombina

*° outliers

Figura 3. Comparação entre as concentrações medianas de AST entre 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), seis com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C - HC-FMUSP - 1993-2005

*° outliers

Figura 4. Comparação entre as concentrações medianas de ALT entre 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), seis com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C - HC-FMUSP - 1993-2005

*° outliers

Figura 5. Comparação entre as concentrações medianas de GGT entre 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), seis com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C - HC-FMUSP - 1993-2005

Nos resultados laboratoriais de dosagem sérica de glicose e bilirrubinas, e determinação de concentrações de proteínas totais e frações (albumina e globulinas), não se observaram diferenças significativas entre os grupos (tabela 7).

Tabela 7 - Distribuição e comparação das comparações séricas dos resultados laboratoriais de glicose, bilirrubinas e proteínas totais e frações (albumina e globulinas), e entre 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), cinco com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C - HC-FMUSP - 1993-2005

Medida	Grupo	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p
Glicose (mg/dL)	VHC	86,78	16,32	85,00	59,00	144,00	0,507
	VHC/HTLV-1	87,88	7,14	86,00	69,00	101,00	
	VHC/HTLV-2	133,20	115,05	90,00	66,00	338,00	
Bilirrubina direta (mg/dL)	VHC	0,22	0,11	0,20	0,10	0,70	0,226
	VHC/HTLV-1	0,19	0,11	0,20	0,10	0,50	
	VHC/HTLV-2	0,18	0,08	0,20	0,10	0,30	
Bilirrubina total (mg/dL)	VHC	0,79	0,32	0,70	0,30	1,80	0,616
	VHC/HTLV-1	0,75	0,30	0,70	0,30	1,70	
	VHC/HTLV-2	0,72	0,47	0,50	0,40	1,50	
Proteína total (g/dL)	VHC	7,69	0,56	7,60	6,00	9,00	0,871
	VHC/HTLV-1	7,62	0,52	7,75	7,00	9,00	
	VHC/HTLV-2	7,74	0,54	7,80	7,00	8,00	
Albumina (g/dL)	VHC	4,17	0,78	4,30	0,40	5,30	0,934
	VHC/HTLV-1	4,28	0,43	4,28	3,20	5,10	
	VHC/HTLV-2	4,21	0,47	4,01	3,70	4,80	
Gamaglobulina (g/dL)	VHC	1,60	0,43	1,57	0,70	2,60	0,854
	VHC/HTLV-1	1,60	0,31	1,57	1,10	2,20	
	VHC/HTLV-2	1,77	0,72	1,85	0,90	2,80	

No tocante às alterações histológicas do parênquima hepático, puderam ser comparados 75 pacientes (88,2% da casuística total). Nesses, avaliaram-se inicialmente os critérios de intensidade de fibrose e o escore de atividade necroinflamatória. Em seguida, compararam-se os pacientes dos grupos estudados, levando-se em conta as alterações histológicas observadas isoladamente nos compartimentos portal, periportal e lobular. Não se evidenciaram diferenças estatisticamente significativas nas alterações histológicas encontradas à comparação dos grupos analisados (tabela 8).

Tabela 8 - Análise bivariada para comparação de 16 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), quatro com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C no tocante às alterações histológicas do parênquima hepático - HC-FMUSP - 1993-2005

Variável	Grupo						P
	VHC		VHC/HTLV-1		VHC/HTLV-2		
	n	%	n	%	n	%	
Fibrose							0,763
< 3	37	67,3	11	68,8	2	50	
>= 3	18	32,7	5	31,2	2	50	
Atividade necroinflamatória							0,256
mínima	20	36,4	4	25,0	-	-	
leve	35	63,6	12	75,0	4	100	
Alterações no compartimento portal							#
presente	55	100	16	100	4	100	
Alterações no compartimento periportal							0,547
ausente	18	32,7	3	18,8	1	25	
presente	37	67,3	13	81,2	3	75	
Alterações no compartimento lobular							0,145
ausente	1	1,8	2	12,5	-	-	
presente	54	98,2	14	87,5	4	100	

À título de ilustração, apresentam-se a seguir padrões de alteração da histologia hepática observados nos pacientes estudados. (figura 6 e 7).

A. VHC/HTLV – fígado com expansão portal por fibrose, moderado infiltrado inflamatório esboçando folículo linfóide e presença de hepatite de interface (necrose saca-bocados).
(HE-200x)

B. VHC/HTLV – Fígado com fibrose portal, emissão de septos, leve infiltrado inflamatório e esteatose macro e micro goticular.
(T. Masson-200x)

C. VHC/HTLV – fígado com arquitetura preservada, discreta expansão fibrosa, infiltrado inflamatório linfocitário portal e ausência de hepatite de interface. (HE-200x)

D. VHC/HTLV – panorâmica de biópsia hepática com discreta fibrose portal, sem evidências de hepatite de interface. (T. Masson-100x)

Figura 6. (A,B,C e D). Padrões de alteração histológica do parênquima hepático observados em pacientes com coinfeção VHC/HTLV – HC-FMUSP –1993-2005
(HE - Hematoxilinaeosina, T. Masson - tricrômico de Masson)

A. VHC – cirrose hepática com intenso infiltrado inflamatório portal e moderada hepatite de interface. (HE-100x)

B. VHC – cirrose hepática demonstrando-se nódulo cirrótico e extensa expansão fibrosa portal. (T. Masson-100x)

C. VHC – cirrose hepática com nódulos visualizados através da técnica histoquímica da reticulina. (Reticulina-100x)

Figura 7. Padrões de alteração histológica do parênquima hepático observados em pacientes com infecção pelo VHC – HC-FMUSP –1993-2005 (HE - Hematoxilinaeosina, T. Masson - tricrômico de Masson)

À análise multivariada, empregando-se o método estatístico da análise discriminante linear de Fisher, definiram-se as funções classificatórias que melhor diferenciam os pacientes estudados nos grupos **VHC**, **VHC/HTLV-1** e **VHC/HTLV-2**. Para cada função classificatória, com base nos valores das variáveis de interesse que compuseram a análise, calcularam-se o valor da constante e os dos coeficientes aplicados a cada variável, conforme apresentado no quadro 4.

Quadro 4 - Coeficientes para variáveis de interesse (UDEV, parceiro sexual com hepatite, sexo e faixa etária) e constante das funções classificatórias, respectivamente, dos grupos VHC, VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2 – HC-FMUSP - 1993-2005

Variável	Grupo		
	VHC	VHC/HTLV-1	VHC/HTLV-2
UDEV	0,605	1,636	9,265
parceiro sexual com hepatite	0,045	1,437	0,849
sexo	4,976	4,942	6,303
faixa etária	1,485	1,512	0,487
constante	-6,558	-7,178	-9,685

Dessa forma, construíram-se as funções discriminantes y_{VHC} para o **grupo VHC**, $y_{VHC/HTLV-1}$ para o **grupo VHC/HTLV-1** e $y_{VHC/HTLV-2}$ para o **grupo VHC/HTLV-2**, apresentadas a seguir:

$$y_{VHC} = - 6,558 + 0,605 \times (UDEV) + 0,045 \times (\text{parceiro sexual com hepatite}) + 4,976 \times (\text{sexo}) + 1,485 \times (\text{faixa etária})$$

$$y_{VHC/HTLV-1} = - 7,178 + 1,636 \times (UDEV) + 1,437 \times (\text{parceiro sexual com hepatite}) + 4,942 \times (\text{sexo}) + 1,512 \times (\text{faixa etária})$$

$$y_{VHC/HTLV-2} = - 9,685 + 9,265 \times (UDEV) + 0,849 \times (\text{parceiro sexual com hepatite}) + 6,303 \times (\text{sexo}) + 0,487 \times (\text{faixa etária})$$

Finalmente, verificou-se, por meio de validação externa, empregando-se a técnica *leave-one-out*, que, embora as funções classificatórias definidas nesse estudo tenham sido capazes em conjunto de classificar corretamente 67,1% dos pacientes, a acurácia discriminatória não foi homogênea entre os grupos estudados. Assim, foi considerada alta (87,3%) a acurácia discriminatória da função classificatória do **grupo VHC** e intermediária (66,7%) a da função do **grupo VHC/HTLV-2**. A função definida para o **grupo VHC/HTLV-1** ao contrário, apresentou baixa acurácia discriminatória (20,8%) (tabela 9).

Tabela 9 - Acurácia discriminatória da análise discriminante e sua validação por meio da técnica *leave-one-out* aplicada em 24 pacientes com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (VHC/HTLV-1), seis com coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 2 (VHC/HTLV-2) e 55 com infecção pelo vírus da hepatite C - HC-FMUSP - 1993-2005

		Grupo classificado			
	Grupo	VHC	VHC/HTLV-1	VHC/HTLV-2	Total
Análise discriminante	VHC	48	5	2	55
	n VHC/HTLV-1	15	5	4	24
	VHC/HTLV-2	1	1	4	6
	VHC	87,3	9,1	3,6	100
	% VHC/HTLV-1	62,5	20,8	16,7	100
	VHC/HTLV-2	16,7	16,7	66,7	100
Validação (leave-one-out)	VHC	48	5	2	55
	n VHC/HTLV-1	15	5	4	24
	VHC/HTLV-2	1	1	4	6
	VHC	87,3	9,1	3,6	100
	% VHC/HTLV-1	62,5	20,8	16,7	100
	VHC/HTLV-2	16,7	16,7	66,7	100

6. DISCUSSÃO

A coinfeção pelo vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) e 2 (HTLV-2) constitui tema de interesse atual no âmbito da infectologia, em função da relevância epidemiológica dessas infecções virais em nosso meio e das possíveis interações patogénicas que pode determinar. Entretanto, até o presente momento, há na literatura médica carência de estudos relativos a seus aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais.

Com o intuito de aprofundar o conhecimento desse tema, compararam-se neste estudo três séries de pacientes: indivíduos com infecção pelo vírus da hepatite C isoladamente (**grupo VHC**) e portadores de coinfeção pelos vírus da hepatite C e vírus linfotrópicos de células T humanas, seja do tipo 1 (**grupo VHC/HTLV-1**) ou do tipo 2 (**grupo VHC/HTLV-2**), atendidos em ambulatorios especializados da Divisão de Clínica de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do HC-FMUSP.

Compuseram a população estudada 85 indivíduos, sendo 55 do **grupo VHC**, 24 do **grupo VHC/HTLV-1** e 6 do **grupo VHC/HTLV-2**. Deve-se ressaltar, entretanto, que a coinfeção VHC/HTLV-1/2, nas condições propostas para inclusão neste estudo, constitui condição bastante rara em nosso meio. Sabe-se que as infecções causadas pelo HTLV-1/2 são de

baixa frequência em São Paulo. Na Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo, de onde provém a maioria dos casos estudados nesta dissertação, Salles et al. (2003) descreveram para essas retrovíroses uma prevalência de 0,06% à triagem sorológica de 9.942 candidatos a doador de sangue, testados no período de 1991 a 2001. Em contrapartida, a soropositividade para VHC, VHB e HIV nesse mesmo grupo populacional foi, respectivamente, de 0,21%, 3,49% e 0,04%. Entre candidatos a doador de sangue soropositivos para infecção por HTLV da mesma instituição, Segurado et al. (1997) relataram que 85% encontram-se infectados pelo HTLV-1, sendo a variante HTLV-2 observada bem menos frequentemente. Tal estimativa pode justificar a participação mais reduzida de pacientes coinfectados com VHC/HTLV-2 neste estudo.

Adicionalmente, deve-se lembrar que para compor os grupos de pacientes infectados pelo VHC, isoladamente, ou de coinfectados por VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2 deste estudo foram recrutados apenas indivíduos nos quais se demonstrou viremia pelo VHC, caracterizando-se, portanto, seu estado de infecção atual pelo VHC.

É importante ainda destacar que, na seleção de pacientes, buscou-se também excluir aqueles que apresentassem, à avaliação inicial, evidência de infecção pregressa ou atual por VHB ou HIV, pelo viés que poderiam acarretar ao estudo, em função do potencial dano hepatocelular ou imunodepressão que esses agentes virais podem causar. Esse cuidado

metodológico, contudo, limitou ainda mais a casuística analisada nesta dissertação, uma vez que, analogamente ao descrito por Ferreira e colaboradores (1995) em 17.063 candidatos a doador de sangue testados no Hospital Albert Einstein de São Paulo, a infecção concomitante por VHB ou HIV foi freqüente na população elegível.

Para comparar os grupos de pacientes infectados pelo VHC com os de indivíduos coinfectados pelo VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2, avaliaram-se inicialmente em análise bivariada suas características sócio-demográficas, fatores potencialmente associados à exposição a esses agentes virais, os sinais e sintomas detectados à anamnese e exame físico dos pacientes, bem como as determinações laboratoriais de interesse, incluindo dados hematológicos, análise bioquímica, avaliação da função hepática, além dos achados histopatológicos do parênquima hepático.

Em relação aos aspectos sócio-demográficos, não se evidenciou qualquer variável capaz de distinguir os pacientes infectados isoladamente pelo VHC daqueles coinfectados. A infecção pelo VHC e a coinfecção VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2 predominaram entre indivíduos brancos, casados, com escolaridade compreendida entre 8 e 10 anos e naturais do estado de São Paulo. Em relação à distribuição por sexo, enquanto a infecção por VHC e a coinfecção VHC/HTLV-1 predominaram entre os homens, essa foi eqüitativa no grupo VHC/HTLV-2. No que concerne a faixa etária, embora sem significância estatística, verificou-se que a maioria dos

coinfectados com VHC/HTLV-2 apresentavam entre 30 e 39 anos de idade, ao passo que nos demais grupos predominaram indivíduos com idades compreendidas entre 40 e 49 anos.

O relato de uso de álcool foi estatisticamente mais freqüente no grupo VHC/HTLV-2. Apesar dessa variável ter sido tratada neste estudo de forma imprecisa, sem se poder considerar adequadamente a quantidade de álcool ingerida e tampouco o tempo de uso, sua associação com o grupo VHC/HTLV-2 merece comentários. Deve-se inicialmente cogitar da possibilidade de ter havido viés de informação na coleta de dados, uma vez que os pacientes em seguimento ambulatorial por infecção pelo VHC são habitualmente aconselhados a se abster do uso de álcool (Degos, 1999; Szabo et al., 2006). Tal recomendação pode não ter sido enfatizada de modo análogo no seguimento dos indivíduos portadores de HTLV que se descobriram soropositivos para a infecção pelo VHC. Por outro lado, cabe lembrar que o grupo VHC/HTLV-2 concentrou a maior proporção de usuários de drogas injetáveis deste estudo (66,7% versus 3,6% para o grupo VHC e 16,7% para o grupo HCV/HTLV-1). Assim, pode-se considerar, conforme evidências da literatura, apontando para um uso freqüente de álcool entre usuários de drogas injetáveis (Anderson et al., 2001; Backmund et al., 2003), que essa associação tenha contribuído para a maior freqüência do uso de álcool no grupo VHC/HTLV-2.

A frequência significativamente maior de UDEV encontrada no grupo VHC/HTLV-2 desta casuística sugere que tal exposição seja importante para a aquisição desse retrovírus na população estudada em São Paulo. Analogamente a esse achado, de la Fuente e colaboradores (2006), em um recente estudo conduzido com jovens farmacodependentes da Espanha, verificaram que a infecção pelo HTLV-2 foi fortemente associada ao uso de drogas endovenosas e às coinfeções pelo HIV ou VHC. Da mesma forma, um estudo de prevalência da infecção pelo HTLV-1 e HTLV-2 entre mulheres norte-americanas, com e sem infecção pelo HIV, demonstrou que a infecção pelo HTLV-2 é freqüente nesses dois grupos e se mostra significativamente associada ao antecedente de uso de drogas endovenosas (Telzak et al., 1998).

No Brasil, entretanto, dados acerca da possível associação entre infecção por HTLV-2 e uso de drogas endovenosas são contraditórios. Enquanto estudos mais antigos destacavam a importância de tal associação (Cortes et al. 1989; Gabbai et al., 1993), investigações conduzidas mais recentemente no estado da Bahia indicaram destacado predomínio (72,4%) de infecções causadas pelo HTLV-1 entre os UDEV soropositivos para infecções causadas por HTLV (Dourado et al., 1998). A constatação de forte associação entre o uso de drogas injetáveis e a coinfeção VHC/HTLV-2 nesta dissertação, contrastando com os achados de outros autores nacionais, sugere que a circulação desse agente retroviral entre UDEV pode apresentar variações regionais em nosso país.

No que se refere às drogas não injetáveis, observou-se neste estudo que o antecedente de uso de cocaína inalatória também foi significativamente mais freqüente no grupo VHC/HTLV-2, à análise bivariada. Embora a soroprevalência de infecção pelo VHC tenha sido previamente associada a essa forma de uso de drogas ilícitas na cidade de Nova York (Koblin et al., 2003), não há relatos prévios de que tal comportamento imponha risco adicional para a aquisição de infecção por HTLV-2. Cabe lembrar, contudo, que na análise discriminante de Fischer conduzida nesta pesquisa, o uso de cocaína inalatória não se manteve como variável relevante para distinguir os pacientes incluídos nos diversos grupos estudados, podendo, portanto, representar uma variável de confusão.

No tocante à atividade sexual, o relato de parceria com UDEV foi neste estudo significativamente diferente entre os grupos analisados. Observou-se que a totalidade dos componentes do grupo VHC/HTLV-2 relataram tal fato, em comparação a 22,7% do grupo VHC/HTLV-1 e apenas 3,6% do grupo infectado pelo VHC isoladamente. Essa divergência poderia eventualmente sugerir que o contato sexual com UDEV determina risco acrescido de aquisição do HTLV-2. Sabe-se que os vírus HTLV-1/2 podem ser transmitidos sexualmente, porém, em estudo recente de incidência dessa retrovirose não se observou evidência de que tal via de aquisição seja mais associada a qualquer das variantes genotípicas desse retrovírus (Roucoux et al., 2005). Portanto, na aparente falta de plausibilidade biológica para justificar tal incremento de risco, quando comparado ao associado à

infecção pelo HTLV-1, não se deve deixar de imaginar que o risco acrescido possa, em verdade, ser decorrente de uso de drogas não relatado pelo próprio paciente, uma vez que essa variável mostrou-se fortemente associada à coinfeção VHC/HTLV-2. Especulação semelhante foi apresentada por Segurado e colaboradores (2004), ao verificarem risco acrescido de coinfeção VHC/HIV entre parceiros de UDEV acompanhados em Centro de Referência para HIV/AIDS do município de Santos.

Constatou-se, ainda, diferença entre os grupos estudados em relação à história de contato sexual com parceiro com hepatite. O relato dessa variável foi significativamente mais freqüente no grupo VHC, quando comparado aos de coinfectados VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2. No que diz respeito às vias de transmissão inter-humana desses agentes virais, sabe-se que os vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 e 2 são reconhecidamente associados à transmissão sexual (Vitek et al., 1995; Figueroa et al., 1997; Roucoux et al., 2005), particularmente em parcerias sexuais de longa duração (Nakashima et al., 1995) e, preferencialmente, do homem infectado para a mulher susceptível (Stuver et al., 1993). A veiculação sexual do VHC, em contraste, permanece de relevância epidemiológica controversa (Segurado et al., 2004). Nesse contexto parece razoável admitir que o aconselhamento rotineiramente prestado aos portadores de infecção por HTLV-1 e HTLV-2, segundo recomendações nacionais e internacionais (CDC, 1993; Brasil, 2003), para que utilizem medidas de barreira à transmissão sexual, adotando

práticas de sexo mais seguro, possa, de certa forma, ter contribuído para justificar a diferença encontrada.

Do ponto de vista clínico, excetuando-se o relato de dor abdominal, este estudo não identificou outras variáveis relacionadas a sinais ou sintomas potencialmente associados às infecções causadas pelo VHC ou HTLV, que permitam distinguir os pacientes dos diferentes grupos estudados.

Sabe-se que a infecção crônica pelo VHC evolui de forma assintomática por muitos anos (Tong et al., 1995). Já no que se refere às manifestações clínicas associadas ao HTLV, enquanto a infecção pelo HTLV-2 é excepcionalmente associada à doença, a infecção pelo HTLV-1 determina exteriorização clínica em um número reduzido de pacientes, e habitualmente manifesta-se na faixa etária entre 40 e 50 anos (Méndez et al., 1997). Acredita-se que, em função disso, as diversas variáveis clínicas pesquisadas possam não ter apresentado poder estatístico suficiente para permitir qualquer distinção entre os grupos estudados.

Todavia, em relação à dor abdominal, verificou-se ser esta queixa significativamente mais descrita por pacientes do grupo VHC. Embora esse sintoma seja freqüentemente relatado em séries de casos de indivíduos infectados por esse agente (Riley et al, 2001; Lang et al., 2006), não foi possível identificar mecanismos patogénéticos para justificar porque tal

queixa distinguiria os pacientes infectados por VHC isoladamente daqueles coinfectados com HTLV-1 ou HTLV-2. Deve-se então pensar na eventualidade de que os portadores de infecção isolada pelo HCV, por estarem em seguimento num ambulatório de cuidado especializado nessa afecção hepática, possam supervalorizar essa queixa clínica. Embora de caráter subjetivo, a dor abdominal pode-lhes representar uma possível manifestação da infecção viral.

Passando-se agora à discussão dos achados laboratoriais desta dissertação, deve-se inicialmente considerar, no que concerne os dados hematológicos, que as diferenças entre os pacientes incluídos nos grupos VHC, VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2 nas diversas determinações efetuadas, quando existentes, foram de pequena monta, e, provavelmente, carecem de significado clínico. Assim, não foi possível identificar variáveis capazes de propiciar distinção significativa entre os grupos estudados, exceção feita à determinação quantitativa de plaquetas no sangue periférico. Embora ainda dentro dos limites da normalidade, as contagens médias e medianas de plaquetas mostraram-se significativamente menores no grupo VHC, quando comparadas às dos demais grupos.

Esse achado poderia ser decorrente, por um lado, da reconhecida associação entre hepatopatia avançada pelo VHC e conseqüente intensidade de fibrose hepática com redução do número de plaquetas no sangue periférico (Bonacini et al., 1997; Wai et al., 2003; Lackner et al.,

2005). Sabe-se que essa interação é mediada pela redução na síntese hepática de trombopoietina, observada na hepatopatia crônica avançada, com subsequente prejuízo na trombocitopoiese na medula óssea (Peck-Radosavljevic, 2000). Para justificar essa hipótese, contudo, o grupo VHC deveria ter sido composto de pacientes em estágios mais avançados na história natural da infecção pelo VHC. Essa situação, entretanto, não se sustentou nos achados histopatológicos observados, uma vez que esses não apontaram diferença significativa na intensidade de fibrose, nem tampouco na atividade necroinflamatória do parênquima hepático entre os grupos analisados.

Por outro lado, as diferenças observadas neste estudo na contagem de plaquetas poderiam ser decorrentes de alterações patogênicas relacionadas à infecção por HTLV-1/2, desde que houvesse nessa condição estímulo à trombocitogênese. Em estudo envolvendo portadores assintomáticos dessas retrovíroses, recrutados em vários centros de hemoterapia norte-americanos, Murphy et al. (1998) relataram, de forma inusitada, que candidatos a doador de sangue infectados por HTLV-1 ou por HTLV-2, apesar de assintomáticos, apresentavam contagens mais elevadas de plaquetas em sangue periférico, quando comparados a indivíduos soronegativos, embora as contagens observadas estivessem contidas no intervalo considerado normal para esse parâmetro hematológico. Aventaram esses autores como mecanismo patogênético para justificar o maior número de plaquetas no sangue periférico de portadores de HTLV a atividade

tax do genoma proviral, determinando aumento na expressão dos genes que codificam a trombopoietina ou mesmo seu receptor monofosforil-lípide A.

Ainda nos achados laboratoriais, ao se compararem à análise bivariada as concentrações séricas das enzimas hepáticas aminotransferases (AST, ALT) e GGT, observou-se que embora com medianas elevadas em todos os grupos estudados, os valores foram significativamente mais altos nos pacientes infectados pelo VHC isoladamente. Preliminarmente, poderia se supor que as diferenças encontradas, em relação às concentrações de aminotransferases, pudessem ser decorrentes de maior intensidade de dano hepatocelular nesses indivíduos. O aumento das concentrações séricas dessas enzimas, particularmente as de AST, associa-se com parâmetros histopatológicos de maior gravidade na hepatopatia associada ao VHC, conforme apontaram Zechini et al. (2004), em pesquisa realizada com 112 pacientes com hepatite crônica relacionada a esse vírus. Entretanto, nas séries de casos avaliadas neste estudo, não se demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os diversos grupos, no tocante às alterações histológicas do parênquima hepático. Cabe ainda ressaltar que, à análise discriminante, as concentrações de aminotransferases e de GGT não compuseram as funções classificatórias, demonstrando-se, portanto, irrelevantes para a distinção entre pacientes infectados isoladamente pelo VHC daqueles com coinfecção VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2.

As demais variáveis laboratoriais bioquímicas, ou relativas à função hepática, apresentaram, em sua grande maioria, valores absolutos e medianos dentro dos limites de normalidade, e suas eventuais alterações, quando existentes, foram discretas e sem relevância clínica. Tais marcadores laboratoriais não se mostraram capazes de distinguir significativamente os pacientes dos diversos grupos estudados.

Analizados os aspectos sócio-demográficos, os hábitos, os riscos de exposição às infecções de transmissão sangüínea e sexual e os dados laboratoriais, passa-se agora à discussão da histologia hepática.

A importância de tais achados prende-se ao fato dessa análise representar o padrão-ouro para definição do grau de comprometimento hepático associado às hepatites crônicas (Bedossa e Poynard, 1996). Sendo assim, para obtenção de maior confiabilidade, procedeu-se a cuidadosa reavaliação das 75 amostras disponíveis de tecido hepático. Um único patologista experiente procedeu a essa análise, desconhecendo a classificação de cada paciente entre os grupos estudados e utilizando o critério de classificação de Ishak et al. (1995). Optou-se por esse critério, levando-se em conta sua validação internacional, o que possibilita comparação dos resultados com os relatados por outros autores (Westin et al., 1999), bem como sua comparação com outros escores de classificação (Wright, 2003).

Apesar dos achados histopatológicos não terem evidenciado diferença estatisticamente significativa entre os indivíduos infectados pelo VHC, isoladamente, daqueles com coinfecção VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2, as alterações encontradas nessas séries de casos merecem discussão. Inicialmente chama a atenção o fato de que a grande maioria dos pacientes analisados, independentemente do grupo de estudo a que pertenciam, exibiram alterações histopatológicas do parênquima hepático. Foram também freqüentes os achados mais relacionados à atividade da hepatopatia pelo VHC, considerados, portanto, de importância para a avaliação da morbidade relacionada a esse agente viral, tais como a fibrose e a atividade necroinflamatória (Bedossa e Poynard, 1996).

No tocante à fibrose, verificou-se maior freqüência de pacientes em estágios menos avançados de hepatopatia (escore inferior a 3) nos grupos VHC (67,3%) e VHC/HTLV-1 (68,8%) do que no grupo VHC/HTLV-2 (50%). Apesar da progressão da hepatopatia ao longo do tempo não ser linear em pacientes infectados pelo VHC, em estudo longitudinal com avaliação seriada da histologia hepática, reconheceram-se os principais fatores associados à progressão da fibrose hepática nesses indivíduos como sendo o tempo de duração da infecção, além da idade do paciente ao realizar a primeira biópsia e a presença de fibrose na avaliação histológica inicial. Sugeriu-se assim que, de alguma maneira, a infecção por esse vírus torne-se mais fibrogênica com o avançar da idade do hospedeiro (Ryder, 2004).

A análise do tempo de infecção foi prejudicada neste estudo. Sabe-se que tanto a infecção pelo VHC como as causadas por HTLV-1 e HTLV-2 são habitualmente assintomáticas. Dessa forma, o momento de aquisição dessas infecções virais passa, em geral, despercebido. Excepcionalmente, nos estudos de incidência, a partir de coortes de indivíduos sob risco de aquisição e sob monitoração sorológica, tal informação pode ser estimada. Em estudos de desenho transversal, como esta dissertação, qualquer estimativa do tempo de infecção, ou de idade à infecção, são limitados, pois se baseiam exclusivamente na data do diagnóstico de soropositividade. Além disso, não se pode adequadamente precisar nos pacientes coinfectados, a cronologia de aquisição das diferentes infecções virais. Na comparação dos grupos estudados, contudo, não se verificou diferença estatisticamente significativa em relação à faixa etária, fazendo supor haver certa homogeneidade, de modo a permitir analisar comparativamente os achados histopatológicos de fibrose hepática.

Analogamente ao observado no tocante à fibrose, também no que se refere à atividade necroinflamatória, este estudo não revelou diferença significativa entre os pacientes infectados pelo VHC isoladamente e os indivíduos coinfectados com HTLV-1 ou com HTLV-2, seja quando tal atividade foi analisada independentemente nos compartimentos portal, periportal ou lobular, seja quando expressa por escore, que leva em consideração as alterações em seu conjunto.

Em síntese, na casuística estudada nesta dissertação, não se pôde identificar diferença estatisticamente significativa nos achados histopatológicos do parênquima hepático entre os pacientes infectados pelo VHC isoladamente e aqueles portadores de coinfecção VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2. Embora aparentemente esses resultados contrastem com evidências acumuladas em trabalhos conduzidos no Japão, que sugerem progressão mais acelerada da hepatopatia causada pelo VHC entre indivíduos coinfectados por HTLV-1 daquele país, diferenças metodológicas podem justificar tais discrepâncias. Boschi-Pinto et al. (2000) concluíram que a coinfecção VHC/HTLV-1 eleva o risco de morbidade por doença hepática e de óbito por carcinoma hepatocelular relacionado a esse agente infeccioso, após analisarem a coorte de Miyazaki, que envolveu o acompanhamento de 965 indivíduos ao longo de 10 anos. O estudo conduzido na Divisão de Clínica de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do HC-FMUSP, ao contrário, teve um desenho transversal e incluiu número mais restrito de pacientes. Acredita-se que a continuidade do estudo aqui realizado, buscando-se avaliar maior número de casos em seguimento evolutivo possa contribuir para melhor compreensão do impacto das coinfecções VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2 na história natural da hepatopatia causada pelo VHC.

Limitações metodológicas inerentes ao seu desenho epidemiológico e ao reduzido número de casos avaliado, decorrente da baixa prevalência de coinfecção VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2, na ausência de infecção concomitante por HIV ou VHB, podem eventualmente ter dificultado a

identificação de outros marcadores distintivos dessas condições. Acredita-se, porém, que o estudo ora apresentado tenha certamente contribuído para melhor compreensão dos aspectos epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e histopatológicos dessas infecções virais na população assistida no HC-FMUSP.

Ao contrário de estudos previamente descritos na literatura científica, que ao avaliarem o efeito da associação da coinfeção VHC/HTLV, em comparação a portadores de infecção isolada pelo VHC, estudaram populações coinfectadas com um dos tipos de HTLV, esta dissertação procurou incluir indivíduos tanto com coinfeção VHC/HTLV-1 como VHC/HTLV-2, de modo a buscar identificar aspectos distintivos entre elas.

Ao lado disso, em análise multivariada controlada por sexo e faixa etária, realizada pelo método de análise discriminante de Fischer, definiram-se, a partir das possíveis variáveis de interesse, funções classificatórias que, aplicadas a pacientes portadores de VHC, permitem identificar aqueles com maior probabilidade de apresentarem coinfeção com HTLV-1 ou HTLV-2, ou não, levando-se em conta seus dados sócio-demográficos e de exposição a agentes de transmissão sangüínea e sexual, além das variáveis clínicas e laboratoriais apresentadas.

Tomou-se ainda o cuidado de avaliar o desempenho discriminatório das funções classificatórias, por meio de validação cruzada, a partir do

banco de dados coletado na pesquisa. Verificou-se, então, que o modelo exibiu acurácia discriminatória superior a 75% na identificação dos pacientes infectados pelo VHC isoladamente, condição essa que lhe confere alto poder discriminante. Em relação aos demais grupos, cabe destacar que a acurácia discriminatória para o grupo VHC/HTLV-2 superior a observada para o grupo de coinfectados pelo HTLV-1.

O emprego das funções classificatórias definidas neste estudo, como ferramenta adicional de trabalho, pode propiciar ao clínico responsável pelo seguimento de pacientes infectados pelo VHC auxílio valioso em sua conduta diagnóstica de possível coinfeção com HTLV e, conseqüentemente, no aconselhamento apropriado para cada paciente.

7. CONCLUSÕES

Este estudo, ao comparar uma série de pacientes coinfectados pelo vírus da hepatite C (VHC) e vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 ou 2 (VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2) com indivíduos infectados pelo vírus da hepatite C (VHC), permite concluir que:

- à análise bivariada, não se observou diferença estatisticamente significativa entre os grupos VHC, VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2 em relação às características sócio-demográficas e ao hábito de fumar;
- o uso de álcool, drogas endovenosas, cocaína inalatória, bem como a parceria sexual com UDEV, ao contrário, foram significativamente mais freqüentes entre os indivíduos com coinfecção VHC/HTLV-2;
- o relato de parceiro sexual com hepatite foi significativamente mais freqüente entre os pacientes do grupo VHC;
- do ponto de vista clínico, apenas a queixa de dor abdominal apresentou-se com diferença estatisticamente significativa entre os grupos, com maior prevalência entre pacientes do grupo VHC;

- dentre os achados laboratoriais, houve diferença estatisticamente significativa no número de plaquetas em sangue periférico, com contagens mais elevadas nos grupos de coinfectados, enquanto as concentrações séricas de AST, ALT e GGT mostraram-se mais altas no grupo VHC;
- não se evidenciaram diferenças estatisticamente significativas nas alterações histológicas encontradas nos grupos VHC, VHC/HTLV-1 ou VHC/HTLV-2;
- à análise discriminante linear de Fisher, definiram-se funções classificatórias que melhor permitem a distinção entre os três grupos (VHC, VHC/HTLV-1 e VHC/HTLV-2), incluindo as variáveis sexo, faixa etária, uso de drogas endovenosas e parceiro sexual com hepatite;
- a acurácia discriminatória das funções classificatórias foi alta (87,3%) para a identificação dos infectados pelo VHC isoladamente, intermediária (66,5%) para os coinfectados VHC/HTLV-2, não se mostrando útil na distinção de pacientes com coinfecção VHC/HTLV-1.

8. ANEXOS

ANEXO A

DIRETORIA CLÍNICA

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa**APROVAÇÃO**

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 27.11.03, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº 650/03, intitulado: "Co-infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) e vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos I (HTLV-I) e II (HTLV-II) em ambulatório de referência de São Paulo: Avaliação epidemiológica, clínica, histológica e laboratorial" apresentado pelo Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Pesquisador(a) Responsável: Dr. Aluísio Augusto Cotrim Segurado

Pesquisador(a) Executante: Dr. Flávio Augusto de Pádua Milagres

CAPPesq, 27 de Novembro de 2003.

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

OBSERVAÇÃO: Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c")

ANEXO B

FICHA DE INVESTIGAÇÃO

Entrevistador: _____

Data da entrevista: ____/____/____

FICHA Nº _____

Revisão de prontuário: ____/____/____

DIAGNÓSTICO ANTI HTLV:

ELISA: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO DO/CO: DATA: ____/____/____

WESTERN-BLOT: ( ) HTLV-I ( ) HTLV-II ( ) HTLV-I/II DATA: ____/____/____

PCR: ( ) TAX ( ) HTLV-I ( ) HTLV-II ( ) HTLV DATA: ____/____/____

( ) POL ( ) HTLV-I ( ) HTLV-II ( ) HTLV DATA: ____/____/____

DIAGNÓSTICO ANTI HCV:

ELISA 1: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO ( ) NÃO REALIZADO DO/CO: DATA: ____/____/____

ELISA 2: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO ( ) NÃO REALIZADO DO/CO: DATA: ____/____/____

IMUNOBLOT: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO ( ) NÃO REALIZADO DATA: ____/____/____

PCR QUALITATIVO: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO ( ) NÃO REALIZADO DATA: ____/____/____

PCR QUANTITATIVO: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO ( ) NÃO REALIZADO DATA: ____/____/____

GENOTIPAGEM: _____ DATA: ____/____/____

SOROLOGIA ANTI HIV:

ELISA 1: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO DO/CO: DATA: ____/____/____

ELISA 2: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO DO/CO: DATA: ____/____/____

WESTERN BLOT: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO ( ) NÃO REALIZADO DATA: ____/____/____

SOROLOGIA ANTI HBV:

ANTI HBs: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO DO/CO: DATA: ____/____/____

AG HBs: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO DO/CO: DATA: ____/____/____

ANTI HBe TOTAL: ( ) POSITIVO ( ) NEGATIVO DO/CO: DATA: ____/____/____

IDENTIFICAÇÃO

1.	Iniciais do nome: _____	
2.	Nº registro HC-FMUSP: _____	
3.	Sexo: ( ) 1.Masculino ( ) 2.Feminino	
4.	Idade: _____	
5.	Data de Nascimento: ____/____/____	
6.	Cor (auto referida): ( ) 1.Branca ( ) 2.Preta ( ) 3.Mulata ( ) 4.Amarela ( ) 5.Outra	
7.	Naturalidade: _____	
8.	Procedência: _____	
9.	Endereço: _____ Bairro: _____ Cidade: _____ Estado: _____ CEP: _____ Telefone: _____	
10.	Escolaridade: ( ) 1.Analfabeto ( ) 2.Só sabe assinar o nome ( ) 3.Alfabetizado	
11.	Anos de escolaridade: _____	
12.	Profissão: _____	
13.	Ocupação atual: _____	
14.	Renda mensal atual individual: _____	
15.	Situação conjugal: ( ) 1.Solteiro ( ) 2.Casado/Amasiado ( ) 3.Separado/Divorciado/Desquitado ( ) 4.Viúvo	
16.	O (a) Sr. (a) tem filhos? ( ) 0. Não ( ) Sim, quantos? _____	
	Se não, ir para item 18	
17.	Algum desses filhos é HTLV e/ou HCV positivo ? 17a. HTLV ( ) 99. Não se aplica – não tem filhos ( ) 0. Não ( ) Sim, quantos? _____	
	17b. HCV ( ) 99. Não se aplica – não tem filhos ( ) 0. Não ( ) Sim, quantos? _____	
18.	O (a) Sr. (a) já teve contato com portadores de HTLV I/II? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim, quem? _____ ( ) 88. Não sabe	
19.	O (a) Sr. (a) já teve contato com portadores de HCV? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim, quem? _____ ( ) 88. Não sabe	
20.	O (a) Sr. (a) têm ascendência nipônica? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim, qual? _____ ( ) 88. Não sabe	
21.	Recebeu aleitamento materno? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe	

22.	Se sim, por quanto tempo? ( ) 0. menos de 1 mês ( ) 1. 1 a 3 meses ( ) 2. 3 a 6 meses ( ) 3. 6 meses a 1 ano ( ) 4. mais de 1 ano ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica – nunca recebeu aleitamento materno	
23.	O (a) Sr. (a) teve alguma atividade no seu trabalho/vida doméstica que o (a) colocasse em contato com sangue? ( ) 0. Sim ( ) 1. Não ( ) 88. Não sabe	
24.	Qual tipo de atividade? ( ) 99. Não se aplica, não teve contato com sangue ( ) 1. Banco de sangue ( ) 2. Contato com doentes ( ) 3. Farmácia ( ) 4. Faz/fez necropsia ( ) 5. Laboratório ( ) 6. Outro, qual: _____	
25.	O (a) Sr. (a) têm vida sexual ativa? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 3. Sem vida sexual ( ) 88. Não informa	
	Se não teve vida sexual, ir para item 33	
26.	Comportamento sexual? ( ) 1. Heterossexual ( ) 2. Bissexual ( ) 3. Homossexual ( ) 88. Não informa ( ) 99. Não se aplica – não tem vida sexual ativa	
27.	Número de parceiros (as) nos últimos 24 meses? _____	
28.	O(a) Sr. (a) já teve algum (a) parceiro (a) sexual com alguma doença do fígado? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica – não teve parceiro (a)	
29.	A Sra. Já teve algum parceiro sexual hemofílico? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica – não teve parceiro	
30.	O(a) Sr. (a) já teve algum (a) parceiro (a) sexual que já tivesse recebido transfusão sanguínea? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica – não teve parceiro (a)	
31.	O(a) Sr. (a) já teve algum (a) parceiro (a) sexual que usasse drogas injetáveis ilícitas? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica – não teve parceiro (a)	
32.	O(a) Sr. (a) já teve algum (a) parceiro (a) sexual que fizesse diálise? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica – não teve parceiro (a)	
33.	O(a) Sr. (a) já usou drogas ilícitas? ( ) 0. Não ( ) Sim ( ) 99. Não quer informar	
	Se não, ir para item 40	

34.	O (a) Sr. (a) já usou maconha? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim, ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
	34b. Quanto tempo? _____ ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
35.	O (a) Sr. (a) já usou droga cocaína inalatória? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim, ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
	35b. Quanto tempo? _____ ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
36.	O (a) Sr. (a) já usou crack? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
	36b. Quanto tempo? _____ ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
37.	O (a) Sr. (a) já usou droga injetável? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim, ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
	37b. Quanto tempo? _____ ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
38.	O (a) Sr. (a) já usou outro tipo de droga? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim, ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
	38b. Qual? _____ ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
	38c. Quanto tempo? _____ ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
39.	O(a) Sr. (a) usa/usou drogas em grupo, compartilhou seringas ou “canudos” ? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não quer informar ( ) 99. Não se aplica – não usou drogas	
40.	O(a) Sr.(a) fumou/fuma cigarros? ( ) 0. Nunca fumou ( ) 1. Fuma atualmente ( ) 2. Fumou no passado ( ) 88. Não quer informar	
	Se nunca fumou, ir para item 44	
41.	Com que idade o(a) Sr. (a) começou a fumar? _____ ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica – nunca fumou	
42.	Com que idade o(a) Sr. (a) parou de fumar? _____ ( ) 77. Não sabe/ não quer informar ( ) 88. Não se aplica – ainda fuma ( ) 99. Não se aplica – nunca fumou	
43.	Quantos cigarros o(a) Sr. (a) fuma/fumava por dia? _____ ( ) 88. Não sabe/ não quer informar ( ) 99. Não se aplica – nunca fumou	
44.	O(a) Sr.(a) já fez uso de bebidas alcoólicas? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não quer informar	
	Se não, ir para item 53	
45.	Se o (a) Sr. (a) já fez uso de bebidas alcoólicas, este uso é: ( ) 1. Atual (últimos doze meses) ( ) 2. Passado	

46.	Com que idade o (a) Sr. (a) começou a fazer uso regular de bebidas alcoólicas? _____ ( ) 88. Não sabe/ não quer informar ( ) 99. Não se aplica – nunca bebeu	
47.	Com que idade o (a) Sr. (a) parou de ingerir bebidas alcoólicas? _____ ( ) 77. Não sabe/ não quer informar ( ) 88. Não se aplica – ainda bebe ( ) 99. Não se aplica – nunca bebeu	
48.	Que tipo de bebidas alcoólicas bebe/bebia? ( ) 1. Destilados (Whiskey, Vodka; Cachaça) ( ) 2. Vinho ( ) 3. Cerveja ( ) 4. Outros; qual? _____ ( ) 99. Não se aplica, nunca bebeu	
	Responder aos 4 próximos itens considerando equivalência entre número de doses e volume em ml: Destilados (1 dose = 30 ml = 10,3g etanol) Vinho (4 doses = 120 ml = 1 taça = 11,5g etanol) Cerveja (12 doses = 360 ml = 1 garrafa long neck = 11,5g etanol)	
49.	Quantas vezes por semana nos últimos 12 meses? _____ ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica, não bebe	
50.	Quantas doses nos últimos meses? ( ) a. Destilados _____ ( ) b. Vinho _____ ( ) c. Cerveja _____ ( ) d. Outros _____ ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica, não bebe	
51.	Quantas vezes por semana, no passado? _____ ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica, nunca bebeu	
52.	Quantas doses no passado? ( ) a. Destilados _____ ( ) b. Vinho _____ ( ) c. Cerveja _____ ( ) d. Outros _____ ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica, nunca bebeu	

53.	O (a) Sr.(a) já recebeu transfusão de sangue? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe	
	53a. Se sim, quantas vezes? _____ ( ) 99. Não se aplica – nunca recebeu transfusão ( ) 88. Não sabe	
	53b. Se sim, quando? _____ ( ) 99. Não se aplica – nunca recebeu transfusão ( ) 88. Não sabe	
54.	O (a) Sr.(a) já precisou fazer diálise? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe	
	54a. Se sim, por quanto tempo? _____ ( ) 99. Não se aplica – não fez diálise ( ) 88. Não sabe	
55.	O (a) Sr.(a) já foi operado(a)? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe	
56.	De que foi operado(a)? _____ ( ) 99. Não se aplica	
	56a. Quando? _____ ( ) 99. Não se aplica	
57.	O(a) Sr.(a) já fez tratamento com acupuntura? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe	
	57b. Quando? _____ ( ) 0. Não se aplica ( ) 88. Não sabe	
58.	O(a) Sr.(a) já fez tatuagem? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim	
	58a. Se sim, quando? _____ ( ) 99. Não se aplica	
59.	O(a) Sr.(a) usa brincos? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim	
	59a. Se sim, quando colocou? _____ ( ) 99. Não se aplica	
60.	O(a) Sr.(a) tem piercing? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim	
	60a. Se sim, quando colocou? _____ ( ) 99. Não se aplica	

HISTÓRIA CLÍNICA / EXAME CLÍNICO

61.	Queixa: _____ _____ ( ) 99. Não se aplica ( ) 88. Não sabe	
62.	Duração (meses): _____ ( ) 99. Não se aplica ( ) 88. Não sabe	
63.	Adenomegalias? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 77. Não avaliado	
	63a. Se sim, qual? _____ ( ) 99. Não se aplica	
64.	Alterações de volume abdominal? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 77. Não avaliado	
	64a. Se sim, qual? _____ ( ) 99. Não se aplica	

65.	Alterações urinárias? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 77. Não avaliado	
	65a. Se sim, qual? _____ ( ) 99. Não se aplica	
66.	Obstipação? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 77. Não avaliado	
67.	Já teve icterícia? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 77. Não avaliado	
68.	Hemorragias? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 77. Não avaliado	
	73a. Se sim, qual? _____ ( ) 99. Não se aplica	
69.	Impotência Sexual? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 99. Não se aplica	
70.	Alterações de força muscular? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 77. Não avaliado	
71.	Alterações sensitivas? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 77. Não avaliado	
72.	Alterações de marcha? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 88. Não sabe ( ) 77. Não avaliado	

ANTECEDENTES FAMILIARES

73.	Leucemia/Linfoma? ( ) 1. Pai ( ) 2. Mãe ( ) 3. irmã(ao) ( ) 4. cônjuge/parceiro sexual ( ) 5. Filho ( ) 6. Ausente ( ) 7. não sabe	
74.	Paresias? ( ) 1. Pai ( ) 2. Mãe ( ) 3. irmã(ao) ( ) 4. cônjuge/parceiro sexual ( ) 5. Filho ( ) 6. Ausente ( ) 7. não sabe	
75.	Câncer? ( ) 1. Pai ( ) 2. Mãe ( ) 3. irmã(ao) ( ) 4. cônjuge/parceiro sexual ( ) 5. Filho ( ) 6. Ausente ( ) 7. não sabe	

EXAME FÍSICO ESPECÍFICO

76.	Adenomegalias patológicas? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) ( ) 77. Não avaliado	
	76a. Se sim, qual? _____ ( ) 99. Não se aplica	
77.	Icterícia? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 77. Não avaliado	
78.	Eritema palmar? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 77. Não avaliado	
79.	Spiders? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 77. Não avaliado	
80.	Ginecomastia? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 77. Não avaliado	
81.	Abdome: 81a. inspeção ( ) 1. Escavado ( ) 2. plano ( ) 3. globoso ( ) 77. Não avaliado	
	81b. palpação ( ) 1. tenso ( ) 2. flácido ( ) 77. Não avaliado	
	81c. Dolorido ( ) 1. Não ( ) 2. Sim ( ) 77. Não avaliado	
82.	Fígado: Distância do rebordo costal direito (cm)? _____ ( ) 99. Não se aplica – não é palpável ( ) 77. Não avaliado	
83.	Baço: Distância do rebordo costal esquerdo (cm)? _____ ( ) 99. Não se aplica – não é palpável ( ) 77. Não avaliado	
84.	Alterações cutâneas: ( ) 1. ausente ( ) 2. presente ( ) 77. Não avaliado	
85.	Se presente descrever: _____ ( ) 99. Não se aplica – não tem alterações cutâneas ( ) 77. Não avaliado	
86.	Alterações de força muscular? ( ) 0. Não ( ) 1. Sim ( ) 77. Não avaliado	
	90a. Se sim, qual? _____ ( ) 99. Não se aplica	

87.	Alterações de reflexos? ( ) 0.Não ( ) 1.Sim ( ) 77. Não avaliado	
	91a. Se sim, qual? _____ ( ) 99. Não se aplica	
88.	Alterações sensitivas? ( ) 0.Não ( ) 1.Sim ( ) 77. Não avaliado	
	92a. Se sim, qual? _____ ( ) 99. Não se aplica	
89.	Alterações de marcha? ( ) 0.Não ( ) 1.Sim ( ) 77. Não avaliado	
	93a. Se sim, qual? _____ ( ) 99. Não se aplica	

EXAMES LABORATORIAIS (em casos com realização de biópsia, utilizar data próxima a biópsia, pré-tratamento)

90.	Hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$):	(VN: 3,5-5,0)	
91.	Hemoglobina (g%):	(VN: 11,7-14)	
92.	Hematócrito (%):	(VN: 35-42)	
93.	Leucócitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$):	(VN: 4.10)	
94.	Bastonetes (%):	(VN: 2-5 / 80-500)	
95.	Segmentados (%):	(VN: 58-66 / 2.320-6.600)	
96.	Eosinófilos (%):	(VN: 2-4 / 80-400)	
97.	Basófilos (%):	(VN: 0-1 / 0-100)	
98.	Linfócitos (%):	(VN: 24-30 / 960-3.000)	
99.	Monócitos (%):	(VN: 2-8 / 80-800)	
100.	Plaquetas ($\times 10^3/\text{mm}^3$):	(VN: 150-450)	
101.	AP (% atividade)	(VN: 80-100)	
102.	TP (segundos)	(VN: 11-13)	
103.	TTPA (segundos)	(VN: 30-45)	
104.	TGO (U/l)	(VN: 10-35)	
105.	TGP (U/l)	(VN: 9-43)	
106.	FA (U/l)	(VN: 37-147)	
107.	GGT(U/l)	(VN: H 11-55 M 7-33)	
108.	Glicose (mg/dl)	(VN: 75-115)	
109.	Bilirrubina direta (mg/dl)	(VN: até 0,25)	
110.	Bilirrubina total (mg/dl)	(VN: até 1,1)	
111.	Proteína total (g/dl)	(VN: 6,7-8,7)	
112.	Albumina (g/dl)	(VN: 3,8-5,0)	
113.	Gamaglobulina (g/dl)	(VN:)	
114.	Cálcio (mg/dl)	(VN: 8,1-10,4)	
115.	DHL (U/l)	(VN: 150-450)	

116.	Exame parasitológico de fezes ( ) 0. Negativo ( ) 1. Positivo ( ) 88. Não realizada	
	120a. Se positivo, qual parasita? ( ) 1. <i>Strongyloides stercoralis</i> ( ) 2. <i>Schistosoma mansoni</i> ( ) 3. <i>Ascaris lumbricoides</i> ( ) 4. <i>Giardia lamblia</i> ( ) 5. <i>Entamoeba histolytica</i> ( ) 6. Outro - Qual? _____ ( ) 88. Não realizada	
117.	Sorologia HTLV-I/II do(a) parceiro(a) DATA: ____/____/____ ELISA ( ) 0. Negativo ( ) 1. Positivo ( ) 88. Não realizada ( ) 99. Não se aplica – não tem parceiro(a)	
118.	Sorologia HTLV-I/II do(a) parceiro(a) DATA: ____/____/____ Western Blot ( ) 0. Negativo ( ) 1. HTLV I ( ) 2. HTLV II ( ) 3. HTLV I/II ( ) 4. Indeterminado ( ) 88. Não realizado ( ) 99. Não se aplica – não tem parceiro(a)	
119.	PCR para HTLV-I/II do cônjuge DATA: ____/____/____ ( ) 0. Negativa ( ) 1. HTLV-I ( ) 2. HTLV II ( ) 3. HTLV ( ) 88. Não realizada ( ) 99. Não se aplica – não tem parceiro(a)	
120.	Sorologia HCV do(a) parceiro(a) DATA: ____/____/____ ELISA ( ) 0. Negativo ( ) 1. positivo ( ) 88. Não realizada ( ) 99. Não se aplica – não tem parceiro(a)	
121.	Sorologia HCV do(a) parceiro(a) DATA: ____/____/____ Imunoblot ( ) 0. Negativo ( ) 1. positivo ( ) 2. Indeterminado ( ) 88. Não realizado ( ) 99. Não se aplica – não tem parceiro(a)	
122.	PCR HCV do(a) parceiro(a) DATA: ____/____/____ ( ) 0. Negativa ( ) 1. Positiva ( ) 88. Não realizada ( ) 99. Não se aplica – não tem parceiro(a)	

EXAMES COMPLEMENTARES

123.	USG abdome: DATA: ____/____/____ 1. ( ) Normal 2. ( ) Alterado: 88. ( ) Não realizada	
	123b. descrever _____ _____ _____ 88. ( ) Não realizada	

124.	Biópsia Hepática: DATA: ____/____/____ 124a. ESTADIAMENTO – ALTERAÇÃO ESTRUTURAL 0. ( ) Nenhum dano significativo à arquitetura lobular 1. ( ) Expansão fibrosa discreta de espaços porta 2. ( ) Expansão portal significativa, podendo ser vistos septos porta-porta 3. ( ) Preservação apenas parcial da arquitetura lobular, com septos porta-porta e centro-porta, podendo ser vistos ocasionais esboços de nódulos 4. ( ) Transformação nodular parcial, com predomínio de áreas com esboços nodulares ou cirrose 88. ( ) Não realizada	
	124b. ATIVIDADE NECRO-INFLAMATÓRIA ATUAL (COMPARTIMENTO PORTAL) 0. ( ) Linfócitos portais em quantidade habitual 1. ( ) Aumento discreto do número de linfócitos portais 2. ( ) Aumento moderado do número de linfócitos portais 3. ( ) Aumento significativo do número de linfócitos portais 4. ( ) Aumento acentuado do número de linfócitos portais 88. ( ) Não realizada	
	124c. ATIVIDADE NECRO-INFLAMATÓRIA ATUAL (COMPARTIMENTO PERI-PORTAL) 0. ( ) Ausência de lesões da interface espaço-porta/parênquima lobular 1. ( ) Extravazamento de linfócitos para a interface (spill-over), não caracterizando plenamente a presença de necrose em saca bocado 2. ( ) Necrose em saca-bocados discreta (pequenos focos) 3. ( ) Necrose em saca-bocados moderada (extensas áreas em poucos espaços-porta ou pequenos focos em muitos espaços-porta) 4. ( ) Necrose em saca-bocados extensa 88. ( ) Não realizada	
	124d. ATIVIDADE PARENQUIMATOSA (COMPARTIMENTO LOBULAR) 0. ( ) Ausência de alterações 1. ( ) Alterações discretas da hepatócitos, com raros focos de necrose. 2. ( ) Alterações moderadas, com necrose focal de hepatócitos em numerosos sítios. 3. ( ) Descrição: _____ 88. ( ) Não realizada	
	124e. MARCADORES ETIOLÓGICOS 0. ( ) Ausentes 1. ( ) presentes: _____ 88. ( ) Não realizada	
	124f. PIGMENTOS 0. ( ) Ausentes 1. ( ) presentes: _____ 88. ( ) Não realizada	

ANEXO C

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO APLICADO PARA PARTICIPAÇÃO EM UM ESTUDO DE PESQUISA

O ambulatório especializado em HTLV I/II da Divisão Clínica de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo está conduzindo um estudo para descrever as características epidemiológicas, clínicas, histológicas e laboratoriais da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em portadores dos vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos I (HTLV-I) e II (HTLV-II).

Se eu concordar em participar do estudo, responderei um questionário contendo perguntas a respeito de meus dados pessoais e questões como hábitos e práticas associadas à transmissão sexual e sanguínea de agentes infecciosos.

Serei ainda submetido a exame médico para avaliação clínica e diagnóstica de doenças relacionadas com a infecção pelo HTLV I/II e HCV e a realização de exames laboratoriais para esclarecimento de minhas condições de saúde. Tais exames envolvem a coleta de sangue e a realização de uma ultra-sonografia do abdome. Quando necessário, em caso de haver alterações das enzimas hepáticas e presença do vírus da Hepatite C no sangue, será realizada uma biópsia do fígado por meio de punção com agulha para coleta de material para avaliação do grau de comprometimento desse órgão pelo vírus da hepatite C. Os riscos do procedimento envolvem sangramento e dor local. Para os pacientes que já estão em acompanhamento no ambulatório de Hepatite C e que já tenham realizado a biópsia hepática, não será necessária nova biópsia.

Receberei os resultados dos exames no mesmo local em horário previamente agendado.

Durante todo o estudo receberei informações e assistência à saúde, segundo as necessidades detectadas e conforme recursos disponíveis no Hospital das Clínicas. A participação na pesquisa terá garantia de privacidade e de confidencialidade de todos os dados relativos à minha saúde.

As informações serão todas codificadas e guardadas sob sigilo, de forma anônima.

Minha participação no projeto não levará a nenhum custo.

Procurarei resolver as minhas dúvidas em relação ao estudo durante a entrevista, mas se após esse momento surgir alguma questão, sei que posso procurar o dr. Flávio Milagres ou dr. Aluisio Segurado, no ambulatório especializado em HTLV I/II da Divisão de Clínica de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do HC-FMUSP para esclarecê-las ou mesmo consultar a Comissão de Pesquisas do Departamento de Moléstias Infecciosas pelo telefone 3069-6530, de 2ª a 6ª feira, das 8 às 17 horas (Prof. Antônio Alci Barone).

Eu receberei uma cópia deste formulário de consentimento.

Minha participação é voluntária neste projeto de estudo.

Eu sou livre para aceitar ou não cooperar com este projeto.

Minha decisão de participar ou não da pesquisa não afetará em nada meu atendimento no serviço de saúde.

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome do Investigador: _____

Assinatura do Investigador: _____

São Paulo, _____ de _____ de _____ .

9. REFERÊNCIAS

Afdhal NH. The natural history of hepatitis C. *Semin Liver Dis.* 2004;24(Suppl 2):3-8.

Agresti A. *Categorical data analysis*. New York: Wiley; 1990.

Al-Mohri H, Cooper C, Murphy T, Klein MB. Validation of a simple model for predicting liver fibrosis in HIV/Hepatitis C virus-coinfected patients. *HIV Medicine.* 2005;6:375-8.

Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, Kaslow RA, Margolis HS. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med.* 1999;341:556-62.

Alter MJ, Mast EE, Moyer LA, Margolis HS. Hepatitis C. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 1998;12:13-26.

Anderson BJ, Gogineni A, Charuvastra A, Longabaugh R, Stein MD. Adverse drinking consequences among alcohol abusing intravenous drug users. *Alcohol Clin Exp Res.* 2001;25:41-5.

Araujo AQ, Andrada-Serpa MJ. Tropical Spastic Paraparesis/HTLV-I. associated myelopathy in Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1996;3:S33-7.

Araujo A, Hall WW. Human T-lymphotropic virus type II and neurological disease. *Ann Neurol.* 2004;56:10-9.

Backmund M, Schutz CG, Meyer K, Eichenlaub D, Soyka M. Alcohol consumption in heroin users, methadone-substituted and codeine-substituted patients-frequency and correlates of use. *Eur Addict Res.* 2003;9:45-50.

Bartholomew C, Saxinger WC, Clark JW, Gail M, Dudgeon A, Mahabir B, Hull-Drysdale B, Cleghorn F, Gallo RC, Blattner WA. Transmission of HTLV-I and HIV among homosexual men in Trinidad. *JAMA.* 1987;257:2604-8.

Bazarbachi A, Hermine O. Treatment of adult T-cell leukaemia/lymphoma: current strategy and future perspectives. *Virus Res.* 2000;178:79-92.

Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology.* 1996;24:289-93.

Biasutti C. *Avaliação da resposta immune humoral e celular em portadores assintomáticos da infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas do tipo I (HTLV-I)* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2001.

Bonacini M, Hadi G, Govindarajan S, Lindsay KL. Utility of a discriminant score for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol.* 1997;92:1302-4.

Bortz J. Statistik. Berlin: Springer; 1993.

Boschi-Pinto C, Stuver S, Okayama A, Trichopoulos D, Orav EJ, Tsubouchi H, Mueller N. A follow-up study of morbidity and mortality associated with hepatitis C virus infection and its interaction with HTLV-I in Miyazaki, Japan. *J Infect Dis.* 2000;181:35-41.

Botté C, Janot C. Epidemiology of HCV infection in the general population and blood transfusion. *Nephrol Dial Transplant*. 1996;11:19-21.

Brasil. Ministério da Saúde. *Guia de manejo clínico do HTLV. Normas e Manuais Técnicos-Série Manuais*; nº3-CN-DST e Aids: Brasília (DF); 2003

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n. 1376 de 19 de novembro de 1993. Aprova as normas técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília (DF). 1993; 2 dez.; Seção I; 18405.

Bussab WO, Morettin PA. *Estatística básica*. 4ª ed. São Paulo: Atual; 1987.

Campiotto S, Pinho JRR, Carrilho FJ, Da Silva LC, Souto FJD, Spinelli V, Pereira LMMB, Coelho HSM, Silva AO, Fonseca JC, Rosa H, Lacet CMC, Bernardini AP. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. *Braz J Med Biol Res*. 2005;38:41-9.

Carneiro-Proietti AB, Lima-Martins MV, Passos VM, Carmo RA, Pinheiro SR, Rocha PR, Proietti FA, Ferreira PC, Rocha VG. Presence of human immunodeficiency virus (HIV) and T-lymphotropic virus type I and II (HTLV-I/II) in a haemophiliac population in Belo Horizonte, Brazil, and correlation with additional serological results. *Haemophilia*. 1998;4:47-50.

Carneiro-Proietti ABF, Ribas JGR, Catalan-Soares BC, Martins ML, Brito-Melo GEA, Martins-Filho OA, Pinheiro SR, Araujo AQC, Galvão-Castro B, de Oliveira MSP, Guedes AC, Proietti FA. Infection and disease caused by the human T cell lymphotropic viruses type I and II in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35:499-508.

Carrilho FJ, Correa MCJM. Magnitude of hepatitis B and C in Latin America. In: Schinazi RF, Sommadossi JP, Thomas HC, editores. *Therapies for viral hepatitis*. Atlanta: International Medical Press; 1998.

Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti AB, Proietti FA; grupo interdisciplinar de pesquisas em HTLV. Human T-cell lymphotropic virus in family members of seropositive blood donors: silent dissemination. *Rev Panam Salud Publica*. 2004;16:387-94.

Cavalheiro NP. *Hepatite C: transmissão entre casais* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2004.

Centers for Disease Control and Prevention and the U.S.P.H.S. Working Group. Guidelines for counseling persons infected with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) and type II (HTLV-II). *Ann Intern Med*. 1993;118:448-54.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related disease. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1998;47:1-40.

Chan YH. Discriminant analysis. *Singapore Med J*. 2005;46:54-62.

Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244:359-62.

Colin DD, Alcântara LCJ, Santos FLN, Uchoa R, Tavares-Neto J. Prevalência da infecção pelo vírus linfotrópico humano de células T e fatores de risco associados a soropositividade em doadores de sangue da cidade de Rio Branco, AC, Brasil (1998-2001). *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36:677-83.

Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol*. 2003;39:239-44.

Conover WJ. *Practical nonparametric statistics*. 2nd ed. New York: Wiley; 1980.

Cortes E, Detels R, Aboulafia D, Li XL, Moudgil T, Alam M, Bonecker C, Gonzaga A, Oyafuso L, Tondo M. HIV-1, HIV-2, and HTLV-I infection in high-risk groups in Brazil. *N Engl J Med*. 1989;320:953-8.

Davis GL. Hepatitis C. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, editors. *Schiff's diseases of the liver* 8.ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999. v.1,p.793-836.

de la Fuente L, Toro C, Soriano V, Brugal MT, Vallejo F, Barrio G, Jimenez V, Silva T; Project Itinere Working Group. HTLV infection among young injection and non-injection heroin users in Spain: prevalence and correlates. *J Clin Virol*. 2006;35:244-9.

de Lamballerie X. Serological and molecular biology screening techniques for HVC infection. *Nephrol Dial Transplant*. 1996;11(Suppl 4):9-11.

Degos F, Hepatitis C and alcohol. *J Hepatol*. 1999;31(Suppl 1):113-8.

Dong B, Xie YQ, Chen K, Wang T, Tang W, You WC, Li JY. Differences in biological features of gastric dysplasia, indefinite dysplasia, reactive hyperplasia and discriminant analysis of these lesions. *World J Gastroenterol*. 2005;11:3595-600.

Dourado I, Andrade T, Galvao-Castro B. HTLV-I in Northeast Brazil: differences for male and female injecting drug users. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998;19:426-9.

Edlich RF, Arnette JA, Williams FM. Global epidemic of human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I). *J Emerg Med*. 2000;18:109-19.

Ferreira Jr OC, Vaz RS, Carvalho MB, Guerra C, Fabron AL, Rosembliit J, Hamerschlak N. Human T-lymphotropic virus type I and type II infections and correlation with risk factors in blood donors from São Paulo, Brazil. *Transfusion*. 1995;35:258-63.

Figueroa JP, Ward E, Morris J, Brathwaite AR, Peruga A, Blattner W, Vermund SH, Hayes R. Incidence of HIV and HTLV-1 infection among sexually transmitted disease clinic attenders in Jamaica. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1997;15:232-7.

Focaccia R, da Conceição OJ, Sette H Jr, Sabino E, Bassit L, Nitrini DR, Lomar AV, Lorenço R, Vieira De Souza F, Kiffer CR, Santos EB, Gonzales MP, Saez-Alquezar A, Riscal JR, Fischer D. Estimated prevalence of viral hepatitis in the general population of the municipality of São Paulo, measured by a serologic survey of a stratified, randomized and residence-based population. *Braz J Infect Dis*. 1998;6:269-84.

Franchini G. Molecular mechanisms of human T-Cell leukemia/lymphotropic virus type I infection. *Blood* 1995;86:3619-39.

Fujino T, Nagata Y. HTLV-I transmission from mother to child. *J Reprod Immunol*. 2000;47:197-206.

Gabbai AA, Bordin JO, Vieira-Filho JP, Kuroda A, Oliveira AS, Cruz MV, Ribeiro AA, Delaney SR, Henrard DR, Rosario J. Selectivity of human T lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) and HTLV-2 infection among different populations in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 1993;49:664-71.

Galvão-Castro B, Loures L, Rodrigues LGM, Sereno A, Ferreira Jr. OC, Franco LGP, Muller M, Sampaio DA, Santana A, Passos LM, Proietti F. Geographic distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide brazilian study. *Transfusion*. 1997;37:242-3.

Garson JA, Ring C, Tuke P, Tedder RS. Enhanced detection by PCR of hepatitis C virus RNA. *Lancet*. 1990b;336:878-9.

Garson JA, Tedder RS, Briggs M, Tuke P, Glazebrook, JA, Trute A, Parker D, Barbara JAJ, Contreras M, Aloysius S. Detection of hepatitis C viral sequences in blood donations by "nested" polymerase chain reaction and prediction of infectivity. *Lancet*. 1990a;335:1418-22.

Goon PK, Bangham CR. Interference with immune function by HTLV-1. *Clin Exp Immunol*. 2004;137:234-6.

Greene WC, Ballard DW, Bohnlein E, Rimsky LT, Hanly SM, Kim JH, Malim MH, Cullen BR. The trans-regulatory proteins of HTLV-I: analysis of *tax* and *rex*. In: Blattner WA., editor. *Human retrovirology: HTLV*. New York: Raven Press; 1990. p.35-43.

Heneine W, Khabbaz RF, Lal RB, Kaplan JE. Sensitive and specific polymerase chain reaction assays for diagnosis of human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) and HTLV-II infections in HTLV-I/II-seropositive individuals. *J Clin Microbiol*. 1992;30:1605-7.

Hisada M, Shima T, Okayama A, Mueller N, Tsubouchi H, Stuver S. Suppression of skin reactivity to purified protein derivative by hepatitis C virus among HTLV-I carriers in Japan. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998;19:421-5.

Inchauspe G. Protection and defence mechanisms in HCV infection. *Nephrol Dial Transplant*. 1996;11(Suppl 4):6-8.

Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White T. *PCR-Protocols: a guide to methods and applications*. New York: Academic Press; 1990.

Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, Macsween RNM, Phillips MJ, Portmann BG, Poulsen H, Scheuer PJ, Schmidt M, Thaler H. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995;22:696-9.

Johnson RA, Wichern DW. *Applied multivariate statistical analysis*. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall; 1998.

Jorge MLSG. *Método de reação em cadeia por polimerase para a pesquisa de retrovírus em casos de Linfomas não-Hodgkin de células T periféricas e paraparesias crurais espásticas* [tese]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2001.

Kajiyama W, Kashiwagi S, Ikematsu H, Hayashi J, Nomura H, Okochi K. Intrafamilial transmission of adult T-cell leukemia virus. *J Infect Dis*. 1986;154:851-7.

Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Miyoshi I, Golde D, Gallo RC. New subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T cell variant of hairy cell leukemia. *Science*. 1982;218:571-3.

Kato N, Nakazawa T, Mizutani T, Shimotohno K. Susceptibility of human T-lymphotropic virus type I infected cell line MT-2 to hepatitis C virus infection. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;206:863-9.

Kishihara Y, Furusyo N, Kashiwagi K, Mitsutake A, Kashiwagi S, Hayashi J. Human T lymphotropic virus type I infection influences hepatitis C virus clearance. *J Infect Dis*. 2001;184:1114-9.

Koblin BA, Factor SH, Wu Y, Vlahov D. Hepatitis C virus infection among noninjecting drug users in New York City. *J Med Virol*. 2003;70:387-90.

Kraus JA, Schutze C, Brokate B, Kroger B, Schwndermann G, Hildebrandt H. Discriminant analysis of the cognitive performance profile of MS patients differentiates their clinical course. *J Neurol*. 2005;252:808-13.

Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, Dienstag JL, Alter MJ, Stevens CE, Tegtmeier GE, Bonino F, Colombo M, Lee WS, Kuo C, Berger K, Shuster JR, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*. 1989;244:362-4.

Lackner C, Struber G, Liegl B, Leibl S, Ofner P, Bankuti C, Bauer B, Stauber RE. Comparison and validation of simple noninvasive tests for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005;41:1376-82.

Lam NP. Hepatitis C: natural history, diagnosis, and management. *Am J Health-Syst Pharm*. 1999;56:961-76.

Lang CA, Conrad S, Garrett L, Battistutta D, Cooksley WG, Dunne MP, Macdonald GA. Symptom prevalence and clustering of symptoms in people living with chronic hepatitis C infection. *J Pain Symptom Manage*. 2006;31:335-44.

Lerat H, Hollinger FB. Hepatitis C virus (HCV) occult infection or occult HCV RNA detection? *J Infect Dis.* 2004;189:3-6.

Major ME, Feinstone SM. The molecular virology of hepatitis C. *Hepatology.* 1997;25:1527-38.

Maloney EM, Cleghorn FR, Morgan OS, Rodgers-Johnson P, Cranston B, Jack N, Blattner WA, Bartholomew C, Manns A Incidence of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in Jamaica and Trinidad. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1998;17:167-70.

Maloney EM, Wiktor SZ, Palmer P, Cranston B, Pate EJ, Cohn S, Kim N, Miley W, Thomas TL, Blattner WA, Hanchard B. A cohort study of health effects of human T-cell lymphotropic virus type I infection in Jamaican children. *Pediatrics.* 2003;112:136-42.

McGarvey MJ, Houhhton M, Weiner AJ. Structure and Molecular Virology. In: Zucherman AJ; Thomas HC editors. *Viral hepatitis.* 2nd ed. London: Churchill Livingstone; 1998. p.253-70.

McIntyre PG, Hill DA, Appleyard K, Taylor A, Hutchinson S, Goldberg DJ. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus, HIV and human T-cell leukaemia/lymphoma viruses in injecting drug users in Tayside, Scotland, 1993-7. *Epidemiol Infect.* 2001;126:97-101.

Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. *Molecular cloning: a laboratory manual.* New York: Cold Spring Harbor; 1989.

Memon MI, Memon MA. Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat.* 2002;9:84-100.

Mendez E, Kawanishi T, Clemens K, Siomi H, Soldan SS, Calabresi P, Brady J, Jacobson S. Astrocyte-specific expression of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) tax: Induction of tumor necrosis factor alpha and susceptibility to lysis by CD8+ HTLV-1 specific cytotoxic T cells. *J Virol.* 1997;71:9143-9.

Miyoshi I, Taguchi H, Ohtsuki Y, Shiraishi Y. Isolation of ATLTV from healthy ATLTV carriers by mixed lymphocyte culture. *Prog Clin Biol Res.* 1983;119:243-9.

Milagres ACP, Jorge MSLG, Marchiori PE, Segurado AAC. Human T cell lymphotropic virus type 1 – associated myelopathy in São Paulo, Brazil. *Neuroepidemiology.* 2002;21:153-8.

Mizutani T, Kato N, Saito S, Ikeda M, Sugiyama K, Shimotohno K. Characterization of hepatitis C virus replication in cloned cells obtained from a human T-cell leukemia virus type 1-infected cell line, MT-2. *J Virol.* 1996;70:7219-23.

Morgan O. Tropical spastic paraparesis-clinical features. In:blattner WA,editor. *Human retrovirology: HTLV.* New York: Raven Press; 1990. p.199-204.

Morimoto HK, Caterino-De-Araujo A, Morimoto AA, Reiche EM, Ueda LT, Matsuo T, Stegmann JW, Reiche FV. Seroprevalence and risk factors for human T cell lymphotropic virus type 1 and 2 infection in human immunodeficiency virus-infected patients attending AIDS referral center health units in Londrina and other communities in Parana, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2005;21:256-62.

Morton TA, Kelen GD. Hepatitis C. *Ann Emerg Med.* 1998;31:381-90.

Murphy EL, Figueroa JP, Gibbs WN, Brathwaite A, Holding-Cobham M, Waters D, Cranston B, Hanchard B, Blattner WA. Sexual transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). *Ann Intern Med.* 1989;111:555-60.

Murphy EL, Glynn S, Watanabe K, Fridey J, Smith J, Sacher R, Wright D, Schreiber G, Luban N. Laboratory test differences associated with HTLV-I and HTLV-II infection. Retrovirus Epidemiology Donor Study Investigators. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998;17:332-8.

Nakashima K, Ikematsu H, Hayashi J, Kishihara Y, Mutsutake A, Kashiwagi S. Intrafamilial transmission of hepatitis-C virus among the population of an endemic area of Japan. *JAMA*. 1995;274:1459-61.

Neumann-Haefelin C, Blum HE, Chisari FV, Thimme R. T cell response in hepatitis C virus infection. *J Clin Virol*. 2005;32:75-85.

Nicot C. Current views in HTLV-I associated adult T-cell leukemia/lymphoma. *Am J Hematol*. 2005;78:232-9.

Ogata A, Nagashima K, Tashiro K, Miyakawa A, Mikuni C. MRI-pathological correlate of brain lesions in a necropsy case of HTLV-I associated myelopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1993;56:194-6.

Okayama A, Maruyama T, Tachibana N, Hayashi K, Kitamura T, Mueller N, Tsubouchi H. Increased prevalence of HTLV-I infection in patients with hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus. *Jpn J Cancer Res*. 1995;86:1-4.

Olbrich Neto J, Meira DA. Soroprevalence of HTLV-I/II, HIV, siphylis and toxoplasmosis among pregnant women seen at Botucatu - São Paulo - Brazil: risk factors for HTLV-I/II Infection. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2004;37:28-32.

Osame M, Janssen R, Kubota H, Nishitani H, Igata A, Nagataki S, Mori M, Goto I, Shimabukuro H, Khabbaz R, Kaplan J. Nationwide survey of HTLV-I associated myelopathy in Japan: Association with blood transfusion. *Ann Neurol*. 1990;28:50-6.

Osame M, Matsumoto M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Tara M, Igata A. Chronic progressive myelopathy associated with elevated antibodies to human T-lymphotropic virus type I and Adult T-cell Leukemia like cells. *Ann Neurol*. 1987;21:117-22.

Paltanin LF, Reiche EM. Seroprevalence of anti-hepatitis C virus antibodies among blood donors, Brazil. *Rev Saude Publica*. 2002;36:393-9.

Pando MA, Bautista CT, Maulen S, Duranti R, Marone R, Rey J, Vignoles M, Eirin ME, Biglione MM, Griemberg G, Montano SM, Carr JK, Sanchez JL, Avila MM. Epidemiology of Human Immunodeficiency Virus, Viral Hepatitis (B and C), *Treponema pallidum*, and Human T-Cell Lymphotropic I/II Virus Among Men Who Have Sex With Men in Buenos Aires, Argentina. *Sex Transm Dis*. 2006;33:307-13.

Pavan MHP, Aoki FH, Monteiro DT, Gonçalves NSL, Escanhoela CAF, Gonçalves Junior FL. Viral hepatitis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Braz J Infect Dis*. 2003;4:253-261.

Peck-Radosavljevic M. Thrombocytopenia in liver disease. *Can J Gastroenterol*. 2000;14(Suppl D):60D-66D.

Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1980;77:6415-9.

Porto AF, Santos SB, Alcantara L, Guerreiro JB, Passos J, Gonzalez T, Neva F, Gonzalez D, Ho JL, Carvalho EM. HTLV-1 modifies the clinical and immunological response to schistosomiasis. *Clin Exp Immunol*. 2004;137:424-9.

Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*. 1997;349:825-32.

Retrovirus. Wikipedia: *The free Encyclopedia* [on-line]. available from: <http://en.wikipedia.org/wiki/Retrovirus>. [cited may 2006]

Riley TR 3rd, Chinchilli VM, Shoemaker M, Koch K. Is nausea associated with chronic hepatitis C infection? *Am J Gastroenterol*. 2001;96:3356-60.

Rodríguez-Torres M, Rios-Bedoya CF, Rodríguez-Orengo J, Fernández-Carbia A, Marxuach-Cuétara AM, López-Torres A, Salgado-Mercado R, Bräu N. Progression to cirrhosis in latinos with chronic hepatitis C: differences in puerto ricans with and without human immunodeficiency virus coinfection and along gender. *J Clin Gastroenterol*. 2006;40:358-66.

Rosenberg PM. Hepatitis C: a clinician's view at the turn of the millennium. *Infect Dis Clin Pract*. 2002;11:205-10.

Roucoux DF, Wang B, Smith D, Nass CC, Smith J, Hutching ST, Newman B, Lee TH, Chafets DM, Murphy EL; HTLV Outcomes Study Investigators. A prospective study of sexual transmission of human T lymphotropic virus (HTLV)-I and HTLV-II. *J Infect Dis*. 2005;191:1490-7.

Ryder SD, Irving WL, Jones DA, Neal KR, Underwood JC; Trent Hepatitis C Study Group. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut*. 2004;53:451-5.

Sáez-Alquézar A, Bassil L, Sabino EC. Hepatites. In: Ferreira AW, Ávila SLM. *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.37-49.

Salles NA, Sabino EC, Barreto CC, Barreto AM, Otani MM, Chamone DF. The discarding of blood units and the prevalence of infectious diseases in donors at the Pro-Blood Foundation/Blood Center of São Paulo, São Paulo, Brazil. *Rev Panam Salud Publica*. 2003;13:111-6.

Schupbach J. Human Retrovirology. Facts and concepts. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1989;142:1-27.

Seeff LB. Natural history of hepatitis C. *Am J Med*. 1999;197(6B):10S-15S.

Segurado AA, Malaque CM, Sumita LM, Pannuti CS, Lal RB. Laboratory characterization of human T cell lymphotropic virus types 1 (HTLV-1) and 2 (HTLV-2) infections in blood donors from Sao Paulo, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 1997;57:142-8.

Segurado, AAC. *Contribuição ao estudo das infecções por HTLV-I/II com base na integração das atividades de assistência e pesquisa em hospital universitário* [tese livre-docência]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2001.

Segurado AC, Braga P, Etzel A, Cardoso MR. Hepatitis C virus coinfection in a cohort of HIV-infected individuals from Santos, Brazil: seroprevalence and associated factors. *AIDS Patient Care STDS*. 2004;18:135-43.

Seiki M, Hattori S, Hirayama Y, Yoshida M. Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1983;80:3618-22.

Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis*. 2005;5:558-67.

Shimoyama M. Diagnostic criteria and classification of clinical subtypes of adult T-cell leukemia-lymphoma. A report from the Lymphoma Study Group (1984-78). *Br J Haematol.* 1991;79:428-37.

Sodroski J, Patarca R, Perkins D, Briggs D, Lee TH, Essex M, Coligan J, Wong-Staal F, Gallo RC, Haseltine WA. Sequence of the envelope glycoprotein gene of type II human T lymphotropic virus. *Science.* 1984;225:421-4.

Spina-França A, Livramento JA, Machado LR, Gomes HR, Vianna LS, Castro LHM, Nóbrega JPS, Bacheschi LA. HTLV-1 antibodies in serum and cerebrospinal fluid in tropical spastic paraparesis in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr.* 1990;48:441-7.

Stuver SO, Tachibana N, Okayama A, Shioiri S, Tsunetoshi Y, Tsuda K, Mueller NE. Heterosexual transmission of human T cell leukemia/lymphoma virus type I among married couples in southwestern Japan: an initial report from the Miyazaki Cohort Study. *J Infect Dis.* 1993;167:57-65.

Szabo G, Aloman C, Polyak SJ, Weinman SA, Wands J, Zakhari S. Hepatitis C infection and alcohol use: A dangerous mix for the liver and antiviral immunity. *Alcohol Clin Exp Res.* 2006;30:709-19.

Takamizawa A, Mori C, Fuke I, Manabe S, Murakami S, Fujita J, Onishi E, Andoh T, Yoshida I, Okayama H. Structure and organization of the hepatitis C virus genome isolated from human carriers. *J Virol.* 1991;3:1105-13.

Tanaka K, Stuver SO, Ikematsu H, Okayama A, Tachibana N, Hirohata T, Kashiwagi S, Tsubouchi H, Mueller NE. Heterosexual transmission of hepatitis C virus among married couples in southwestern Japan. *Int J Cancer.* 1997;72:50-5.

Taylor GP, Bodeus M, Courtois F, Pauli G, Del Mistro A, Machuca A, Padua E, Andersson S, Goubau P, Chieco-Bianchi L, Soriano V, Coste J, Ades AE, Weber JN. The seroepidemiology of human T-lymphotropic viruses: types I and II in Europe: a prospective study of pregnant women. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;38:104-9.

Telzak EE, Hershow R, Kalish LA, Hardy WD Jr, Zuckerman E, Levine A, Delapenha R, DeHovitz J, Greenblatt RM, Anastos K. Seroprevalence of HTLV-I and HTLV-II among a cohort of HIV-infected women and women at risk for HIV infection. Women's Interagency HIV Study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998;19:513-8.

Tengan FM, Eluf-Neto J, Cavaleiro NP, Barone AA. Sexual transmission of hepatitis C virus. *Rev Inst Med Trop*. 2001;43:133-37.

Thomson BJ, Finch GR. Hepatitis C virus infection. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:86-94.

Tong MJ, El Farre NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med*. 1995;332:1463-6.

Tuke PW, Luton P, Garson JA. Differential diagnosis of HTLV-I and HTLV-II infection by restriction enzyme analysis of "nested" PCR products. *J Virol Met*. 1992;40:163-74.

Vitek CR, Gracia FI, Giusti R, Fukuda K, Green DB, Castillo LC, Armien B, Khabbaz RF, Levine PH, Kaplan JE, et al. Evidence for sexual and mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type II among Guaymí Indians, Panama. *J Infect Dis*. 1995;171:1022-6.

Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:518-26.

Weissenbacher M, Rossi D, Radulich G, Sosa-Estani S, Vila M, Vivas E, Avila MM, Cuchi P, Rey J, Peralta LM. High seroprevalence of bloodborne viruses among street-recruited injection drug users from Buenos Aires, Argentina. *Clin Infect Dis*. 2003;37(Suppl 5):S348-52.

Westin J, Lagging LM, Wejstal R, Norkrans G, Dhillon AP. Interobserver study of liver histopathology using the Ishak score in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Liver*. 1999;19:169-70.

Winnock M, Salmon-Céron D, Dabis F, Chêne G. Interaction between HIV-1 and HCV infections: towards a new entity? *J Antimicrob Chemother*. 2004;53:936-46.

Wright M, Goldin R, Fabre A, Lloyd J, Thomas H, Trepo C, Pradat P, Thursz M; HENCORE collaboration. Measurement and determinants of the natural history of liver fibrosis in hepatitis C virus infection: a cross sectional and longitudinal study. *Gut*. 2003;52:574-9.

Yamaguchi K. Human T-lymphotropic virus type I in Japan. *Lancet*. 1994;343:213-6.

Yoshida M, Miyoshi I, Hinuma Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982;79:2031-5.

Zechini B, Pasquazzi C, Aceti A. Correlation of serum aminotransferases with HCV RNA levels and histological findings in patients with chronic hepatitis C: the role of serum aspartate transaminase in the evaluation of disease progression. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004;16:891-6.