

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**

Carmen Luci Rodrigues Lopes

**INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DA INFECÇÃO PELO VÍRUS
DA HEPATITE C EM USUÁRIOS DE DROGAS ILÍCITAS NO BRASIL CENTRAL**

Orientadora

Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins

Tese de Doutorado

Goiânia-GO, 2009

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**

Carmen Luci Rodrigues Lopes

**INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DA INFECÇÃO PELO VÍRUS
DA HEPATITE C EM USUÁRIOS DE DROGAS ILÍCITAS NO BRASIL CENTRAL**

Orientadora

Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins

Tese submetida ao PPGMTSP/UFG, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor em Medicina Tropical, na área de concentração em Microbiologia.

Este trabalho foi realizado com auxílio financeiro do MCT-CNPq/MS-SCTIE-DECIT, processo nº. 402783/2004-2

Goiânia-GO, 2009

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(GPT/BC/UFG)

L864i **Lopes, Carmen Luci Rodrigues.**
Investigação epidemiológica e molecular da infecção pelo vírus da hepatite C em usuários de drogas ilícitas no Brasil Central [manuscrito] / Carmen Luci Rodrigues Lopes. – 2009.
xv, 82 f. : il., tabs., figs., qds.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Regina Maria Bringel Martins.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, 2009.

Bibliografia: f. 60-82

Inclui lista de quadros, tabelas e figuras.

1. Hepatite C – Epidemiologia 2. Usuários de drogas ilícitas

I. Martins, Regina Maria Bringel II. Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública III. Título.

CDU: 616.36-002(817.3)

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais (Lázaro Rodrigues Freire e Dagmar de Oliveira Freire - “in memoriam”), que com lições de amor me ensinaram a compreender o verdadeiro valor da vida e a dedicar aos estudos e à minha profissão. A ausência de vocês se fez presença em todos os momentos de meu caminhar;

Ao meu esposo (Paulo), filhos (Wagner e Joyce) e nora (Giovanna), que souberam compreender minhas ausências e pelo carinho dedicado durante a realização deste estudo.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

A Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins

Pelo exemplo de dedicação, conhecimento e competência. Obrigada por aceitar essa orientação e pela confiança em mim depositada. Seus ensinamentos e sua maneira em me conduzir na busca dos meus próprios caminhos, contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional que, certamente me acompanharão por toda vida. Serei eternamente grata.

“Há homens que lutam um dia e por isso são bons;
há outros que lutam muitos dias e por isso são muito bons;
há aqueles que lutam anos e são melhores ainda;
porém há os que lutam toda a vida, esses são os imprescindíveis.”

Bertold Brecht

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar sempre os meus passos e iluminar o meu caminho, fazendo-se presente em todas as minhas dificuldades e por permitir mais esta conquista;

À Coordenação, corpo docente e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG, pela oportunidade, suporte científico e acolhimento;

À Profa. Dra. Sheila Araújo Teles, pela análise dos dados e contribuição durante toda a construção deste estudo, além do incentivo e amizade;

À Profa. Dra. Renata Carneiro Ferreira, companheira de jornada desde o primeiro momento e presente em todas as coletas e ensaios sorológicos, obrigada por todo o seu carinho, auxílio e palavras de apoio, essenciais na concretização deste estudo;

À Profa. Ms. Fabiana Perez Rodrigues e Profa. Dra. Ana Rita C. Motta-Castro, pela valiosa contribuição na coleta dos dados em Campo Grande e também pelo incentivo na realização deste estudo;

À Dra. Elisabete Lampe, IOC-Fiocruz, pela disponibilidade na realização do seqüenciamento e análise das amostras, bem como à Dra. Márcia P. Espírito Santo, pela grandiosa contribuição nesta etapa;

À Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro, pela amizade, pelo incentivo, apoio e companheirismo durante esta jornada;

À Doutoranda Nádia Rúbia da Silva Reis e ao Biomédico Ágabo Macedo da Costa e Silva, não só pelo carinho, amizade e incentivo, mas pelo apoio e atenção especial na realização dos testes moleculares essenciais na concretização deste trabalho;

À Thaís Augusto Marinho, bolsista de Iniciação Científica do projeto deste estudo, o meu agradecimento especial, não só pelo carinho e atenção a mim dedicados

durante este caminhar, mas pelo empenho e paciência na formatação das figuras e tabelas em todas apresentações realizadas;

Ao Prof. Ms. Marcos André de Matos, pela importante contribuição nas coletas e entrevistas e pelo incentivo;

À Profa. Dra. Márcia Alves Dias de Matos, pelo exemplo de dedicação que muito me motivou a iniciar esta jornada, além da contribuição nas coletas e entrevistas;

À Ms. Nara Rúbia de Freitas, Ms. Aline Garcia Kozlowski e Mestranda Viviane Rodrigues Tavares, pela contribuição nas coletas e entrevistas, pelo carinho dispensado e incentivo, que fizeram diferença na realização deste trabalho;

À Mestranda Laura Branquinho do Nascimento não só pela contribuição nas entrevistas e incentivo, mas também pelos momentos descontraídos proporcionados no percurso das coletas;

À Mestranda Nativa Helena Alves Del-Rios, pelo carinho especial, sempre prestativa e muito contribuiu na formatação da tese, slides, figuras e referências bibliográficas;

Às bolsistas Tamiris Augusto Marinho, Lyriane Apolinário Araújo, e às Mestrandas Láiza Alencar Santos Barros e Pollyanne Sousa Lemes que chegaram ao Laboratório de Virologia após a fase de coleta dos dados, mas sempre se mostraram prestativas para o que fosse necessário e muito contribuíram com o apoio e carinho;

À Giselle Dias Galindo Pecin, pelo carinho especial na formatação final e numeração de páginas desta tese;

A todos os funcionários do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, que me acolheram;

À direção da Faculdade de Enfermagem/UFG nas pessoas do Prof. Dr. Marcelo Medeiros e Profa. Dra. Adélia Yaeko Nakatani, pelo incentivo constante à qualificação docente e por todo o apoio neste meu caminhar;

Aos demais professores e funcionários da Faculdade de Enfermagem, pelo carinho, compreensão e incentivo que foram fundamentais para a realização deste estudo;

Aos alunos do curso de graduação em Enfermagem que fizeram a disciplina de Introdução à Enfermagem nestes três últimos anos, obrigada pelo apoio, compreensão e incentivo;

Aos professores participantes do Exame de Qualificação, Dra. Sheila Araújo Teles, Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro e Dra. Maria do Rosário Rodrigues Silva, pelas sugestões apresentadas;

Ao Ministério da Saúde (MS) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro;

Agradecimentos especiais aos dirigentes dos centros de tratamento e aos usuários de drogas, por aceitarem contribuir com este estudo.

A todos os familiares, especialmente ao meu irmão Cleomar Donizete Rodrigues e amigos que sempre me incentivaram durante a realização deste trabalho;

“Durante esta caminhada muitas experiências foram vividas e encontrei, re-encontrei pessoas queridas, especiais e que muito me ajudaram. A todos vocês o meu carinho, de coração.”

FOLHAS

Existem pessoas em nossas vidas que nos deixam felizes pelo simples fato de terem cruzado o nosso caminho. Algumas percorrem ao nosso lado, vendo muitas luas passarem, mas outras vemos apenas entre um passo e outro. A todas elas chamamos de amigo.

Há muitos tipos de amigos. Talvez cada folha de uma árvore caracterize um deles. O primeiro que nasce do broto é o amigo pai e o amigo mãe. Mostram o que é ter vida. Depois vem o amigo irmão, com quem dividimos o nosso espaço para que ele floresça como nós.

Passamos a conhecer toda a família de folhas, a qual respeitamos e desejamos o bem. Mas o destino nos apresenta outros amigos, os quais não sabíamos que iam cruzar o nosso caminho. Muitos destes são denominados amigos do peito, do coração. São sinceros, são verdadeiros. Sabem quando não estamos bem, sabem o que nos faz feliz...

Às vezes, um desses amigos do peito estala o nosso coração e então é chamado de amigo (a) namorado (a). Este dá brilho aos nossos olhos, música aos lábios, pulos aos nossos pés.

Mas também há aqueles amigos por um tempo, talvez umas férias ou mesmo um dia ou uma hora. Estes costumam colocar muitos sorrisos na nossa face, durante o tempo em que estamos por perto.

Falando em perto, não podemos esquecer dos amigos distantes. Aqueles que ficam nas pontas dos galhos, mas quando o vento sopra, sempre aparecem novamente entre uma folha e outra.

O tempo passa, o verão se vai, o outono se aproxima, e perdemos algumas de nossas folhas. Algumas nascem num outro verão e outras permanecem por muitas estações. Mas o que nos deixa mais feliz é que as que caíram continuam por perto, continuam alimentando a nossa raiz com alegria. Lembranças de momentos maravilhosos enquanto cruzavam o nosso caminho.

Cada pessoa que passa em nossa vida é única. Dizem que sempre deixam um pouco de si e levam um pouco de nós. Há os que levaram muito, mas não há os que não deixaram nada.

Agradeço a cada um, que, de uma forma ou de outra foi folha da minha árvore e desejo muita Paz, Amor, Saúde, Sucesso e Prosperidade...Hoje e sempre.

Autor desconhecido

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| ÍNDICE DE FIGURAS | xiii |
| ÍNDICE DE TABELAS | xiv |
| ÍNDICE DE QUADROS | xvi |
| RESUMO | xiv |
| SUMMARY | xvii |
| 1. INTRODUÇÃO | 01 |
| 1.1. Considerações iniciais | 01 |
| 1.2. Características biomoleculares e variabilidade do HCV | 02 |
| 1.3. Aspectos clínicos e tratamento da hepatite C | 08 |
| 1.4. Diagnóstico da hepatite C | 11 |
| 1.5. Aspectos epidemiológicos da infecção pelo vírus da hepatite C | 15 |
| 1.5.1. Transmissão do HCV | 15 |
| 1.5.2. Prevalência da hepatite C | 17 |
| 1.5.3. Distribuição geográfica dos genótipos do vírus da hepatite C | 20 |
| 1.6. Prevenção e controle da infecção pelo HCV | 21 |
| 1.7. Usuários de drogas ilícitas e a infecção pelo vírus da hepatite C | 22 |
| 1.8. Justificativa | 27 |
| 2. OBJETIVOS | 29 |
| 2.1. Objetivo geral | 29 |
| 2.2. Objetivos específicos | 29 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 30 |
| 3.1. População estudada | 30 |
| 3.2. Entrevista e coleta de sangue | 30 |
| 3.3. Testes sorológicos | 31 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3.1. Detecção do marcador anti-HCV..... | 31 |
| 3.3.2. Detecção do marcador anti-HBc | 32 |
| 3.4. Testes moleculares | 33 |
| 3.4.1. Detecção do RNA-HCV | 33 |
| 3.4.2. Genotipagem do HCV | 34 |
| 3.4.2.1. Genotipagem por hibridização reversa (LiPA)..... | 34 |
| 3.4.3. Seqüenciamento da Região NS5B | 35 |
| 3.4.3.1. Amplificação das amostras para a região NS5B | 35 |
| 3.4.3.2. Purificação do DNA | 35 |
| 3.4.3.3. Seqüenciamento e análise da região NS5B | 36 |
| 3.5. Processamento e análise dos dados..... | 37 |
| 4. RESULTADOS..... | 38 |
| 4.1. Características dos usuários de drogas | 38 |
| 4.2. Prevalência do marcador anti-HCV na população estudada..... | 42 |
| 4.3. Fatores de risco associados à infecção pelo HCV | 44 |
| 4.4. Detecção do RNA viral e genotipagem do vírus da hepatite C..... | 48 |
| 5. DISCUSSÃO | 51 |
| 6. CONCLUSÕES | 59 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 60 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Representação esquemática do vírus da hepatite C..... | 02 |
| Figura 2 – Representação esquemática do genoma do vírus da hepatite C | 03 |
| Figura 3 – Árvore filogenética dos tipos e subtipos do HCV | 08 |
| Figura 4 – História natural da infecção pelo HCV..... | 09 |
| Figura 5 – Perfil sorológico da hepatite C aguda..... | 12 |
| Figura 6 – Perfil sorológico da hepatite C crônica | 13 |
| Figura 7 – Endemicidade mundial da infecção pelo HCV | 18 |
| Figura 8 – Prevalência do marcador anti-HCV em usuários de drogas ilícitas de acordo com a idade..... | 43 |
| Figura 9 – Prevalência do marcador anti-HCV em usuários de drogas ilícitas de acordo com o tempo de uso de drogas | 44 |
| Figura 10 – Genótipos/subtipos do HCV em usuários de drogas ilícitas no Brasil Central..... | 48 |
| Figura 11 - Árvore filogenética da região NS5B | 49 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Características sócio-demográficas dos usuários de drogas (UD) ilícitas no Brasil Central | 38 |
| Tabela 2 – Características do uso de drogas na população estudada..... | 39 |
| Tabela 3 – Relato sobre o conhecimento das formas de transmissão do HCV em usuários de drogas (UD) ilícitas, Brasil Central..... | 41 |
| Tabela 4 – Prevalência do marcador anti-HCV em 691 usuários de drogas ilícitas, Brasil Central..... | 42 |
| Tabela 5 – Fatores de risco associados à infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em usuários de drogas ilícitas, Brasil Central..... | 46 |
| Tabela 6 – Análise multivariada dos fatores de risco associados à infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em usuários de drogas ilícitas, Brasil Central..... | 47 |
| Tabela 7 – Características dos usuários de drogas ilícitas, cujas amostras foram subtipadas por seqüenciamento direto da região NS5B | 50 |

ÍNDICE DE QUADROS

| | |
|---|----|
| Quadro 1 – Estudos de prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C realizados em Goiânia-GO | 20 |
| Quadro 2 – Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C em usuários de drogas (UD) ilícitas institucionalizados ou em centros de tratamento | 24 |

RESUMO

A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) é um importante problema de saúde pública. Os usuários de drogas (UD) constituem um grupo com freqüente exposição ao HCV e, pouco se conhece sobre essa infecção em UD no Brasil. Este estudo teve como objetivo investigar o perfil soropidemiológico e molecular da infecção pelo HCV em usuários de drogas ilícitas no Brasil Central. Um total de 691 UD, sendo 102 injetáveis (UDI) e 589 não injetáveis (UDNI), foi entrevistado e amostras sanguíneas coletadas em 26 centros de tratamento de uso de drogas situados em Campo Grande-MS e Goiânia-GO. As amostras sanguíneas (soros) foram testadas para a detecção de anticorpos para o HCV (anti-HCV). As amostras anti-HCV positivas foram submetidas à detecção do RNA-HCV pela reação em cadeia da polimerase (PCR) com iniciadores complementares às regiões 5' NC e NS5B do genoma viral e, genotipadas pelo LiPA e por seqüenciamento direto, seguido de análise filogenética, respectivamente. A prevalência para anti-HCV foi 6,9% (IC 95%: 5,2-9,2). A população estudada apresentou conhecimento limitado sobre as formas de transmissão parenteral (20,8-30,5%), sexual (31,7%) e vertical (20%) do HCV. A análise multivariada de fatores de risco revelou que idade > 40 anos, via (injetável) e tempo de uso de drogas e transfusão de sangue foram associados à infecção pelo HCV. O RNA viral foi detectado em 85,4% das amostras anti-HCV positivas. Trinta e três amostras foram do genótipo 1 pelo LiPA, subtipos 1a (63,4%) e 1b (17,1%), e oito (19,5%) do genótipo 3, subtipo 3a. A análise filogenética da região NS5B mostrou que 17 (68%), 5 (20%) e 3 (12%) amostras foram dos subtipos 1a, 3a e 1b, respectivamente. Este estudo mostra uma prevalência elevada da infecção e do subtipo 1a do HCV em usuários de drogas no Brasil Central, bem como o uso injetável de drogas como principal fator de risco para essa infecção. Além disso, evidenciou conhecimento limitado da população estudada sobre as formas de transmissão do HCV. Assim, medidas preventivas são necessárias para o controle dessa infecção em usuários de drogas ilícitas.

SUMMARY

Hepatitis C virus (HCV) infection is an important problem of public health. Drug users (DU) constitute a group of frequent exposure to HCV and little is known about this infection in DU in Brazil. This study aimed to investigate the seroepidemiological and molecular profile of HCV infection among drug users in Central Brazil. A total of 691 DU, being 102 injection drug users (IDU) and 589 noninjecting drug users (NIDU), were interviewed and blood samples collected in 26 treatment drug centers in Campo Grande-MS and Goiânia-GO. Blood samples (sera) were tested for antibodies to HCV (anti-HCV). Anti-HCV-positive samples were submitted to HCV RNA detection by polymerase chain reaction (PCR) with primers complementary to the 5' NC and NS5B regions of viral genome and genotyped by LiPA and direct nucleotide sequencing followed by phylogenetic analysis, respectively. The anti-HCV prevalence was 6.9% (95% CI: 5.2-9.2). The study population reported a low known regarding HCV transmission ways, such as parenteral (20.8-30.5%), sexual (31.7%) and vertical (20%) of HCV. Multivariate analysis of risk factors revealed that age > 40 years, route (injecting) and duration of drug use and blood transfusion were associated with HCV infection. HCV RNA was detected in 85.4% of the anti-HCV-positive samples. Thirty-three samples were of genotype 1 by the LiPA, subtypes 1a (63.4%) and 1b (17.1%), and eight samples (19.5%) were of genotype 3, subtype 3a. The phylogenetic analysis of the NS5B region showed that 17 (68%), 5 (20%) and 3 (12%) samples were of subtypes 1a, 3a and 1b, respectively. This study shows a high HCV infection prevalence and the predominance of subtype 1a among drug users in Central Brazil. Also, the injecting drug use was the risk factor most strongly associated with this infection. In addition, the study population reported a low known regarding HCV transmission ways. Thus, preventive measures are needed to control this infection in illicit drug users.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações iniciais

Em meados de 1970, após o desenvolvimento de testes sorológicos para o diagnóstico das infecções pelos vírus das hepatites A e B, verificou-se que grande parte dos casos de hepatite pós-transfusional não apresentava marcadores sorológicos para esses agentes, recebendo então a denominação de hepatite não A, não B (HNANB) (Prince et al. 1974, Feinstone et al. 1975). Por mais de uma década, várias tentativas foram realizadas na busca de caracterização desse agente, porém sem sucesso (Shih et al. 1986).

Em 1989, Choo et al., utilizando técnicas de biologia molecular, conseguiram clonar o genoma do vírus da hepatite C (HCV - *hepatitis C virus*). Após essa descoberta, o desenvolvimento de testes sorológicos baseados na pesquisa de anticorpos contra antígenos do HCV (Kuo et al. 1989) veio demonstrar que esse agente era responsável pela maioria das hepatites não A, não B pós-transfusional (Alter et al. 1989, Kiyosawa et al. 1990).

A infecção pelo vírus da hepatite C é considerada um importante problema de saúde pública mundial. Estima-se que cerca de 130 milhões de pessoas estejam infectados por esse vírus (Alter 2007). A hepatite C aguda geralmente se apresenta de forma assintomática, no entanto a maioria dos casos evolui para cronicidade, podendo levar ao desenvolvimento de cirrose hepática e carcinoma hepatocelular, conferindo a essa virose importante causa de morbimortalidade (Chen & Morgan et al. 2006, Blackard et al. 2008). A infecção pelo HCV pode causar ainda várias manifestações extra-hepáticas (Zignego et al. 2007, Craxì et al. 2008).

1.2. Características biomoleculares e variabilidade do HCV

O HCV é classificado na família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus* (ICTV 2006). A partícula viral tem cerca de 60 nm de diâmetro e apresenta um envelope lipídico envolvendo o capsídeo protéico e o genoma (Figura 1). O genoma viral é formado por uma molécula de RNA fita simples de polaridade positiva com aproximadamente 9.500 nucleotídeos (nt), possuindo uma longa região aberta de leitura (ORF - *open reading frame*) flanqueada por regiões não codificantes (NC) nas extremidades 5' e 3' (Figura 2). A região codificante dá origem a uma poliproteína de aproximadamente 3.000 aminoácidos (aa) que é clivada por proteases celulares e virais, resultando em proteínas estruturais (*core*/proteína C e do envelope/E1 e E2) e não-estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) (Simmonds 2004, Suzuki et al. 2007). Uma pequena proteína, denominada p7, está localizada entre as proteínas E2 e NS2, cuja classificação não está bem definida (Sakai et al. 2003, Griffin et al. 2004, Haqshenas et al. 2007).

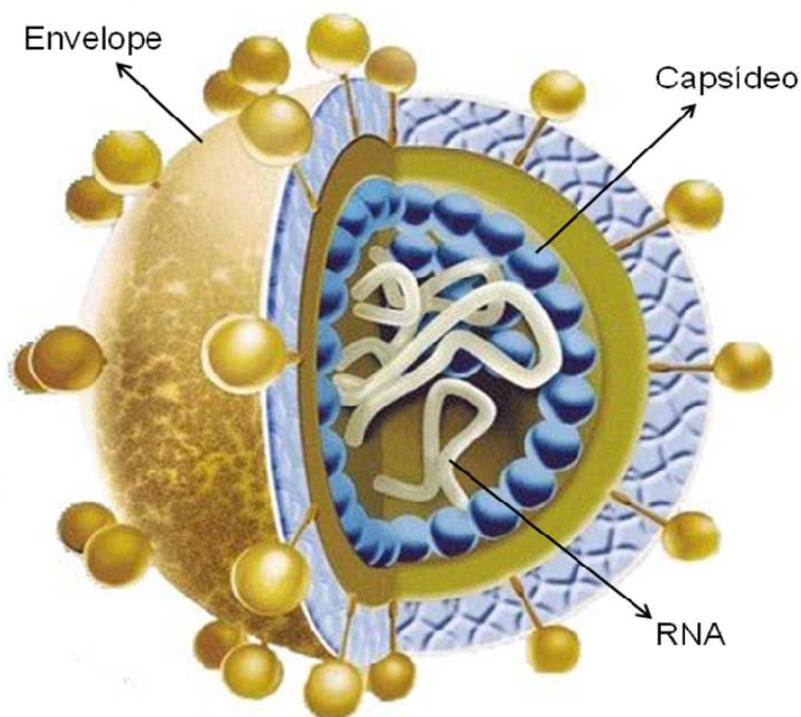


Figura 1 – Representação esquemática do vírus da hepatite C

Fonte: www.sciencephoto.com

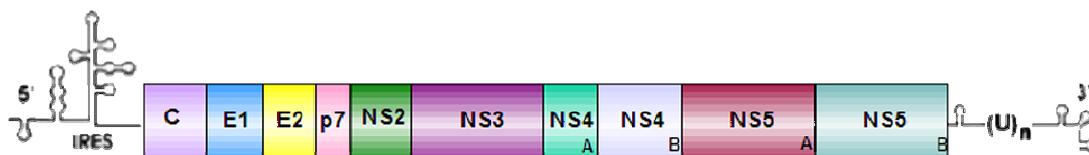


Figura 2 – Representação esquemática do genoma do vírus da hepatite C

Fonte: Roingeard et al. 2004 (com modificações)

A região terminal 5' NC, constituída por cerca de 340 nt, é a mais conservada do genoma do HCV. Essa região possui uma estrutura secundária complexa, com formação de alças (*stem-loops*) que contêm um sítio de entrada interno para ribossomos (IRES - *internal ribosome entry site*), sendo, portanto, responsável pela iniciação e controle da tradução do RNA viral (Friebe et al. 2001, Kikuchi et al. 2005, Suzuki et al. 2007).

A região 3' NC é heterogênea e apresenta estrutura tripartida. Sua parte inicial é constituída por 40 nt, apresentando variabilidade entre os genótipos. A segunda parte é formada por uma seqüência de polipirimidina (poli U/UC) de extensão variável e, a terceira é a parte terminal, constituída por uma seqüência de 98 nt altamente conservada, denominada cauda 3'X. A presença dessa seqüência conservada na região 3' NC é necessária para iniciação da replicação viral (Friebe et al. 2002, 2005, Song et al. 2006).

A proteína do *core* ou nucleocapsídeo, com 191 aa, é formada pelo primeiro e o mais conservado domínio expresso durante a síntese da poliproteína do HCV (Eroğlu et al. 2000, Lanford & Bigger 2002). Essa proteína apresenta vários epítomos β -celulares lineares próximos à porção amino-terminal, conferindo imunogenicidade e antigenicidade, o que a torna importante para a detecção de anticorpos no soro de pacientes infectados pelo HCV. A principal função da proteína do *core* é a de encapsidação do genoma, formando o nucleocapsídeo viral (Kato 2001, Irshad & Dhar 2006, Dubuisson 2007). Além disso, devido a sua capacidade de se associar com diferentes componentes celulares, outras funções têm sido atribuídas a essa proteína, tais como: modulação da transcrição gênica, na sinalização, proliferação e morte celular, bem como a sua interferência no

metabolismo lipídico (esteatose), oncogênese do carcinoma hepatocelular e na supressão da resposta do hospedeiro (Okuda et al. 2002, Penim et al. 2004, Irshad & Dhar 2006, Roingeard & Hourieux 2008).

A síntese de uma proteína codificada, por uma fase de leitura alternativa, na região *core* foi descrita por alguns autores, sendo designada (ARF - *alternative reading frame*) ou proteína F (*frameshift*). Essa proteína possui cerca de 160 aa, podendo ser sintetizada durante a infecção pelo HCV e, é capaz de estimular respostas imunes específicas (Xu et al. 2001, Brass et al. 2006). Apesar do papel da proteína F na replicação viral não estar definido, a mesma pode ser responsável por algumas das funções atribuídas à proteína *core*, como a indução de carcinogênese e da resposta imune do hospedeiro (Walewski et al. 2001, Branch et al. 2005, Dubuisson 2007).

As proteínas do envelope E1 (165 aa) e E2 (335 aa) são glicosiladas, transmembrana tipo I, que interagem com receptor celular, sendo constituídas por um longo domínio N-terminal e um curto domínio hidrofóbico na porção C-terminal (Roccasecca et al. 2003, Dubuisson 2007). E1 e E2 são sintetizadas a partir da clivagem enzimática promovida pela sinal-peptidase celular. Essas proteínas promovem o processo de adsorção/fusão do vírus à célula hospedeira (Takikawa et al. 2000, Op De Beeck et al. 2001, Cocquerel et al. 2002). A proteína E2 contém sítios de ligação para a molécula CD81, que é uma proteína de membrana encontrada em vários tipos de células, incluindo hepatócitos, linfócitos B e T, células dendríticas, *natural killer*, endoteliais, epiteliais, macrófagos e monócitos, e parece participar do processo de interação do HCV com essas células e, conseqüentemente da patogenia da infecção (Bartosch & Cosset 2006, Rocha-Perugini et al. 2008).

Além disso, a glicoproteína E2 é capaz de interagir com a proteína quinase R (PKR - *protein kinase R*), cuja expressão é induzida pelo interferon (IFN), tornando-se ativa em presença de RNA fita dupla. A proteína PKR associa-se ao fator de iniciação da tradução 2 (eIF2 - *eukaryotic translation initiation factor 2*) durante a síntese proteica. A proteína E2 possui um importante domínio formado por 12 aa com homologia para sítios de fosforilação na proteína PKR e do eIF2

(E2-PePHD - *PKR/eIF2alpha phosphorylation homology domain region*), sendo capaz de bloquear a atividade inibitória da proteína quinase PKR sobre a replicação viral. Assim, a interação E2-PKR parece constituir um dos mecanismos de resistência viral dos isolados do genótipo 1 ao interferon (Drazan 2000, Taylor et al. 2001, Simmonds 2004, Wohnsland et al. 2007).

As glicoproteínas E1 e E2 exibem um alto grau de variabilidade genética em suas seqüências. Na porção N-terminal da proteína E2, há uma região constituída de 27 aminoácidos (aa 1-27 de E2), que é caracterizada por extrema variabilidade na seqüência dos aminoácidos, denominada de região hipervariável 1 (HVR1). A região HVR1 contém importantes epítomos para anticorpos neutralizantes produzidos durante a infecção pelo HCV (Takikawa et al. 2000, Callens et al. 2005). A glicoproteína E2 de isolados virais do subtipo 1b apresenta uma segunda região hipervariável, denominada de HVR2, composta por sete aminoácidos (aa 91-97 de E2) (Roccasecca et al. 2003, Dubuisson 2007). Mais recentemente, foi descrita uma terceira região hipervariável, HVR3, em E2 (aa 431-466 de E2). Essa variabilidade da proteína E2 tem sido responsável pelo escape viral à resposta imune do hospedeiro (Troesch et al. 2006, Torres-Puente et al. 2008).

A proteína p7, com 63 aa, é hidrofóbica, transmembrana, capaz de formar hexâmeros envolvidos na formação de canais para passagem de íons em membranas lipídicas (Premkumar et al. 2004, Brass et al. 2006, Haqshenas et al. 2007). Esses canais podem ser bloqueados por fármacos como amantadina (Sakai et al. 2003, StGelais et al. 2007). Uma função moduladora sobre a permeabilidade da membrana foi atribuída à proteína p7, sendo considerada uma virosporina com papel importante na maturação e liberação da partícula viral (Pavlovic et al. 2003, Griffin et al. 2004).

As proteínas não estruturais exercem funções enzimáticas e, estão relacionadas com a replicação viral. A NS2 (217 aa) e a porção N-terminal de NS3 formam uma metaloprotease dependente do zinco (NS2/3), que cliva NS2 a partir da poliproteína. Portanto, a proteína NS2 tem como função mediar a sua própria

clivagem (Suzuki et al.1999, Dubuisson 2007).

A proteína NS3 (631 aa) é multifuncional, com atividades de serinaprotease no primeiro terço N-terminal e de helicase/NTPase nos dois terços C-terminal. A protease NS3 é capaz de promover a clivagem no sítio da junção NS3-NS4A (ação cis), bem como nos sítios de junção de NS4A/NS4B, NS4B/NS5A e NS5A/NS5B (ação trans), resultando nas proteínas NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B. A proteína NS3 interage com várias proteínas celulares e, o envolvimento da mesma no processo de carcinogênese tem sido investigado (Deng et al. 2006, Dubuisson 2007).

A proteína NS4A (64 aa) funciona como co-fator para a atividade serinaprotease da NS3, sendo essa atividade indispensável para a replicação do RNA viral (Kato, 2001, Nomura-Takigawa et al. 2006). A NS4B (261 aa) é capaz de alterar a membrana intracelular, induzindo a formação da rede membranosa, que serve de suporte ao complexo de replicação viral (Egger et al. 2002, Gretton et al. 2005).

A NS5A (447 aa) é uma proteína fosforilada essencial para a replicação viral. Essa proteína contém uma seqüência denominada ISDR (*interferon sensitivity determinig region*), que pode determinar a resposta do HCV ao interferon (Macdonald & Harris 2004, Schmitz & Tan 2008). Além dessa região, a proteína NS5A contém outro domínio com alto grau de variabilidade genética, chamado região variável 3 (V3), correspondendo aos aminoácidos das posições 2356–2379. A associação entre mutações no domínio V3 e resposta ao interferon tem sido reportada, entretanto, o seu mecanismo não está bem esclarecido (Fan et al. 2005, Veillon et al. 2007). Ainda, uma possível participação da proteína NS5A no estabelecimento da hepatite crônica e no processo de carcinogênese tem sido sugerida (Kato 2001, Le Guillemette-Guillou et al. 2007).

A proteína NS5B (591 aa) possui uma seqüência altamente conservada, sendo caracterizada como RNA polimerase RNA dependente (RpRd), que é fundamental na replicação do genoma (Okura et al. 2004, Lee et al. 2006, Timm & Roggendorf 2007). Nos últimos anos, alguns estudos têm sugerido que mutações

na RpRd estão associadas com menor resposta ao tratamento com interferon e ribavirina, principalmente em indivíduos infectados com genótipo 1b (Kumagai et al. 2004, Hamano et al. 2005, Sáez López & Agüero-Balbin 2006).

O genoma do HCV apresenta um notável grau de variabilidade genética devido, principalmente, às várias mutações que ocorrem durante a replicação viral. Essa variabilidade é resultante da baixa capacidade da enzima RpRd de corrigir erros durante a sua leitura levando a formação de seqüências nucleotídicas incorretas. A análise de seqüências do genoma do HCV mostrou uma taxa de mutação de nucleotídeos variando de $1,4 \times 10^{-3}$ a $1,9 \times 10^{-3}$ substituições de bases por sítio/ano (Giannini & Bréchet 2003, Le Guillemette-Guillou et al. 2007). Essas mutações não ocorrem de forma uniforme por todo o genoma viral. A região 5' NC é a mais conservada, com mais de 90% de identidade entre os isolados, seguida da região *core*, com 81% a 88% de identidade. Por outro lado, a maior variabilidade é encontrada nas regiões que codificam as proteínas do envelope, E1 e E2 (Le Guillemette-Guillou et al. 2007).

Com base na heterogeneidade genética, Simmonds et al. (1993) propuseram a classificação do HCV em genótipos, subtipos, isolados e *quasispecies*, dependendo do grau de homologia entre as seqüências. Atualmente, seis genótipos, designados por números arábicos (1 a 6), e múltiplos subtipos têm sido classificados, denominados por letras minúsculas, como exemplos 1a, 1b, etc (Figura 3). Os genótipos podem diferir entre si num percentual maior que 30%, enquanto os subtipos de 20% a 25% e, os isolados de 5 a 15%. As *quasispecies*, definidas como uma população heterogênea de vírions que infectam um mesmo indivíduo, divergem em 1% a 5% entre as seqüências do HCV analisadas (Simmonds et al. 2005).

A recombinação homóloga entre os genótipos do HCV tem sido verificada. Tal recombinação pode ser facilitada por fatores como a circulação de vários genótipos/subtipos do HCV em uma mesma região geográfica, comportamento de risco (compartilhamento repetido de equipamentos para uso de drogas endovenosas) e falta de imunidade protetora durante a infecção crônica pelo HCV (Simmonds 2004, Le Guillemette-Guillou et al. 2007).

A variabilidade do HCV tem implicações na epidemiologia, diagnóstico, curso clínico e tratamento da hepatite C, bem como na sua prevenção tendo em vista a dificuldade no desenvolvimento de vacinas (Zein 2000, Lyra et al. 2004).

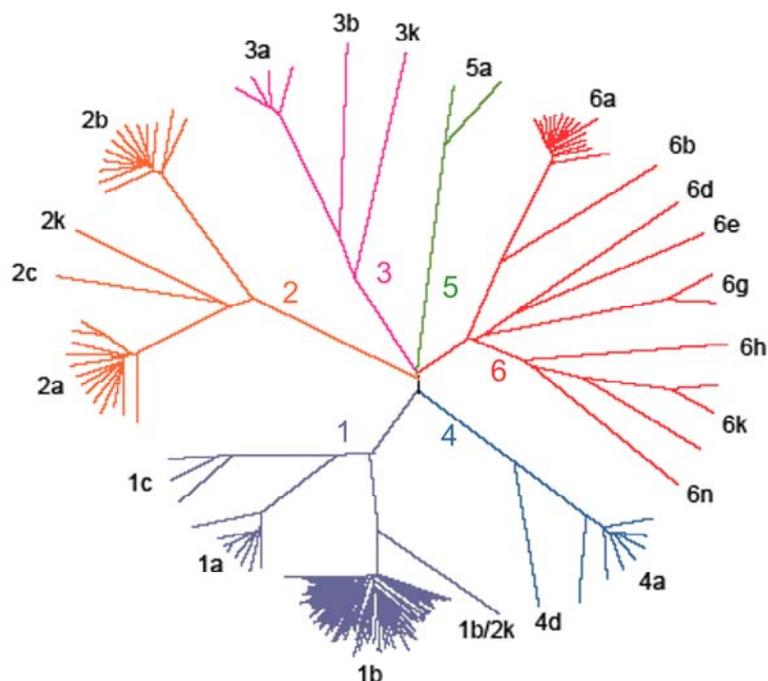


Figura 3 – Árvore filogenética dos tipos e subtipos do HCV

Fonte: Timm & Roggendorf 2007 (com modificações)

1.3. Aspectos clínicos e tratamento da hepatite C

A infecção aguda pelo vírus da hepatite C é na maioria das vezes assintomática ou subclínica. Quando os sintomas se apresentam, geralmente são intermitentes e inespecíficos, ocorrendo usualmente dentro de sete a oito semanas após a exposição ao vírus (Kew et al. 2004, Pérez 2007, Blackard et al. 2008).

A história natural da infecção pelo HCV tem sido difícil de avaliar, tanto por ser normalmente silenciosa na fase aguda, quanto pela escassez de sintomas no início da infecção crônica. Em indivíduos infectados pelo HCV, cerca de 50% a

85% podem evoluir para hepatite crônica e, após 20 a 30 anos, aproximadamente 10% a 20% dos portadores crônicos desenvolvem cirrose e, 1% a 4% carcinoma hepatocelular (Figura 4) (Thomson & Finch 2005, Senecal & Morelli 2007, Maheshwari et al. 2008).

O curso da infecção crônica e o grau de progressão de fibrose do fígado variam notavelmente dentre os pacientes, podendo ser influenciado por vários fatores, tais como: idade avançada quando da aquisição do HCV, sexo masculino, alcoolismo e co-infecção com o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) e/ou vírus da hepatite B (HBV) (Poynard et al. 2003, Chen & Morgan 2006, Asselah et al. 2007). Esteatose hepática, obesidade e diabetes também podem contribuir para progressão mais rápida da fibrose hepática (Delahooke 2004, Dienstag & McHutchison 2006).

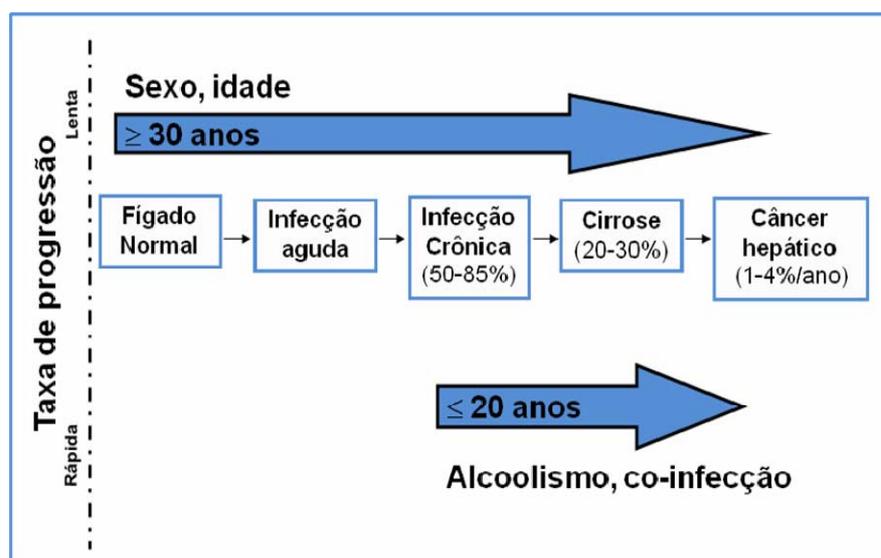


Figura 4 – História natural da infecção pelo HCV

Fonte: Lauer & Walker, 2001 (com modificações)

A infecção crônica pelo HCV está associada com várias manifestações extra-hepáticas, incluindo renais, dermatológicas, hematológicas e reumatológicas, as quais podem afetar a qualidade de vida dos indivíduos infectados. A crioglobulinemia mista é a doença mais freqüentemente encontrada

nos pacientes com hepatite C crônica (Agnelo & de Rosa 2004, Galossi et al. 2007, Romero-Gómez & García-Romero 2008). Os indivíduos com crioglobulinemia mista podem apresentar diferentes sintomas, variando de fadiga, rash cutâneo, púrpura, artralgias, fenômeno de Raynaud, vasculite e doença renal. As manifestações clínicas parecem ser causadas pelo acúmulo de imunocomplexos (anticorpos anti-HCV e antígenos virais) em vários órgãos (Zignego et al. 2007, Craxi et al. 2008). Outras manifestações extra-hepáticas encontradas em pacientes com infecção crônica pelo HCV são: glomerulonefrite, porfiria cutânea, liquen plano, vitiligo, tireoidite autoimune e síndrome de Sjögren, dentre outras (Zoulim et al. 2003, Galossi et al. 2007, Modi & Liang 2008).

A infecção oculta pelo vírus da hepatite C, apesar de pouco comum, pode acontecer nas seguintes situações: em indivíduos anti-HCV e RNA-HCV negativos no soro, com valores anormais de transaminases séricas, ou anti-HCV positivos e RNA-HCV negativos no soro, com valores normais de transaminases séricas. Em ambas, a presença do HCV pode ser demonstrada no fígado e/ou em locais extra-hepáticos, como as células mononucleares do sangue periférico (Castillo et al. 2004, Carreño 2006).

O tratamento da hepatite C crônica tem como principal objetivo inibir a replicação viral, evitando a progressão da doença hepática para cirrose e/ou carcinoma hepatocelular. Esforços têm sido desenvolvidos em busca de uma terapêutica que permita reduzir a morbimortalidade associada à infecção crônica pelo HCV (Poynard et al. 2003, Foster 2004, Feld & Hoofnagle 2005). Entretanto, os antivirais disponíveis até o momento, além da baixa eficácia, provocam efeitos colaterais importantes e são administrados por período de tempo prolongado, exigindo portanto, indicações específicas e monitorização especializada (Rodés & Tapias 2000, Dienstag & McHutchison 2006).

São indicados para o tratamento, os indivíduos anti-HCV e RNA-HCV positivos, com níveis de alanina aminotransferase (ALT) persistentemente elevados, com biópsia hepática mostrando atividade inflamatória e/ou fibrose moderada a intensa e que não apresentem contra-indicações aos antivirais a serem utilizados (Moreno-Otero 2005, Dienstag & McHutchison 2006). No Brasil,

o protocolo clínico e as diretrizes terapêuticas para a hepatite C são regulamentados pela Portaria nº 34 de 28 de setembro de 2007 (Ministério da Saúde 2007).

O interferon alfa (IFN- α) em monoterapia foi o primeiro medicamento usado para o tratamento da infecção pelo HCV. Apesar da baixa resposta apresentada (efetiva em menos de 20%), foi a terapia utilizada por muitos anos. A adição da ribavirina (RB) ao IFN- α fez com que essa resposta atingisse 40% (McHutchison & Poynard 1999, Feld & Hoofnagle 2005). O interferon alfa peguado (Peg IFN- α), constituído por IFN- α conjugado a uma molécula de polietilenoglicol, é a base do tratamento atual. Essa conjugação proporciona aumento da meia-vida do interferon, permitindo que o mesmo seja administrado uma vez por semana, por via subcutânea, com ribavirina, em doses que variam de 1000 a 1200 mg por dia (Alberti & Benvegnù 2003, Pearlman 2004, Dienstag & McHutchison 2006, Ministério da Saúde 2007).

O tratamento é considerado efetivo quando há resposta virológica sustentada (RVS), ou seja, negatificação do RNA-HCV após 24 semanas do término do tratamento. Os pacientes que têm RVS geralmente mantêm-se sem replicação viral por tempo indefinido e apresentam melhora bioquímica e histológica (Poynard 2004, Feld & Hoofnagle 2005, Asselah et al. 2007). Essa resposta é influenciada por fatores, como idade, estágio de fibrose avançado, consumo de álcool, carga viral pré-tratamento e, principalmente, o genótipo do HCV (Healthcote & Main 2005, Weigand et al. 2007). Os pacientes infectados com genótipo 1 têm apresentado RVS em 45% a 57% dos casos, após 48 semanas de tratamento com Peg IFN- α + RB (1000 a 1200 mg/dia), enquanto 70% a 85% daqueles infectados com genótipos 2 ou 3 apresentam essa resposta após o tratamento com Peg IFN- α + RB (800 mg/ dia) por 24 semanas (Fried & Hadziyannis 2004, Healthcote 2007).

1.4. Diagnóstico da hepatite C

Duas categorias de exames laboratoriais são usadas rotineiramente para o diagnóstico da infecção pelo HCV, incluindo análises sorológicas, com a pesquisa

de anticorpos, e molecular, com a detecção/quantificação do RNA viral e identificação dos genótipos (Pawlotsky 2002, Ferreira-Gonzalez & Shiffman 2004, Chevaliez & Pawlotsky 2007).

Na infecção aguda, o RNA-HCV pode ser detectado de uma a duas semanas após a exposição ao vírus, enquanto os anticorpos a partir de sete a oito semanas. Simultaneamente, pode ocorrer elevação nos níveis de ALT, retornando ao normal até o sexto mês de infecção, quando o RNA-HCV desaparece. Por outro lado, o marcador anti-HCV persiste por muitos anos (Figura 5) (Irving 2007, Blackard et al. 2008, Maheshwari et al. 2008).

A infecção crônica pelo HCV é caracterizada pela persistência do RNA viral por mais de seis meses após a exposição (Figura 6). Geralmente, anticorpos anti-HCV são detectados e, observa-se flutuações nos níveis de ALT (Mondelli et al. 2005, Irving 2007, Craxì et al. 2008).

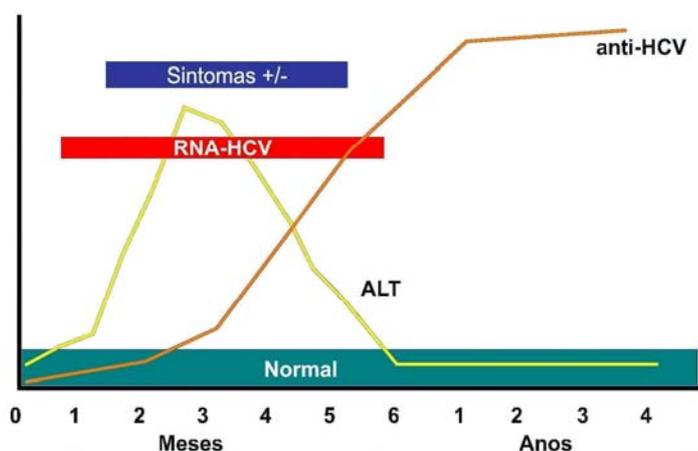


Figura 5 – Perfil sorológico da hepatite C aguda

Fonte: CDC – www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset (com modificações)

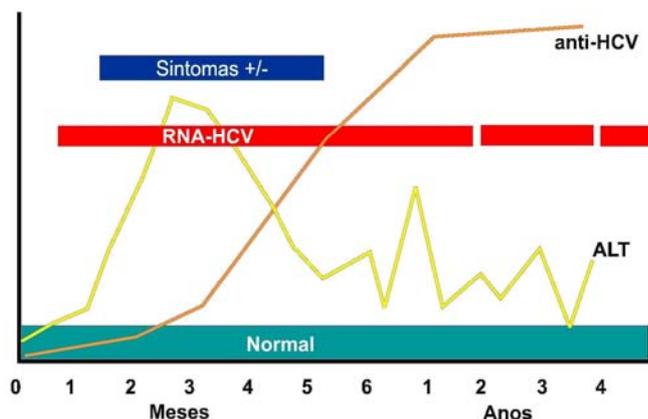


Figura 6 – Perfil sorológico da hepatite C crônica

Fonte: CDC – www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset (com modificações)

O ensaio imunoenzimático (ELISA) é o teste sorológico rotineiramente utilizado no diagnóstico da hepatite C desde o início dos anos 90. Nas três gerações de ELISA desenvolvidas até o momento, proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos foram empregados para a captura de anti-HCV (Erensoy 2001, Ferreira-Gonzalez & Shiffman 2004).

O ELISA de primeira geração (ELISA I) tinha como alvo somente o polipeptídeo c100-3 correspondente à região NS4 (Barrera 2000, Erensoy 2001) e, como apresentava baixa sensibilidade e especificidade, não é mais utilizado (Gretch 1997, Brandão et al. 2001).

A segunda geração do ELISA (ELISA II) surgiu em 1992, nos Estados Unidos (Alter et al. 1992). Esse ensaio possui antígenos correspondentes às regiões *core*, NS3 e NS4, o que proporcionou um aumento na especificidade e sensibilidade do teste, reduzindo de 16 para 10 semanas o tempo médio de detecção da soroconversão (Barrera 2000, Brandão et al. 2001).

O ELISA de terceira geração (ELISA III) apresenta, além dos antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos do ELISA anterior, o antígeno correspondente à região NS5. A principal vantagem dessa nova geração do teste foi a redução na detecção do tempo médio de soroconversão, que passou para

sete a oito semanas. Além disso, houve aumento na sensibilidade e especificidade, chegando a mais de 99% em indivíduos imunocompetentes (Erensoy 2001, Ferreira-Gonzalez & Shiffman 2004, Chevaliez & Pawlotsky 2007).

Os testes confirmatórios ou *immunoblots* apresentam alta especificidade, portanto são utilizados para excluir resultados anti-HCV falso-positivos. Esses ensaios, pelo elevado custo, devem ser preferencialmente realizados em amostras de indivíduos em baixo risco de infecção (Barrera 2000, Pawlotsky 2002, Gonçalves et al. 2005).

Ainda por análise sorológica (ELISA), a detecção do antígeno do *core* pode auxiliar na detecção precoce do vírus da hepatite C, reduzindo assim, os problemas com a janela imunológica. Os títulos desse antígeno correlacionam-se diretamente com os níveis do RNA do HCV, podendo, portanto, ser usado como um marcador de replicação viral. Entretanto, sua eficácia é limitada em casos de carga viral baixa (Silva & Rosseti 2001, Ferreira-Gonzalez & Shiffman 2004, Căruntu & Benea 2006).

As técnicas de biologia molecular para detecção do RNA do HCV, como a reação em cadeia da polimerase (PCR - polymerase chain reaction) e a amplificação mediada por transcrição (TMA - transcription-mediated amplification), são necessárias para confirmação diagnóstica da infecção ativa pelo HCV. Assim, elas são particularmente úteis nas exposições recentes e nos imunocomprometidos, bem como para diagnóstico da infecção pelo HCV em recém-nascidos (Erensoy 2001, Căruntu & Benea 2006). Para confirmação diagnóstica da hepatite C, aconselha-se a determinação qualitativa do RNA-HCV, que também tem sido empregada na avaliação da resposta ao tratamento. Testes quantitativos, como o ensaio de DNA ramificado (bDNA – branched DNA) e a PCR quantitativa e em tempo real (real time PCR), são indicados para a determinação da carga viral, sendo importantes para avaliação do prognóstico e tratamento (genótipos 1 e 4) da doença (Poynard et al. 2003, Scott & Gretch 2007).

Devido à grande variabilidade genética do HCV e à conseqüente diferença de resposta ao tratamento, torna-se essencial a determinação dos seus genótipos para definição do esquema terapêutico (Cavalheiro 2007). A genotipagem do HCV pode ser feita pela análise de seqüências do genoma viral completo ou das regiões 5' NC, *core*, E1 ou NS5B, sendo que essa última é a mais indicada para estudos epidemiológicos. No entanto, outras metodologias são mais utilizadas, tais como: a hibridização reversa com sondas genótipo-específicas (LiPA - *line probe assay* - região 5' NC), análise do polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP - *restriction fragment length polymorphism* - 5' NC) e a amplificação genótipo-específico com iniciadores da região *core*. Esses ensaios podem identificar os seis genótipos e os principais subtipos do HCV (Erensoy 2001, Munoz 2002, Scott & Gretch 2007). Além disso, os genótipos podem ser determinados por análise sorológica (ELISA) pela detecção de anticorpos genótipo-específico (sorotipagem). Essa técnica permite a identificação dos seis genótipos, mas não dos subtipos do HCV (Pawlotsky 2003, Cavalheiro 2007).

Na infecção pelo HCV, a biópsia hepática é um procedimento de grande valor para confirmar o diagnóstico de hepatite crônica, avaliar o grau e o estadiamento da doença, além de excluir ou detectar a presença de outras patologias. A biópsia é recomendada nos casos com marcadores virais positivos para o HCV e aumentos de ALT, enquanto nos casos de níveis normais dessa enzima, aconselha-se o monitoramento constante com determinações de ALT a cada três meses (Dillon 2004, Dienstag & McHutchison 2006, Asselah et al. 2007).

1.5. Aspectos epidemiológicos da infecção pelo vírus da hepatite C

1.5.1. Transmissão do HCV

A transmissão do vírus ocorre principalmente pela via parenteral, entretanto, a transmissão pelas vias sexual e vertical, embora menos eficientes, podem ocorrer e contribuir, assim, na disseminação da infecção (Shepard et al. 2005, Alter 2007).

Antes da introdução da triagem sorológica para anti-HCV nos bancos de sangue, a hemotransfusão era considerada o principal mecanismo de transmissão do HCV (Shepard et al. 2005, Prati 2006, Alter 2007). Outros mecanismos de disseminação parenteral desse vírus são relatados, envolvendo instrumentos contaminados utilizados na administração de medicamentos injetáveis (Souto et al. 2003, Shepard et al. 2005), no tratamento hemodialítico (Gomes et al. 2006, Santos & Souto 2007, Freitas et al. 2008), em cirurgias, no tratamento odontológico, na tatuagem, no *piercing*, em acupuntura e manicure (Yen et al. 2003, Goldberg & Anderson 2004, Alter 2007), além da exposição acidental de profissionais da saúde (Lopes et al. 2002, Bellissimo-Rodrigues et al. 2006, Ciorlia & Zanetta 2007).

O compartilhamento de agulhas, seringas e outros equipamentos para uso de drogas ilícitas injetáveis constitui no principal meio de transmissão do HCV (Bastos et al. 2000, Lucidarme et al. 2004, Altaf et al. 2007). O uso compartilhado de equipamentos contaminados por fluídos nasais e/ou orais para uso de drogas inaladas também tem sido mencionado como possível modo de disseminação do HCV. Entretanto, não está bem estabelecido se essa via constitui um mecanismo independente de transmissão, ou se também é uma forma de transmissão veiculada pelo sangue decorrente da escarificação da mucosa nasal (Tortu et al. 2004, McMahon et al. 2004, Macías et al. 2008, Martinez & Talal 2008).

A transmissão sexual não é um mecanismo freqüente de disseminação do HCV. Contudo alguns fatores, como múltiplos parceiros sexuais, não uso de preservativos, história de doença sexualmente transmissível (DST), infecção pelo HIV (Rauch et al. 2005, Prado 2007), experiências sexuais traumáticas e homossexualismo masculino, estão associados à infecção por esse vírus (Van de Laar et al. 2007, Prado 2007). Por outro lado, o risco de transmissão do HCV pela via sexual é baixo em casais monogâmicos sem fatores de risco para doenças sexualmente transmissíveis (Vandelli et al. 2004, Tahan et al. 2005).

A transmissão perinatal do HCV ocorre em cerca de 5% dos casos e, o risco da criança se infectar é significativamente maior (20%) em casos de carga viral elevada e co-infecção materna com HIV (Roberts & Yeung 2002, Polis et al.

2007). O rompimento precoce de membranas uterinas também mostra-se associado à disseminação desse vírus (Mast et al. 2005, Boxall et al. 2007). Embora existam controvérsias, parece não haver associação entre o tipo de parto (vaginal ou cesariana), aleitamento materno e transmissão do HCV (Mast 2004, Oliveira 2007, Alter 2007).

Outras rotas de disseminação desse vírus também são mencionadas, como o contato familiar ou domiciliar com pessoas infectadas, possivelmente por compartilharem objetos cortantes de higiene pessoal, ou pela exposição de ferimentos abertos (Wasley & Alter 2000, Memon & Memon 2002, Mohamed et al. 2005).

1.5.2. Prevalência da hepatite C

A infecção pelo vírus da hepatite C tem distribuição geográfica variável e, segundo estimativa da Organização Mundial de Saúde, cerca de 2,2% da população mundial, o equivalente a 130 milhões de pessoas, estão infectadas por esse vírus. De acordo com a prevalência do HCV, as regiões são classificadas como de endemicidade alta, intermediária e baixa (Figura 7) (Global Burden of Hepatitis C Working Group 2004, Alter 2007).

Taxas elevadas de prevalência foram encontradas na África e Ásia, enquanto as menores nos países industrializados da América do Norte, Europa Ocidental e Austrália (Alter 2007). Dentre os países desenvolvidos mais populosos que apresentam taxas de prevalência relativamente baixas, encontram-se a Alemanha (0,6%), o Canadá (0,8%), a França (1,1%) e Austrália (1,1%). Entretanto índices mais elevados têm sido relatados nos Estados Unidos (1,8%), no Japão (1,5-2,3%) e na Itália (2,2%) (Shepard et al. 2005).

Nos países em desenvolvimento, taxas variáveis de prevalência foram mostradas. Índices de 3,2%, 0,9% e 2,1% foram verificados na China, Índia e Indonésia, respectivamente. Já no Paquistão, taxas variando de 2,4 a 6,5% foram estimadas (Shepard et al. 2005). A maior prevalência foi encontrada no Egito, atingindo de 15 a 20% (Alter 2007).

2006). Já na população geral, Focaccia et al. (1998), ao analisarem amostras sanguíneas de 1.059 indivíduos procedentes do município de São Paulo, mostraram uma prevalência para anti-HCV de 1,42%. Na Bahia, uma taxa de 0,4% foi observada em indivíduos de uma comunidade rural em Ipacaetá (Almeida et al. 2006) e de 1,5% em estudo populacional desenvolvido em Salvador (Zarife et al. 2006).

Com o objetivo de estimar a prevalência global das hepatites A, B e C, o Ministério da Saúde está realizando um inquérito nacional de base populacional nas capitais brasileiras. Os resultados preliminares indicam que a prevalência de anti-HCV varia de 0,9% a 1,9% na faixa etária compreendida entre 10 e 69 anos de idade (Ministério da Saúde 2008). Na região Centro-Oeste, esse inquérito mostra uma prevalência de 1,1% em indivíduos com idade entre 10-19 anos e, de 1,9% naqueles com idade superior a 19 anos (Turchi et al. 2007).

Ainda na Região Centro-Oeste, uma prevalência de 10,9% para anti-HCV foi verificada em indivíduos infectados pelo HIV no Estado de Mato Grosso (Mussi et al. 2007). Em Cuiabá-MT, uma prevalência de 0,4% foi estimada em puérperas (Orione et al. 2006) e de 1,4% em pacientes com diabetes tipo 2 (Da Costa et al. 2008). Por outro lado, taxas elevadas foram relatadas em ex-jogadores de futebol que injetavam estimulantes antes dos jogos (7,5%) (Souto et al. 2003) e em hemodialisados (16,9%) (Santos & Souto 2007). Em Campo Grande-MS, uma prevalência de 11% foi encontrada em pacientes em hemodiálise (Freitas et al. 2008). No Estado de Goiás, Carneiro et al. (2007) mostraram uma prevalência de 16,5% para infecção pelo HCV nessa população. Em Goiânia-GO, taxas de 0,7% a 63,3% foram verificadas (Barbosa et al. 2002, Lopes et al. 2002) em diferentes grupos populacionais (Quadro 1).

Quadro 1 – Estudos de prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C realizados em Goiânia-GO

| Referência | População | n | Prevalência (%) |
|----------------------|---|----------|------------------------|
| Martins et al. 1994 | Doadores de sangue | 2350 | 1,4 |
| Martins et al. 1995a | Meninos de/na rua | 1378 | 3,0/1,0 |
| Martins et al. 1995b | Gestantes | 1273 | 0,9 |
| Rosa et al. 1996 | Pacientes com hanseníase | 216 | 1,8 |
| Carneiro et al. 2001 | Pacientes em hemodiálise | 428 | 46,7 |
| Barbosa et al. 2002 | Hemofílicos | 90 | 63,3 |
| Lopes et al. 2002 | Profissionais de Hemodiálise | 152 | 0,7 |
| Barbosa et al. 2005 | Pacientes com doenças reumáticas | 367 | 1,9 |
| Pereira et al. 2006 | Usuários anônimos de um centro de testagem para HIV | 592 | 2,5 |
| Botelho et al. 2008 | Transplantados renais | 255 | 15,3 |

1.5.3. Distribuição geográfica dos genótipos do vírus da hepatite C

Os genótipos e subtipos do HCV têm distribuição geográfica variável (Sy & Jamal 2006). Os genótipos 1, 2 e 3 são amplamente disseminados em todo o mundo. Quanto aos seus subtipos, nos Estados Unidos e Europa, predominam 1a

e 1b. No Japão, o subtipo 1b é o mais freqüente. Já o subtipo 3a é encontrado principalmente em usuários de drogas injetáveis nos Estados Unidos e Europa. Por outro lado, o genótipo 4 é prevalente no norte da África e Oriente Médio e, os genótipos 5 e 6 são comuns na África do Sul e sudeste Asiático, respectivamente (Nakano et al. 2004, Simmonds et al. 2005).

No Brasil, os genótipos de 1 a 5 foram identificados em portadores crônicos do HCV (Campiotto et al. 2005). O genótipo 1 foi o mais prevalente, tanto em doadores de sangue (Martins et al. 1998, 2006, Amorim et al. 2004), como em portadores crônicos do HCV (Focaccia et al. 2004, Campiotto et al. 2005). Os genótipos 4 e 5 foram detectados somente na Região Sudeste (São Paulo) (Campiotto et al. 2005). Em relação aos subtipos, Martins et al. (1998) verificaram maior freqüência dos subtipos 1b e 3a na Região Nordeste (Natal); na Região Sudeste (Rio de Janeiro), dos subtipos 1b e 1a e, na Região Centro-Oeste (Goiânia), o subtipo 1a foi o mais encontrado, seguido por 3a, 1b e 2b.

Em estudo realizado por Martins et al. (2006), em doadores de sangue na Região Centro-Oeste, observou-se predomínio do genótipo 1, seguido dos genótipos 3 e 2. Em Mato Grosso do Sul, os subtipos 1a e 1b foram igualmente encontrados, seguidos pelo 3a. Já em Goiás, o subtipo mais prevalente foi 1a, seguido de 3a e 1b. Verificou-se também o predomínio do subtipo 1a, seguido pelos subtipos 1b e 3a em hemofílicos (Barbosa 1998), pacientes com doenças reumáticas (Barbosa et al. 2005), hemodialisados (Espírito-Santo et al. 2007) e transplantados renais (Botelho et al. 2008). Entretanto, em usuários de um centro de aconselhamento sobre HIV em Goiânia-GO, o subtipo 3a foi o mais prevalente (Pereira et al. 2006).

1.6. Prevenção e controle da infecção pelo HCV

O fato de não existir uma vacina disponível contra a hepatite C, a pouca eficácia do tratamento existente até o momento, somado à falta de uma profilaxia pós-exposição, reforça o importante papel das medidas preventivas no controle dessa infecção (CDC 2006, Bruguera 2007).

As estratégias de prevenção e controle da hepatite C requerem a implementação de medidas de prevenção primária e secundária. A prevenção primária tem como finalidade identificar os indivíduos com fatores de risco para infecção pelo HCV, a realização de testes laboratoriais e o aconselhamento dos mesmos sobre as formas de transmissão e prevenção desse vírus. Já a prevenção secundária, tem como objetivo evitar a progressão da doença em pessoas já infectadas. Essas medidas devem ser dirigidas à população geral e, especialmente, aos indivíduos com alto risco de infecção pelo HCV (Alter 2002, Kew et al. 2004, CDC 2006).

A implantação da triagem sorológica para o marcador anti-HCV em bancos de sangue diminuiu substancialmente o risco de hepatite C pós-transfusional (Alter 2002, Bruguera 2007). No Brasil, o Ministério da Saúde instituiu a obrigatoriedade da triagem para anti-HCV pela Portaria nº 1376, de 19 de novembro de 1993 (Ministério da Saúde 1993). Outra medida, que tem se mostrado importante na redução da transmissão do HCV por transfusão, é a implantação do teste de amplificação e detecção do ácido nucléico viral (NAT) na triagem de doadores de sangue. Em muitos países desenvolvidos, essa medida entrou em vigor em 1999 (Saldanha et al. 1999, Prati 2006, Bruguera 2007). No Brasil, desde 2002, a implantação do NAT vem sendo tratada pelo Ministério da Saúde, sendo que a última Portaria sobre o assunto, a de nº 112, de janeiro de 2004, previa a implantação gradativa desse teste nos serviços de hemoterapia da rede pública (Ministério da Saúde 2004), mas até o momento não ocorreu.

1.7. Usuários de drogas ilícitas e a infecção pelo vírus da hepatite C

As substâncias ou drogas psicoativas têm acompanhado o homem desde épocas primitivas, quando seu uso restringia-se a rituais e/ou circunstâncias sociais determinadas, mas nas décadas de 80 e 90, em consequência da organização do narcotráfico, houve um aumento no consumo de cocaína, de anfetaminas, dentre outras drogas. Tanto o abuso, quanto a dependência dessas substâncias tornou-se um fato comum em nosso cotidiano, atingindo pessoas independentemente de sexo, idade ou condição sócio-econômica e cultural (Oliveira 2006). Um fator agravante é o início dessa prática cada vez mais

precoce, ocorrendo principalmente na adolescência, devido à maior vulnerabilidade psicológica e social do indivíduo nessa fase (Soldera et al. 2004, Pratta & Santos 2006, Costa et al. 2007).

Localizar e estimar a população de usuários de drogas é tarefa difícil, devido ao caráter ilegal desse comportamento, bem como pela marginalização e estigmatização desses indivíduos (Graham 2001, Faria & Furegato 2005, March et al. 2006). Embora saiba que a prática de uso de drogas tenha se expandido nos últimos anos em todo o mundo, não se sabe ao certo o número de usuários existente. Estima-se que 208 milhões de pessoas, cerca de 5% da população mundial, fazem uso dessas substâncias (UNODC 2008). No Brasil, um levantamento domiciliar sobre o uso de drogas, envolvendo as 108 maiores cidades do País, mostrou que 22,8% da população já usaram drogas ilícitas, sendo que na Região Centro-Oeste, o índice foi de 17% (CEBRID 2005).

Existem diferenças regionais marcantes no Brasil, quanto ao poder aquisitivo da população, acesso à saúde, nível de educação e peculiaridades culturais, que se refletem no cenário do consumo das drogas psicotrópicas. A partir da década de 90, derivados da coca começaram a ganhar a preferência em algumas cidades brasileiras, como o *crack* (cristais fumados em cachimbo) em São Paulo e, a *merla* (espécie de pasta também fumada) em Brasília, aumentando ainda mais os problemas de saúde. Ainda nessa década, também cresceu o número de usuários de maconha no País. Apesar do pouco destaque dado na imprensa ao consumo de inalantes (solventes, cola de sapateiro e lança-perfume), ele é comum entre os jovens brasileiros (Noto e Formigoni 2002).

Os usuários de drogas ilícitas apresentam risco aumentado de adquirir a infecção pelo HCV e, a eficiência de sua transmissão varia de acordo com os comportamentos de risco por eles adotados, tais como: a via e a duração de uso de drogas, compartilhamento de seringas, agulhas, canudo intranasal e outros equipamentos contaminados, bem como práticas sexuais desprotegidas (Shirin et al. 2000, Des Jarlais et al. 2003, Scheinmann et al. 2007, Macías et al. 2008). Além disso, a falta de informação dos usuários a respeito da hepatite C, sobretudo sobre os mecanismos de transmissão do vírus, pode contribuir para a

sua disseminação (Heimer et al. 2002, Carey et al. 2005, Gyarmathy et al. 2006, Cox et al. 2008).

Estudos em usuários de drogas ilícitas institucionalizados ou em centros de tratamento, incluindo usuários injetáveis e não injetáveis, mostraram taxas de prevalência que variam de 1,0% a 74,2% (Quadro 2).

Quadro 2 – Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C em usuários de drogas (UD) ilícitas institucionalizados ou em centros de tratamento

| Referência | Local | População (n) | | | Prevalência global (%) |
|-------------------------------|-----------------------|---------------|-----|------|------------------------|
| | | Total | UDI | UDNI | |
| Bastos et al. 2000 | Rio de Janeiro/Brasil | 185 | 24 | 161 | 5,8 |
| Edeh & Spalding 2000 | Brighton/Inglaterra | 86 | - | - | 55,8 |
| Hwang et al. 2000 | Texas/EUA | 407 | 185 | 222 | 35,1 |
| Shirin et al. 2000 | Bangladesh/Ásia | 266 | 129 | 137 | 15,0 |
| Turchi 2000 | São Paulo/Brasil | 839 | 150 | 689 | 14,5 |
| Carvalho et al. 2003 | São Paulo/Brasil | 83 | 8 | 75 | 6,0 |
| Quaglio et al. 2003 | Itália/Europa | 1095 | 965 | 130 | 74,2 |
| Galperim et al. 2004 | Porto Alegre/Brasil | 60 | 16 | 44 | 25,0 |
| Jittiwutikarn et al. 2006 | Tailândia/Ásia | 1859 | 508 | 1351 | 27,0 |
| Monsalve-Castilho et al. 2007 | Maracaibo/Venezuela | 100 | - | - | 1,0 |

UDI = usuários de drogas injetáveis UDNI= usuários de drogas não injetáveis

O uso de drogas injetáveis tem papel importante na epidemiologia da hepatite C. Investigações têm mostrado o uso de seringas e agulhas contaminadas como principal fator de risco para essa infecção (Thorpe et al. 2002, Lucidarme et al. 2004, Shapatava et al. 2006, Caiaffa et al. 2006). Assim, taxas elevadas de prevalência para hepatite C têm sido observadas em estudos conduzidos apenas em usuários de drogas injetáveis (UDI) (De Carvalho et al.

1996, Oliveira et al. 1999, Murril et al. 2002, Reyes et al. 2006, Aceijas et al. 2007, Jindal et al. 2008, Lee et al. 2008). No Brasil, taxas variando de 16,8% a 88,0% foram verificadas nesses usuários (Galperim et al. 2004, Oliveira et al. 2006).

Os usuários de drogas não injetáveis (UDNI) também apresentam risco aumentado em adquirir a infecção causada pelo HCV, quando comparado à população geral, seja pelo compartilhamento de instrumentos contaminados com sangue para uso de droga intranasal, ou pela maior vulnerabilidade a outros comportamentos de risco (Tortu et al. 2004, McMahon et al. 2004, Macías et al. 2008). Prevalência variando de 2,4% (Denis et al. 2000) a 43,1% (Fischer et al. 2008) foi encontrada nessa população. No Brasil, taxas variando de 2,0% a 2,5% foram estimadas em UDNI (Bastos et al. 2000, Galperim et al. 2004, Nunes et al. 2007).

Alguns autores relataram freqüências elevadas dos genótipos 1 (subtipo 1a) e 3 (subtipo 3a) em usuários de drogas ilícitas (Bourlière et al. 2002, Aitken et al. 2004, Mathei et al. 2005, Jittiwutikarn et al. 2006). No entanto, outros reportaram a predominância de genótipos/subtipos distintos nessa população (Krekulova et al. 2001, Hansurabhanon et al. 2002, Van Asten et al. 2004). Estudos realizados na França, por Morice et al. (2001), e na Espanha, por Fernández-Arcás et al. (2006), encontraram o genótipo 4 como o mais prevalente. Assim sendo, parece não existir associação entre o uso de drogas ilícitas e genótipo do HCV, mas sim a propagação do genótipo/subtipo circulante, facilitada pelo compartilhamento de equipamentos para o consumo de drogas e, em menor grau, por práticas sexuais de risco (Van Asten et al. 2004).

O uso de drogas ilícitas não é uma contra-indicação para o tratamento da hepatite C, mas é importante avaliar previamente os seus riscos e benefícios, bem como possibilidade de adesão desses indivíduos à terapia antiviral. Assim sendo, a mesma só deve ser iniciada quando houver uma situação clínica e social adequada e, não está indicada em usuários com patologias psiquiátricas, pelo risco de desencadear ou agravar suas manifestações (Edlin et al. 2005, Kresina et al. 2005, Sylvestre 2006, Grebely et al. 2008).

A prevenção da transmissão da hepatite C em usuários de drogas ilícitas constitui um grande desafio para a saúde pública. Nesse sentido, a política de redução de danos tem desenvolvido ações importantes, com o objetivo de minimizar as conseqüências advindas pelo uso e abuso de drogas ilícitas, tanto para esses indivíduos quanto para a sociedade. Essa estratégia de saúde pública vem sendo utilizada para a prevenção da infecção pelo HCV e de outras doenças infecciosas na população de usuários de drogas (Queiroz 2001).

Embora a prática de redução de danos já tivesse sua importância reconhecida internacionalmente, no Brasil, foram inúmeras as resistências políticas para a implementação da mesma. Como iniciativa pioneira, destaca-se a implantação do projeto em Salvador, em 1995 (Noto & Galduróz 1999, Nardi & Rigoni 2005) e, hoje existem diversos Programas de Redução de Danos (PRD) no País. O Ministério da Saúde lançou em julho de 2005 as Portarias nº 1.028 e 1.059, que regulamentam as ações que visam redução de danos e destinam incentivos financeiros para o desenvolvimento das mesmas em Centros de Atenção Psicossocial para Álcool e outras Drogas (CAPS ad), respectivamente (Ministério da Saúde 2005).

1.8. Justificativa

A utilização de drogas ilícitas constitui um problema de saúde pública, tanto nos países desenvolvidos, como naqueles em desenvolvimento. O consumo das mesmas não atinge de maneira uniforme toda a população, sua distribuição é distinta nas diferentes regiões e suas conseqüências geram considerável prejuízo mundialmente (Chavez et al. 2005, UNODC 2008).

No Brasil, tem aumentado consideravelmente o consumo dessas substâncias nas últimas duas décadas, tornando-se cada vez mais precoce entre adolescentes e crianças (Galduróz 2001, Guindalini et al. 2006). Acredita-se que esse aumento esteja relacionado à posição geográfica que o País ocupa na rota do tráfico de drogas dos países produtores, como a Bolívia e Colômbia, para os países consumidores da Europa e América do Norte (Mesquita & Seibel 2000, UNODC 2008).

O uso indevido de substâncias psicoativas favorece a adoção de comportamentos de risco, como compartilhamento de seringas/agulhas e outros equipamentos contaminados, além de práticas sexuais desprotegidas. Assim, taxas elevadas de prevalência da infecção pelo HCV têm sido observadas em usuários de drogas, tornando-os importantes reservatórios e disseminadores dessa infecção na comunidade onde estão inseridos (Shirin et al. 2000, Galperim et al. 2004, Jittiwutikarn et al. 2006).

Os estudos epidemiológicos e moleculares constituem importantes instrumentos para o conhecimento de agravos à população, dando subsídios para as políticas públicas no planejamento das medidas de prevenção, controle e tratamento, além dos cuidados aos indivíduos. Assim, a investigação da infecção pelo vírus da hepatite C em usuários de drogas é importante para o melhor entendimento da participação desse grupo na disseminação do HCV, bem como para a elaboração de medidas preventivas específicas.

No Brasil, ainda são poucos os estudos sobre a infecção pelo HCV em usuários de drogas ilícitas, sendo esta a primeira investigação epidemiológica e molecular realizada nessa população em Campo Grande-MS e Goiânia-GO, Brasil Central. Assim sendo, as informações obtidas neste trabalho poderão servir para subsidiar a elaboração de novas estratégias de prevenção e controle da hepatite C em usuários de drogas, bem como para adequar aquelas já existentes, contribuindo assim, para melhorar a qualidade de vida dessa população.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Investigar o perfil soropidemiológico e molecular da infecção pelo vírus da hepatite C em usuários de drogas ilícitas em centros de tratamento de uso de drogas no Brasil Central.

2.2. Objetivos específicos

- Estimar a prevalência global do marcador anti-HCV em usuários de drogas ilícitas em centros de tratamento em Campo Grande-MS e Goiânia-GO;
- Verificar o conhecimento da população do estudo sobre as formas de transmissão do HCV;
- Analisar os fatores de risco associados a essa infecção na população estudada;
- Identificar os genótipos e subtipos virais circulantes em usuários de drogas ilícitas em centros de tratamento no Brasil Central.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. População estudada

Estudo observacional, analítico, de corte transversal conduzido em UD em todos os 26 centros de tratamento de uso de drogas, situados em Campo Grande-MS (n = 8) e Goiânia-GO (n = 18), no período de agosto de 2005 a novembro de 2006. A população foi constituída por todos os 691 usuários de drogas ilícitas institucionalizados, sendo 102 injetáveis e 589 não injetáveis. Os indivíduos foram esclarecidos sobre os objetivos e procedimentos do estudo, sendo convidados a participar da presente investigação, conforme os seguintes critérios de inclusão: idade igual ou superior a 18 anos, ter usado drogas ilícitas injetáveis e/ou não injetáveis, estar vinculado a algum dos centros de tratamento. Foram considerados UDI indivíduos que referiram uso de drogas ilícitas por via endovenosa e, usuários de drogas não injetáveis aqueles que nunca utilizaram drogas ilícitas por via endovenosa. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Materno Infantil (CEP-HMI nº 004/05), em Goiânia-GO.

3.2. Entrevista e coleta de sangue

Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, todos os indivíduos foram entrevistados utilizando-se um questionário padronizado sobre características sócio-demográficas (idade, sexo, estado civil, cor/raça, escolaridade e renda familiar); fatores de risco associados à infecção pelo HCV (via, tipo e tempo de uso de drogas, história de transfusão de sangue/ano da primeira transfusão, tatuagem/*piercing*, acupuntura, uso de preservativo, número de parceiros sexuais, parceiro UDI, história de doença sexualmente transmissível - DST e antecedente de prisão) e conhecimento das formas de transmissão da infecção pelo HCV (contato com sangue infectado, compartilhamento de agulhas/seringas, transfusão de sangue, tatuagem e/ou *piercing*, compartilhamento de objetos cortantes de higiene pessoal, relação sexual, da mãe para o filho e por meio de alimentos e utensílios domésticos, como pratos,

talheres e copos, além de outras formas, tais como: sentar perto, abraçar, apertar a mão e conviver no mesmo domicílio).

Após a realização das entrevistas, foram coletados 10 ml de sangue de cada usuário. As amostras obtidas foram transferidas para os tubos de ensaio identificados com os mesmos números dos questionários utilizados nas entrevistas. As amostras coletadas em Campo Grande foram transportadas para o Laboratório de Imunologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), onde os soros foram separados e, posteriormente foram estocados, junto com os obtidos em Goiânia, no Laboratório de Virologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás. Os soros foram estocados a -20°C (alíquota para análise sorológica) e -70°C (alíquota para análise molecular) até a realização dos ensaios. Os testes sorológicos e moleculares foram realizados no Laboratório de Virologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, exceto a reação de seqüenciamento da região NS5B (Laboratório de Hepatites Virais, Fundação Oswaldo Cruz/RJ).

3.3. Testes sorológicos

3.3.1. Detecção do marcador anti-HCV

ELISA - Os soros obtidos (n= 691) foram testados para detecção de anticorpos anti-HCV empregando-se reagentes comerciais (Hepanostika anti-HCV Ultra, Biomedical-China). As amostras de soro juntamente com os controles positivos e negativos foram incubados em placa previamente sensibilizada com os antígenos recombinantes das regiões *core*, NS3, NS4 e NS5 do HCV. Após 60 minutos de incubação a 37°C , a placa foi lavada com o tampão fosfato por seis vezes. Em seguida, foi adicionado o conjugado (anti-imunoglobulina humana marcada com peroxidase) e nova incubação realizada por mais 30 minutos. Após segunda lavagem, procedeu-se a adição do substrato da enzima (peróxido de uréia) e da solução cromógena (tetrametilbenzina – TMB), incubando-se por 30 minutos. A seguir, a reação foi interrompida pela adição de ácido sulfúrico a 1N e a leitura espectrofotométrica realizada em leitora de microplaca com uso de filtro simples

(450 nm). O valor do *cut-off* foi obtido pela fórmula: $0,27 \times CPx$, onde “CPx” é igual ao valor médio das absorvâncias dos controles positivos. Assim, foram consideradas amostras positivas, aquelas que apresentaram absorvância maior ou igual ao valor do *cut-off*.

Immunoblot – As amostras reagentes ao anti-HCV foram testadas por *immunoblot* (Bioblot HCV, Biokit, Espanha). Essas amostras assim como os controles positivo e negativo foram incubados individualmente junto a tiras de nitrocelulose contendo as seguintes proteínas recombinantes do HCV: *core*, NS3, NS4 e NS5. Posteriormente, após a lavagem das fitas, adicionou-se o conjugado (anticorpos anti-imunoglobulina humana associados à fosfatase alcalina). Novos processos de incubação e lavagem foram realizados. A seguir foi adicionado o substrato (bromo-cloro-indol-fosfato e nitroazul de tetrazolio/BICP) e, após 15 minutos de incubação, o mesmo foi aspirado. As fitas foram lavadas com água destilada e colocadas em papel branco absorvente para análise. Os resultados foram avaliados visualmente, comparando-se a intensidade da cor das bandas correspondentes aos diferentes antígenos com as linhas controles (+1 a +3) e ao número de bandas reagentes, sendo considerado positivo (reatividade com dois ou mais antígenos), indeterminado (reatividade com um único antígeno) ou negativo (ausência de reatividade).

3.3.2. Detecção do marcador anti-HBc

A detecção do marcador anti-HBc total foi realizada nas 691 amostras com reagentes comerciais (Hepanostika anti-HBc Uni-Form, Biomérieux-Holanda). O princípio da reação é baseado em inibição competitiva. Em placa revestida com antígeno *core* do vírus da hepatite B (HBcAg), as amostras e os controles negativos e positivos foram incubados juntamente com o conjugado (anticorpos anti-HBc humano ligado à peroxidase) durante 90 minutos a 37°C. Em seguida, a placa foi lavada com o tampão fosfato e, a solução substrato/cromógeno (tetrametilbenzidina/peróxido de uréia) adicionada, incubando-se por 30 minutos. Finalmente, a reação foi interrompida com ácido sulfúrico a 1N e a leitura espectrofotométrica realizada em leitora de microplaca com uso de filtro simples (450 nm). O valor do *cut-off* foi obtido pela fórmula: $0,25 (CNx + 3CPx)$, onde

“CNx” é igual ao valor médio das absorvâncias dos controles negativos e “CPx” ao dos controles positivos. Assim, foram consideradas amostras positivas, aquelas que apresentaram absorvância menor ou igual ao valor do *cut-off*.

3.4. Testes moleculares

3.4.1. Detecção do RNA-HCV

As amostras anti-HCV reagentes foram testadas para detecção do RNA viral pela RT-PCR, conforme os procedimentos do kit Versant, HCV Genotype Amplification – LiPA, com modificações. O RNA foi extraído utilizando 150 µl de trizol, aos quais foram adicionados 50 µl de soro concentrado a partir de 200 µl de cada amostra previamente centrifugada em 16000 rpm por 90 minutos. Após homogeneização, acrescentou-se 40 µl de clorofórmio para separação das fases. Novo processo de homogeneização foi realizado, seguido de incubação e centrifugação (12000 rpm). Em seguida, a fase incolor, menos densa foi transferida para tubos contendo 20 µl de dextran (1µg/µl) e 100 µl de isopropanol. Após centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e adicionado 200 µl de etanol, com a finalidade de purificação e formação do sedimento (*pellet*). Novamente o sobrenadante foi descartado, e os tubos cuidadosamente secos com auxílio de uma bomba de vácuo. O RNA obtido foi ressuspenso em 12 µl de água tratada com dietilpirocarbonato (inativador da ribonuclease).

A transcrição reversa foi realizada com o iniciador randômico (Invitrogen), 200 U de transcriptase reversa do vírus da leucemia de Moloney (Invitrogen), 0,2 mM de cada dNTP (Armeshan, Bioscience), em um volume final de 24 µl (12 µl de RNA + 12 µl de mistura da TR) a 42°C, durante um período de 90 minutos.

Aproximadamente 8 µl do cDNA foram amplificados por *nested* PCR com iniciadores específicos para a região 5'NC. Na primeira PCR, foram utilizados iniciadores externos [(CACTCCCCTGTGAGGAACTACTGTC) homólogo à posição -305 e (ATGGTGCACGGTCTACGAAGACCTCC) homólogo à posição 2]. A PCR foi realizada num volume final de 50 µl, na presença de 0,2 mM de cada dNTP, 3 mM de MgCl₂ e 1 U de enzima Taq DNA polimerase (Invitrogen). Após

este preparo, a reação foi colocada no termociclador, onde o DNA foi desnaturado por aquecimento a 94°C por dois minutos, amplificado durante 35 ciclos a 94°C por 15 segundos, a 50°C por 45 segundos e a 72°C por um minuto, seguido por um alongamento de sete minutos a 72°C.

Após a realização da primeira PCR, 2 µl do produto obtido foram novamente amplificados utilizando iniciadores internos [(TTCACGCAGAAAGCGTCTAGCC) na posição -279 e (GGGCACTCGCAAGCACCCCTATCAGG) na posição -26], nas mesmas condições descritas acima, exceto pelo aumento da concentração do MgCl₂ para 5 mM, segundo Ginabreda et al. (1997). Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% contendo brometo de etídeo e, visualizados sob luz ultravioleta em um transiluminador.

Para evitar contaminação, a extração e transcrição do RNA, a preparação dos reagentes pré-PCR, amplificação do DNA e a eletroforese em gel dos produtos da PCR foram realizadas em salas separadas.

3.4.2. Genotipagem do HCV

3.4.2.1. Genotipagem por hibridização reversa (LiPA)

As amostras RNA-HCV positivas foram genotipadas pelo método *line probe assay* - LiPA (Versant HCV Genotype Assay, Innogenetics, Bélgica). As seqüências genômicas de cDNA foram amplificadas novamente pela PCR com iniciadores biotinilados complementares à região 5' NC do genoma do HCV. Os produtos biotinilados da PCR foram submetidos a hibridização reversa com sondas genótipo/subtipos específicas, previamente imobilizadas em linhas paralelas nas tiras da membrana de nitrocelulose. Após a hibridização, foi adicionada uma solução de estreptavidina marcada com fosfatase alcalina que se liga ao híbrido biotinilado formado anteriormente. A revelação desse método consiste no desenvolvimento de cor púrpura nas amostras positivas, após a adição do substrato (bromo-cloro-indol-fosfato e nitro azul tetrazolio). A reatividade dos fragmentos amplificados em uma ou mais linhas sobre as tiras

permite o reconhecimento dos seguintes genótipos/subtipos do HCV: 1a, 1b, 1, 2a/2c, 2b, 3a, 3b/3c, 3, 4a, 4b, 4c/4d, 4e, 4f, 4h, 4, 5a e 6a (Stuyver et al. 1996).

3.4.3. Seqüenciamento da Região NS5B

3.4.3.1. Amplificação das amostras para a região NS5B

A amplificação por *nested* PCR para a região NS5B foi realizada conforme Sandres-Sauné et al. (2003). Na primeira PCR, foram utilizados 8 µl do cDNA e iniciadores externos *sense* (5'-TATGAYACCCGCTGYTTTGACTC-3') na posição 8256-8278 e *antisense* (5'- GCNGARTAYCTVGTGCATAGCCTC-3') na posição 8622-8644. A PCR foi realizada num volume final de 50 µl, na presença de 0,2 mM de cada dNTP, 3 mM de MgCl₂ e 1 U de enzima Taq DNA polimerase (Invitrogen). A reação foi incubada a 50°C por 30 minutos, seguido de 5 ciclos de 93°C por 30 segundos, 60°C por 45 minutos e 72°C por 1 minuto, e amplificado durante 35 ciclos a 93°C por 30 segundos, 60°C com diminuição de - 0,3°C entre cada ciclo e 72°C por 1 minuto. Finalizando, com alongamento a 72°C por 5 minutos.

A segunda amplificação (PCR-2) foi realizada com 2 µl do produto obtido da PCR-1, o qual foi novamente amplificado com iniciadores internos *sense* (5'-TATGAYACCCGCTGYTTTGACTC-3') na posição 8256-8278 e *antisense* (5'-GCTAGTCATAGCCTCCGT-3') na posição 8619-8636, em um volume total de 100 µl. Após a incubação a 95°C por 5 minutos, o DNA foi amplificado durante 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos. Finalizando, com alongamento a 72°C por 10 minutos. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, contendo brometo de etídeo.

3.4.3.2. Purificação do DNA

O volume total (100 µl) do produto da PCR-2 foi submetido à eletroforese em gel de agarose *low melting* a 1%, contendo brometo de etídeo. Logo após, as bandas foram cortadas do gel, e colocadas em tubos *ependorfs* para serem

eluídas e purificadas, utilizando-se o Kit QIAquick Gel Extraction (QIAGEN, Germany). Para cada volume de gel (100 mg ~ 100 µl), adicionou-se três volumes do tampão QG QIAquick incubando-se em banho-maria a 50°C por 10 minutos, observando a completa solubilização do gel. Após eluição, o mesmo foi misturado com isopropanol na diluição 1:2. Transferiu-se o material para uma coluna, e centrifugou-se a 14000 rpm por 1 minuto. Para remoção de traços de agarose, adicionou na coluna 500 µl do tampão QG do QIAquick e centrifugou-se novamente a 14000 rpm por 1 minuto. A seguir, 750 µl do tampão PE do QIAquick foram colocados na coluna, centrifugando-se nas mesmas condições acima. A coluna foi transferida para um tubo coletor, seguida de centrifugação para remoção de resíduos de etanol. Finalmente, o DNA foi eluído, com adição de 50 µl de tampão (Tris-HCl mM, pH 8,5) no centro da coluna, posteriormente, procedeu-se nova centrifugação por 1 minuto a 13000 rpm.

A etapa seguinte consistiu na quantificação do DNA purificado. Para calcular o volume de DNA utilizado na técnica de seqüenciamento, o mesmo foi aplicado em gel de agarose 1,5%, e a intensidade da banda foi comparada com o padrão de peso molecular *Low DNA Mass Ladder* (Invitrogen).

3.4.3.3. Seqüenciamento e análise da região NS5B

A análise filogenética da região NS5B do genoma viral foi realizada para confirmação dos genótipos e subtipos do HCV. Os produtos da PCR foram submetidos a reação de seqüenciamento nucleotídico direto em ambas as direções usando o Kit BigDye Terminator versão 3.1 (Applied Biosystems). Para cada reação de seqüenciamento, empregou-se 5 µl do DNA na concentração de 30 a 40 ng/ml, 2 µl de tampão MgCl₂ 5X, 2 µl do mix de seqüenciamento (Big Dye) e 1 µl (3,2 pmol) dos iniciadores específicos para a região NS5B, “sense” (5'-TATGAYACCCGCTGYTTTACTC-3') na posição 8256- 8278 e “antisense” (5'-GCTAGTCATAGCCTCCGT-3') na posição 8619-8636 (Sandres-Sauné et al. 2003). As reações de seqüenciamento foram realizadas no termociclador da Perkin – Elmer 2400, de acordo com o seguinte programa: temperatura de 96°C por 2 minutos, seguido de 30 ciclos de 96°C por 10 segundos, 50°C por 5 segundos e 60°C por 4 minutos. Após a reação de seqüenciamento, o produto foi

precipitado utilizando-se 80 µl de isopropanol a 75%. A seguir, este material foi centrifugado a 14000 rpm por 30 minutos, o sobrenadante desprezado e, o sedimento lavado com isopropanol a 75% (250 µl) por 10 minutos centrifugando-se a 14000 rpm. O sobrenadante foi novamente desprezado e, o sedimento foi secado em termobloco ou centrifugado a vácuo (speed vac) a 60°C por 20 minutos. Em seguida, o DNA foi ressuspensão em 10 µl de formamida Hi-Di (Applied Biosystems) e colocado no seqüenciador ABI-3730.

As seqüências obtidas com 340 nucleotídeos (da posição 8279 a 8619 do genoma viral) foram alinhadas usando o programa *Clustal X* (Thompson et al. 1997). A árvore filogenética foi construída pelo método *Neighbor-Joining* do programa *Mega 2.1* (Kumar et al. 2001), de acordo com o modelo de análise Kimura-2 parâmetros. A robustez dos *clusters* da árvore foi avaliada pelo teste de *bootstrap* utilizando-se 1000 pseudo-réplicas. Os genótipos e subtipos das amostras do HCV foram determinados acrescentando-se, na análise filogenética, seqüências de referência representativas dos principais genótipos/subtipos do vírus disponíveis no *Genbank* (designadas na árvore filogenética pelo subtipo, seguido do número de acesso no *Genbank*).

3.5. Processamento e análise dos dados

A análise dos dados foi realizada utilizando-se o programa Epi Info versão 2000, desenvolvido pelo *Centers for Disease Control and Prevention*, Atlanta, GA. Prevalência e *odds ratio* (OR) foram calculados com intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Os fatores de risco com $p < 0,10$ pela análise univariada foram analisados posteriormente por regressão logística hierárquica, utilizando o programa SPSS versão 11,0 *for Windows*[®], para identificar as possíveis variáveis confundidoras. Os testes de χ^2 , χ^2 para tendência e exato de *Fisher* foram empregados quando apropriados. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

4. RESULTADOS

4.1. Características dos usuários de drogas

A Tabela 1 mostra as características sócio-demográficas dos 691 UD estudados. Observou-se que a média de idade desta população foi de 28,3 anos (desvio padrão \pm 9,0 anos). Houve predomínio de indivíduos do sexo masculino (88,3%), solteiros (64,3%), de cor branca (59,5%) e com baixa escolaridade (70,2%). Quanto à renda familiar, 46,5% dos usuários referiram receber mensalmente entre 2 e 5 salários mínimos, 43,5% um salário mínimo ou menos e 10% relataram renda igual ou superior a cinco salários mínimos.

Tabela 1 - Características sócio-demográficas dos usuários de drogas (UD) ilícitas no Brasil Central

| Características | n | % |
|-------------------------------------|-----|------|
| Média de idade (dp) 28,3 anos (9,0) | | |
| Sexo | | |
| Masculino | 610 | 88,3 |
| Feminino | 81 | 11,7 |
| Estado civil | | |
| Solteiro | 444 | 64,3 |
| Casado/amasiado | 161 | 23,3 |
| Separado/viúvo | 86 | 12,4 |
| Raça/Etnia | | |
| Branca | 411 | 59,5 |
| Não branca | 280 | 40,5 |
| Escolaridade | | |
| \leq 8 anos | 485 | 70,2 |
| 9-12 anos | 173 | 25,0 |
| $>$ 12 anos | 33 | 4,8 |
| Renda familiar | | |
| \leq um salário mínimo | 282 | 43,5 |
| 2 a 5 salários mínimos | 302 | 46,5 |
| \geq 5 salários mínimos | 65 | 10,0 |
| Sem informação | 42 | |

dp-desvio padrão

A média de idade de início do uso de drogas injetáveis e não injetáveis foi de 17,1 anos e de 16,2 anos, respectivamente. A maconha foi a droga mais consumida pela população estudada (82,9%), seguida por cocaína cheirada ou fumada na forma de pó (59,6%), cocaína fumada nas formas de pasta (merla) (52,8%) e pedra (*crack*) (37,9%). Ainda, 11,6% dos indivíduos referiram fazer uso da mesma na forma injetável. Além dessas, outras drogas como solventes (20,4%), LSD (8,4%), *ecstasy* (6,5%) e heroína (2,2%) foram relatadas pelos participantes deste estudo. Em relação à frequência do uso de drogas, a maioria dos entrevistados (63,1%) referiu consumo diariamente, 29,6% de uma a três vezes por semana e 7,3% de uma a três vezes por mês (Tabela 2).

Tabela 2 – Características referentes ao uso de drogas relatadas pela população estudada

| Características | n | % |
|---|-----------|------|
| Média de idade de início do uso de droga | | |
| Usuário injetável | 17,1 anos | |
| Usuário não injetável | 16,2 anos | |
| Drogas consumidas na vida | | |
| Maconha | 573 | 82,9 |
| Cocaína cheirada ou fumada (pó) | 412 | 59,6 |
| Cocaína fumada (merla) | 365 | 52,8 |
| Cocaína fumada (<i>crack</i>) | 262 | 37,9 |
| Cocaína injetável | 80 | 11,6 |
| Solventes | 141 | 20,4 |
| LSD | 58 | 8,4 |
| <i>Ecstasy</i> | 45 | 6,5 |
| Heroína | 15 | 2,2 |
| Frequência de uso de drogas | | |
| Diariamente | 426 | 63,1 |
| Uma a três vezes por semana | 200 | 29,6 |
| Uma a três vezes por mês | 49 | 7,3 |
| Sem informação | 16 | |

Na Tabela 3, observa-se que a população estudada apresentou conhecimento limitado sobre as formas de transmissão do HCV, tais como: contato com sangue (28,9%), compartilhamento de agulhas/seringas (30,5%), transfusão de sangue (29,7%), tatuagem e/ou *piercing* (24,0%), compartilhamento de objetos cortantes de higiene pessoal (20,8%), relação sexual (31,7%) e da mãe para o filho (20,0%). Ainda, alguns UD referiram erroneamente que esse vírus pode ser disseminado por alimentos (11,0%), utensílios domésticos (11,3%), além de outras formas (3,0%), tais como: sentar perto, abraçar, apertar a mão e conviver no mesmo domicílio.

Tabela 3 – Relato sobre o conhecimento das formas de transmissão do HCV em usuários de drogas (UD) ilícitas, Brasil Central

| Formas de transmissão | n | % |
|---|-----|------|
| Contato com sangue infectado | | |
| Sim | 200 | 28,9 |
| Não | 491 | 71,1 |
| Compartilhamento de agulhas/seringas | | |
| Sim | 211 | 30,5 |
| Não | 480 | 69,5 |
| Transfusão de sangue | | |
| Sim | 205 | 29,7 |
| Não | 486 | 70,3 |
| Tatuagem e/ou <i>piercing</i> | | |
| Sim | 166 | 24,0 |
| Não | 525 | 76,0 |
| Compartilhamento de objetos cortantes de higiene pessoal | | |
| Sim | 144 | 20,8 |
| Não | 547 | 79,2 |
| Relação sexual | | |
| Sim | 219 | 31,7 |
| Não | 472 | 68,3 |
| Da mãe para o filho | | |
| Sim | 139 | 20,0 |
| Não | 552 | 80,0 |
| Alimentos | | |
| Sim | 76 | 11,0 |
| Não | 615 | 89,0 |
| Utensílios domésticos | | |
| Sim | 78 | 11,3 |
| Não | 613 | 88,7 |
| Outras formas | | |
| Sim | 22 | 3,0 |
| Não | 669 | 97,0 |

4.2. Prevalência do marcador anti-HCV na população estudada

De 691 amostras de usuários de drogas ilícitas, o marcador anti-HCV foi detectado pelo ELISA em 49 (7,1%). Destas, 48 foram positivas pelo *immunoblot*, resultando em uma prevalência para este marcador de 6,9% (IC 95%: 5,2-9,2) (Tabela 4). A amostra que foi anti-HCV reagente pelo ELISA e negativa pelo *immunoblot* mostrou-se também como negativa para o RNA-HCV.

Tabela 4 – Prevalência do marcador anti-HCV em 691 usuários de drogas ilícitas, Brasil Central

| Anti-HCV | Positivo | | IC 95% |
|-------------------|----------|-----|---------|
| | n | % | |
| ELISA | 49 | 7,1 | 5,3-9,3 |
| <i>Immunoblot</i> | 48 | 6,9 | 5,2-9,2 |

IC - Intervalo de Confiança

A Figura 8 mostra a prevalência do marcador anti-HCV em diferentes faixas etárias. Observou-se que a mesma foi de 0,9% em usuários com idade igual ou inferior a 30 anos, sendo a positividade ascendente até a faixa etária de 41-45 anos, na qual a maior prevalência foi encontrada (27,9%). Verificou-se em seguida, um ligeiro declínio na positividade para anti-HCV em usuários com idade superior a 45 anos.

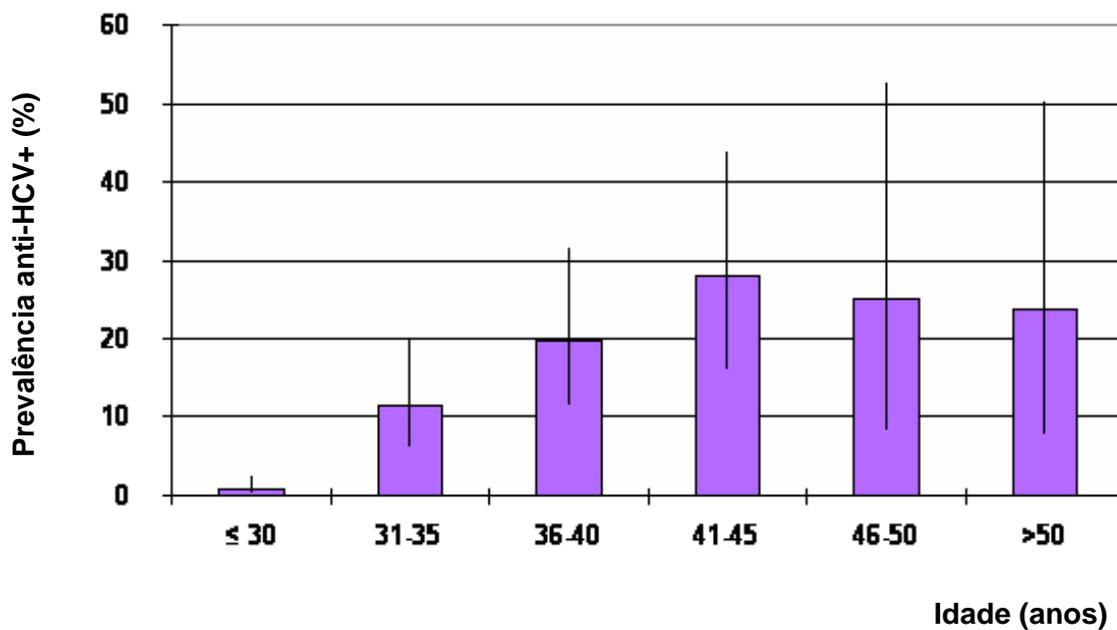


Figura 8 – Prevalência do marcador anti-HCV em usuários de drogas ilícitas de acordo com a idade

A prevalência do marcador anti-HCV de acordo com o tempo de uso de drogas está representada na Figura 9. Nos indivíduos que fizeram uso de drogas por 10 anos ou menos, a positividade foi de 1,5%, atingindo um índice de 41,3% naqueles que fizeram uso de drogas por mais que 25 anos ($p < 0,05$).

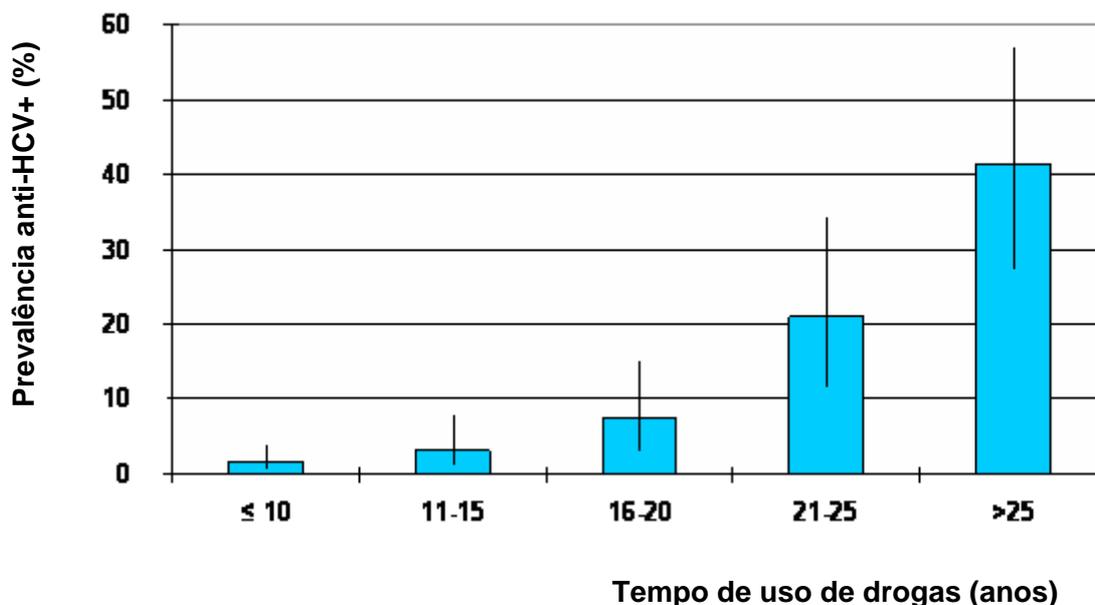


Figura 9 – Prevalência do marcador anti-HCV em usuários de drogas ilícitas de acordo com o tempo de uso de drogas

4.3. Fatores de risco associados à infecção pelo HCV

Na análise univariada, a infecção pelo HCV foi significativamente associada com idade, estado civil, renda familiar, via e tempo de uso de drogas, história de hemotransusão, parceiro usuário de droga injetável e história de doença sexualmente transmissível (Tabela 5).

Após análise multivariada (Tabela 6), as variáveis idade, via e tempo de uso de drogas, história de hemotransusão permaneceram associadas à infecção pelo HCV na população estudada. Assim, verificou-se que os usuários de drogas com idade superior a 40 anos tiveram uma chance 6,0 (IC 95%: 2,2-16,2) vezes maior de infecção pelo HCV em relação aos usuários com idade igual ou inferior a 40 anos. Os indivíduos com relato de drogas injetáveis tiveram chance 22,4 (IC 95%: 8,0-52,0) vezes maior para esta infecção quando comparados com aqueles que usaram drogas não injetáveis. Os participantes que fizeram uso de drogas por mais que 10 anos tiveram chance 4,9 (IC 95%: 1,5-15,8) vezes maior de positividade para anti-HCV em relação àqueles que usaram drogas por 10 anos

ou menos. Os usuários com história de hemotransfusão tiveram chance 1,7 (IC 95%: 0,7-3,9) vezes maior para aquisição da infecção pelo HCV do que os usuários que nunca foram transfundidos.

Tabela 5 – Fatores de risco associados à infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em usuários de drogas ilícitas, Brasil Central

| Fator de risco | Anti-HCV | | Odds ratio (IC 95%) ^a | p |
|------------------------------|-----------------------------|--------|----------------------------------|------|
| | Positivo/Total ^b | (%) | | |
| Idade | | | | |
| ≤ 40 anos | 28/615 | (4,6) | 1,0 | |
| > 40 anos | 20/76 | (26,3) | 7,5 (3,9-14,1) | 0,00 |
| Sexo | | | | |
| Feminino | 3/81 | (3,7) | 1,0 | |
| Masculino | 45/610 | (7,4) | 2,1 (0,6-6,8) | 0,22 |
| Estado civil | | | | |
| Solteiro | 20/444 | (4,5) | 1,0 | |
| Casado/amasiado | 17/161 | (10,6) | 2,5 (1,2-5,1) | 0,01 |
| Separado/viúvo | 11/86 | (12,8) | 3,1 (1,3-7,2) | 0,00 |
| Cor/raça | | | | |
| Branca | 34/411 | (8,3) | 1,0 | |
| Não branca | 14/280 | (5,0) | 0,6 (0,3-1,1) | 0,13 |
| Escolaridade | | | | |
| ≤ 8 anos | 27/485 | (5,6) | 1,0 | |
| 9-12 anos | 17/173 | (9,8) | 1,9 (0,9-3,6) | 0,08 |
| > 12 anos | 4/33 | (12,1) | 2,3 (0,6-7,7) | 0,12 |
| Renda Familiar | | | | |
| ≤ 1 salário mínimo | 16/282 | (5,7) | 1,0 | |
| 2 a 5 salários mínimos | 22/302 | (7,3) | 1,3 (0,6-2,7) | 0,49 |
| ≥ 5 salários mínimos | 9/65 | (13,8) | 2,7 (1,0-6,8) | 0,04 |
| Via de uso de drogas | | | | |
| Não injetável | 16/589 | (2,7) | 1,0 | |
| Injetável | 32/102 | (31,4) | 16,4 (8,5-31,3) | 0,00 |
| Tempo de uso de drogas | | | | |
| ≤ 10 anos | 5/330 | (1,5) | 1,0 | |
| > 10 anos | 43/350 | (12,3) | 9,1 (3,5-23,2) | 0,00 |
| História de transfusão | | | | |
| Não | 32/617 | (5,2) | 1,0 | |
| Sim | 14/63 | (22,2) | 5,2 (2,6-10,4) | 0,00 |
| Tatuagem/Piercing | | | | |
| Não | 27/411 | (6,6) | 1,0 | |
| Sim | 21/280 | (7,5) | 1,1 (0,6-2,2) | 0,75 |
| Acupuntura | | | | |
| Não | 44/652 | (6,7) | 1,0 | |
| Sim | 4/29 | (13,8) | 2,2 (0,7-6,6) | 0,28 |
| Uso de preservativo | | | | |
| Regular | 8/145 | (5,5) | 1,0 | |
| Irregular/nunca | 40/546 | (7,3) | 1,3 (0,6-3,0) | 0,56 |
| Parceiros sexuais | | | | |
| ≤ 10 | 18/332 | (5,4) | 1,0 | |
| > 10 | 30/331 | (9,1) | 1,7 (0,9-3,2) | 0,07 |
| Parceiro UDI ^c | | | | |
| Não | 28/488 | (5,7) | 1,0 | |
| Sim | 16/101 | (15,8) | 3,1 (1,6-6,0) | 0,00 |
| História de DST ^d | | | | |
| Não | 18/459 | (3,9) | 1,0 | |
| Sim | 30/205 | (14,6) | 4,2 (2,3-7,7) | 0,00 |
| Antecedente de prisão | | | | |
| Não | 12/250 | (4,8) | 1,0 | |
| Sim | 36/437 | (8,2) | 1,8 (0,9-3,5) | 0,09 |

^aIC = Intervalo de confiança; ^bO denominador reflete o número de usuários que responderam a questão; ^cUDI = usuário de droga injetável; ^dDST= doença sexualmente transmissível; ^eanti-HBc = anticorpo para o antígeno core do vírus da hepatite B.

Tabela 6 – Análise multivariada dos fatores de risco associados à infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em usuários de drogas ilícitas, Brasil Central

| Fatores de risco | Estimativa de risco (IC 95%) ^a | | p |
|------------------------|---|-----------------------|------|
| | Não ajustada | Ajustada ^b | |
| Idade | | | |
| ≤ 40 anos | 1,0 | 1,0 | |
| > 40 anos | 7,5 (3,9-14,1) | 6,0 (2,2-16,2) | 0,00 |
| Estado civil | | | |
| Solteiro | 1,0 | 1,0 | |
| Casado/amasiado | 2,5 (1,2-5,1) | 1,4 (0,5-3,7) | 0,48 |
| Separado/viúvo | 3,1 (1,3-7,2) | 0,5 (0,2-1,7) | 0,30 |
| Escolaridade | | | |
| ≤ 8 anos | 1,0 | 1,0 | |
| 9-12 anos | 1,9 (0,9-3,6) | 2,1 (0,9-5,2) | 0,10 |
| > 12 anos | 2,3 (0,6-7,7) | 0,7 (0,1-5,0) | 0,78 |
| Renda Familiar | | | |
| ≤ 1salário mínimo | 1,0 | 1,0 | |
| 2 a 5 salários mínimos | 1,3 (0,6-2,7) | 0,6 (0,2-1,9) | 0,39 |
| ≥ 5 salários mínimos | 2,7 (1,0-6,8) | 0,6 (0,1-2,1) | 0,39 |
| Via de uso de drogas | | | |
| Não injetável | 1,0 | 1,0 | |
| Injetável | 16,4 (8,5-31,3) | 22,4 (8,0-52,0) | 0,00 |
| Tempo de uso de drogas | | | |
| ≤ 10 anos | 1,0 | 1,0 | |
| > 10 anos | 9,1 (3,5-23,2) | 4,9 (1,5-15,8) | 0,00 |
| História de transfusão | | | |
| Não | 1,0 | 1,0 | |
| Sim | 5,2 (2,6-10,4) | 1,7 (0,7-3,9) | 0,02 |
| Parceiros sexuais | | | |
| ≤ 10 | 1,0 | 1,0 | |
| > 10 | 1,7 (0,9-3,2) | 1,7 (0,7-3,9) | 0,20 |
| Parceiro UDI | | | |
| Não | 1,0 | 1,0 | |
| Sim | 3,1 (1,6-6,0) | 0,6 (0,2-1,7) | 0,33 |
| História de DST | | | |
| Não | 1,0 | 1,0 | |
| Sim | 4,2 (2,3-7,7) | 1,3 (0,5-3,0) | 0,60 |
| Antecedente de prisão | | | |
| Não | 1,0 | 1,0 | |
| Sim | 1,8 (0,9-3,5) | 1,2 (0,5-3,0) | 0,63 |

^aIC = Intervalo de confiança; ^b Estimativa de risco ajustada por idade, sexo, estado civil, escolaridade, renda familiar, tempo e via de uso de droga, história de transfusão, número de parceiros sexuais, parceiro usuário de droga injetável (UDI), história de doença sexualmente transmissível (DST), antecedente de prisão e positividade para o anticorpo contra o antígeno core do vírus da hepatite B (anti-HBc).

4.4. Detecção do RNA viral e genotipagem do vírus da hepatite C

Das 48 amostras anti-HCV reagentes, 41 (85,4%) foram RNA-HCV positivas para a região 5' NC, as quais foram genotipadas pelo LiPA. Destas, 33 amostras (80,5%) foram do genótipo 1, sendo que os subtipos 1a e 1b representaram 63,4% e 17,1%, respectivamente. As demais amostras (19,5%) foram caracterizadas como do genótipo 3, subtipo 3a (Figura 10).

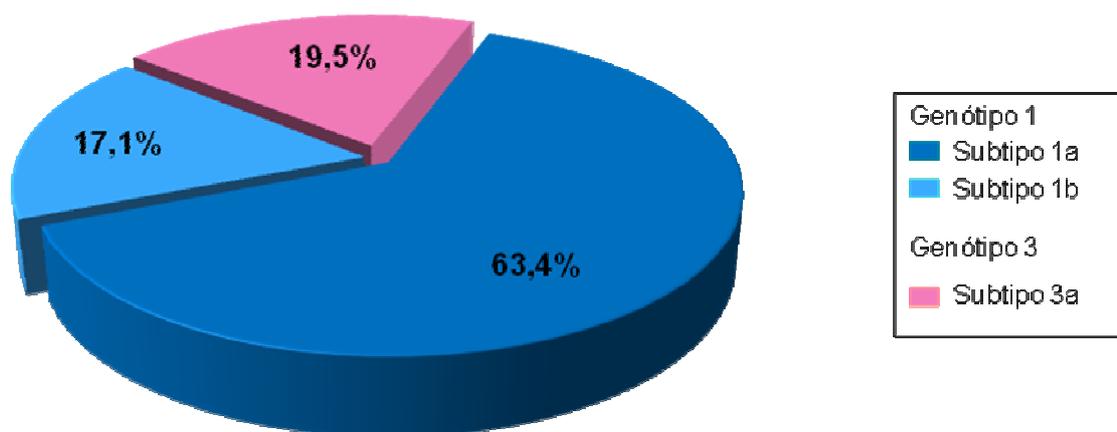


Figura 10 - Genótipos/subtipos do HCV em usuários de drogas ilícitas no Brasil Central

Das 41 amostras positivas para a região 5' NC, 25 (60,1%) foram amplificadas com iniciadores complementares à região NS5B e genotipadas por seqüenciamento direto. Destas, 17 (68%), 5 (20%) e 3 (12%) foram dos subtipos 1a, 3a e 1b, respectivamente (Figura 11).

Verificou-se que as duas técnicas utilizadas para genotipagem mostraram-se igualmente eficientes para determinar os genótipos e subtipos do HCV, uma vez que não houve discordância nos resultados das 25 amostras que foram genotipadas e subtipadas pelo LiPA e seqüenciamento da região NS5B.

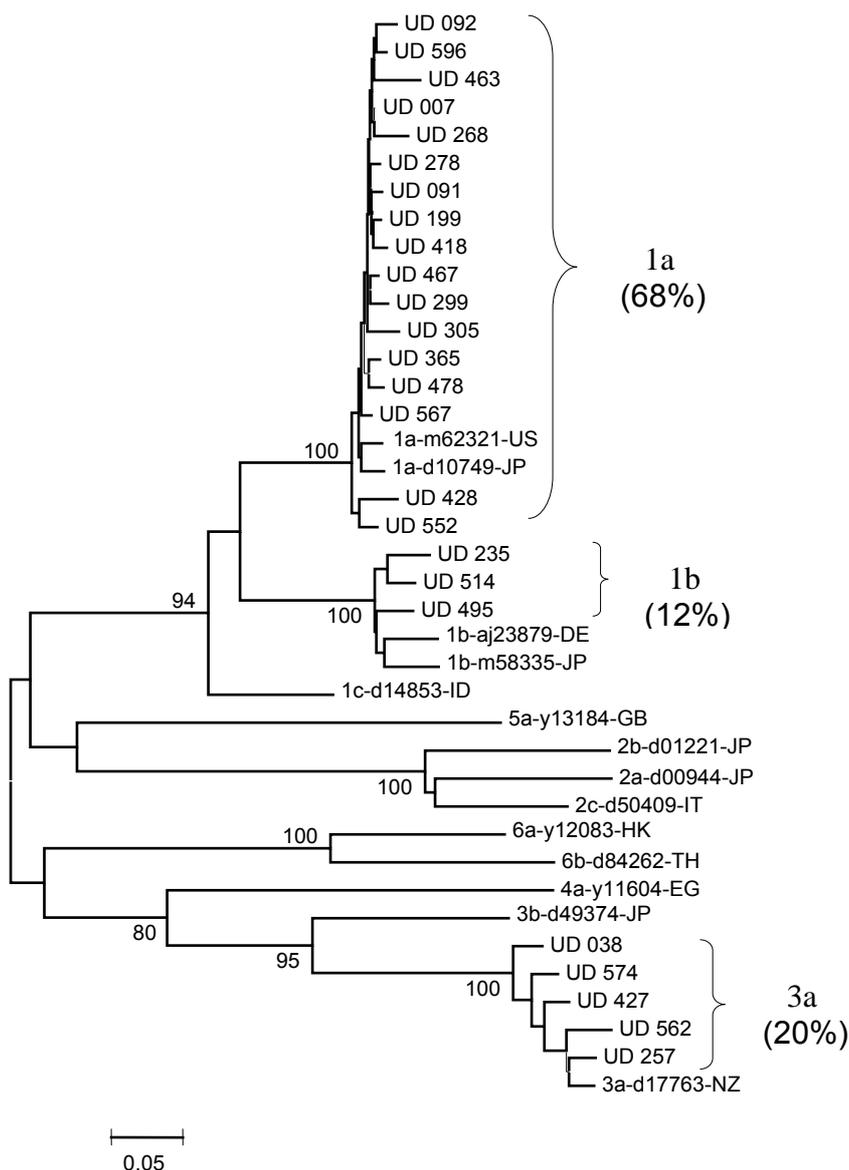


Figura 11 - Árvore filogenética da região NS5B, incluindo isolados de usuários de drogas do Brasil Central e seqüências do GenBank dos genótipos 1 a 6, representados pelos principais subtipos do vírus da hepatite C

As características dos 25 usuários de drogas, cujas amostras foram subtipadas como 1a, 1b e 3a por seqüenciamento direto da região NS5B, podem ser observadas na Tabela 7. Verificou-se que estes usuários estavam distribuídos em 13 centros de tratamento em Goiânia, e quase todos eram do sexo masculino, com idade entre 22 a 54 anos. A maioria relatou uso de drogas por via injetável e por mais de 10 anos. Observou-se, ainda, que cerca de um terço destes

indivíduos referiu ter recebido transfusão sanguínea e apresentou positividade para o marcador anti-HBc.

Tabela 7 – Características dos usuários de drogas ilícitas, cujas amostras foram subtipadas por seqüenciamento direto da região NS5B

| Amostra | Local (Centro) | Sexo | Idade (anos) | Usuário de droga | Tempo de uso de drogas (anos) | Transfusão de sangue | Anti-HBc | Genótipo/ Subtipo |
|---------|----------------|------|--------------|------------------|-------------------------------|----------------------|----------|-------------------|
| 007 | GO (01) | M | 42 | UDI | >10 | Sim | Neg | 1a |
| 091 | GO (03) | M | 46 | UDNI | >10 | Não | Neg | 1a |
| 092 | GO (03) | M | 37 | UDI | >10 | Não | Pos | 1a |
| 199 | GO (05) | M | 43 | UDI | >10 | Sim | Pos | 1a |
| 268 | GO (06) | F | 45 | UDNI | >10 | Sim | Pos | 1a |
| 278 | GO (07) | M | 27 | UDNI | >10 | Não | Neg | 1a |
| 299 | GO (07) | M | 40 | UDNI | >10 | Sim | Neg | 1a |
| 305 | GO (08) | M | 41 | UDNI | >10 | Não | Pos | 1a |
| 365 | GO (10) | M | 38 | UDI | >10 | Sim | Neg | 1a |
| 418 | GO (11) | M | 33 | UDI | ≤ 10 | Não | Neg | 1a |
| 428 | GO (12) | M | 27 | UDI | >10 | Não | Neg | 1a |
| 463 | GO (13) | M | 40 | UDNI | >10 | Não | Neg | 1a |
| 467 | GO (13) | M | 43 | UDI | ≤ 10 | Não | Pos | 1a |
| 478 | GO (13) | M | 54 | UDI | >10 | Não | Pos | 1a |
| 552 | GO (15) | M | 33 | UDI | >10 | Sim | Neg | 1a |
| 567 | GO (17) | M | 23 | UDI | ≤ 10 | Sim | Neg | 1a |
| 596 | GO (18) | M | 33 | UDI | >10 | Não | Neg | 1a |
| 235 | GO (06) | M | 41 | UDNI | >10 | Não | Neg | 1b |
| 495 | GO (13) | M | 22 | UDI | ≤ 10 | Não | Neg | 1b |
| 514 | GO (15) | M | 49 | UDI | >10 | Sim | Neg | 1b |
| 038 | GO (01) | M | 42 | UDI | >10 | Não | Neg | 3a |
| 257 | GO (06) | M | 42 | UDNI | >10 | Não | Neg | 3a |
| 427 | GO (12) | M | 51 | UDI | >10 | Não | Neg | 3a |
| 562 | GO (17) | M | 50 | UDI | >10 | Não | Pos | 3a |
| 574 | GO (18) | M | 39 | UDI | >10 | Sim | Neg | 3a |

GO = Goiânia; M = masculino; F = feminino; UDI = usuário de droga injetável; UDNI = usuário de droga não injetável; anti-HBc = anticorpo para o antígeno *core* do vírus da hepatite B; Neg = negativo; Pos = positivo.

5. DISCUSSÃO

Este foi o primeiro estudo epidemiológico e molecular da infecção pelo HCV em usuários de drogas ilícitas em Campo Grande-MS e Goiânia-GO. Embora o mesmo tenha sido conduzido em centros de tratamento para uso de drogas, não representando, portanto, toda a população de UD, as informações aqui obtidas são importantes no estabelecimento da situação de base para a elaboração de políticas e estratégias de redução de risco e danos relacionados ao uso de drogas ilícitas no Brasil Central.

Analisando o perfil sócio-demográfico da população estudada, observou-se que a mesma foi constituída principalmente de adultos jovens, do sexo masculino, brancos e solteiros. Estas características mostraram-se semelhantes às observadas em outros estudos realizados no Brasil em usuários de drogas ilícitas (Ferreira Filho et al. 2003, Galperim et al. 2004, Pechansky et al. 2004, Guindalini et al. 2006, Ribeiro et al. 2006, Jungerman & Laranjeira 2008).

Segundo alguns autores, o uso abusivo de drogas está relacionado às disfunções neuro-psiquiátricas, que podem levar ao baixo rendimento escolar (Lynskey & Hall 2000, Jungerman & Laranjeira 2008). Para Abramovay & Castro (2005), o consumo dessas substâncias impede que o indivíduo exerça atividades que dependam de atenção, compreensão e responsabilidade. Sanchez & Nappo (2002), em investigação qualitativa realizada com 31 usuários de crack em São Paulo, verificaram que mais da metade dos indivíduos maiores de 18 anos interromperam seus estudos no primeiro grau e, segundo os depoimentos dos entrevistados, a droga parece ter sido o motivo dessa interrupção. De fato, neste estudo, assim como em outros realizados com a população de usuários de drogas no Brasil (Soldara et al. 2004, Guindalini et al. 2006, Marchesini et al. 2007), observou-se baixa escolaridade dentre os participantes.

Em relação à renda familiar, verificou-se que 90% dos indivíduos estudados relataram ser a mesma inferior a cinco salários mínimos, o que pode refletir a composição da população deste estudo, isto é, a maioria de usuários de

drogas não-injetáveis. O nível sócio-econômico parece influenciar na via de utilização de drogas, já que as substâncias psicoativas de uso injetável apresentam maior custo, tanto no que diz respeito à própria droga, quanto aos equipamentos para aplicação da mesma (Pechansky et al. 2000).

No presente estudo, a média de idade de início do uso de drogas não injetáveis aos 16,2 anos e, injetáveis aos 17,1 anos, assim como o início precoce observado em outras investigações (Galduróz 2001, Tavares et al. 2001, 2004, Lucidarme et al. 2004, Altaf et al. 2007), evidencia a grande vulnerabilidade dos jovens para o uso das mesmas e, conseqüentemente, para a infecção causada pelo HCV. Ainda, quase a totalidade dos UDI relatou uso prévio de drogas não injetáveis (dados não apresentados), evidenciando, assim, a transição da via de administração de drogas nesse grupo, o que corrobora os resultados encontrados por outros autores (Dunn & Laranjeira 1999, Abramovay & Castro 2005, Oliveira et al. 2006). Esses achados reforçam a importância da implementação de medidas preventivas dirigidas aos usuários de drogas não injetáveis evitando a transição para o uso injetável, bem como, reduzir práticas de risco entre aqueles que já iniciaram o uso por essa via recentemente.

A droga consumida varia significativamente de região para região, e a escolha da mesma pode ser influenciada por fatores como maior disponibilidade no mercado, condições sócio-econômicas e culturais, grupo de inserção, via de uso, dentre outros (Caiaffa e Bastos 1998). Neste estudo, a principal droga consumida foi a maconha (82,9%), o que está em acordo com os resultados de outras investigações brasileiras (Carvalho et al. 2003, Soldera et al. 2004, Oliveira et al. 2006, Bastos et al. 2008). Além disso, o relatório da UNODC informa que, na América do Sul, houve um aumento substancial do consumo dessa droga no Brasil, e que esse fato provavelmente reflete a facilidade de obtenção da mesma advinda do Paraguai (UNODC 2008). Talvez por ser considerada por muitos jovens, e às vezes por seus familiares, uma droga “leve”, seja um dos motivos para essa preferência (Sanchez & Nappo 2002, Soldera et al. 2004). Entretanto, há evidências que o uso da mesma tem implicações para a saúde física e mental de seus usuários (Solowij et al. 2002, Jugerman & Laranjeira 2008).

A cocaína, enquanto uma das principais drogas consumidas no Brasil (Galduroz 2001, CEBRID 2005, UNODC 2008), foi a segunda droga mais usada na forma não injetável (pó, crack e/ou merla) pelos usuários deste estudo. Dentre os usuários injetáveis, essa droga foi a mais consumida (78,5%; 80/102). Esses achados corroboram os encontrados em outros estudos brasileiros (De Carvalho et al. 1996, Oliveira et al. 1999, Bastos et al. 2000, Pechansky et al. 2004, Oliveira et al. 2006). O uso de cocaína em ambas as formas diminui o juízo crítico dos indivíduos e, conseqüentemente, a capacidade de tomar decisões (Pechansky et al. 2000, 2001), favorecendo ao usuário dessa substância a participação em condutas ou situações que aumentam o risco de infecção e transmissão do HCV, como o compartilhamento de agulhas/seringas e outros equipamentos para uso da droga (Thorpe et al. 2002, Winslow et al. 2007, De P et al. 2008), bem como as relações sexuais desprotegidas (Santibanez et al. 2005, Ferreira et al. 2006, Neiagus et al. 2007, Xia et al. 2008).

A prevalência global de anti-HCV na população de usuários de drogas ilícitas foi de 6,9% (IC 95%: 5,2-9,2), sendo, portanto, mais elevada que às estimadas em doadores de sangue (1,4%; IC 95%: 1,0-2,0) (Martins et al. 1994), gestantes (0,9%; IC 95%: 0,5-1,6) (Martins et al. 1995a) e puérperas (0,4%; IC 95%: 0,1-0,8) (Orione et al. 2006), bem como no inquérito de base populacional em indivíduos com idade entre 10-19 anos (1,1%; IC 95%: 0,6-1,6) e em indivíduos com idade acima de 19 anos (1,9%; IC 95%: 1,4-2,7) (Turchi et al. 2007) na Região Centro-Oeste. Por outro lado, considerando estudos realizados em usuários de drogas ilícitas no Brasil, a prevalência aqui encontrada foi semelhante às reportadas por Bastos et al. (2000) no Rio de Janeiro (5,8%; IC95%: 1,7-7,1) e por Carvalho et al. (2003) em São Paulo (6%; IC 95%: 2,2-14,1). Entretanto, foi inferior às verificadas por Turchi (2000) também em São Paulo (14,5%; IC 95%: 12,3-17,1) e por Galperim et al. (2004) em Porto Alegre (25%; IC 95%: 15,1-38,1). Essa diferença talvez possa ser explicada pela maior participação de usuários de drogas injetáveis nas populações desses últimos estudos em relação aos primeiros (22-27% versus 10-15%). Além disso, os comportamentos de risco dos indivíduos que usam drogas ilícitas podem influenciar nas taxas de prevalência do HCV (Bastos et al. 2000, Thorpe et al. 2002, Quaglio et al. 2003, Neiagus et al. 2007, Aaron et al. 2008).

Os testes tipo *immunoblot* são importantes na confirmação da positividade para o marcador anti-HCV, especialmente em populações em baixo risco. Já em populações com elevada prevalência, a taxa esperada de confirmação por esses testes é acima de 90% (Barrera 2000, Erensoy 2001). Na presente investigação, das 49 amostras reagentes pelo ELISA, 48 foram positivas pelo *immunoblot*, resultando numa taxa de 98% de confirmação da positividade para anti-HCV. Assim sendo, este resultado está em acordo com o esperado e corrobora os dados verificados em outras investigações em grupos em risco, como usuários de drogas (Neaigus et al. 2007), hemodialisados (Carneiro et al. 2001, Freitas et al. 2008) e transplantados renais (Botelho et al. 2008).

A pesquisa do RNA viral é importante para a identificação dos indivíduos infectados, principalmente em pessoas com comportamentos de risco, como os usuários de drogas. Neste estudo, observou-se que, dos 48 UD anti-HCV reagentes, o RNA-HCV foi detectado em 41, resultando em um percentual de viremia de 85,4%, o que caracteriza os usuários de drogas como importantes portadores e potenciais disseminadores do HCV. Resultado este, semelhante aos encontrados em usuários de drogas ilícitas injetáveis por Oliveira et al. (1999), no Rio de Janeiro, e por Silva (2005), em Salvador.

Após análise multivariada, as variáveis idade superior a 40 anos, via e tempo de uso de drogas e história de hemotransfusão permaneceram associadas à infecção pelo HCV. Assim, usuários com idade superior a 40 anos tiveram 6,0 (IC 95%: 2,2-16,2) vezes mais chance de infecção pelo HCV que aqueles com idade igual ou inferior a 40 anos. Este dado assemelha-se aos de outros estudos realizados em UD. No Rio de Janeiro, Bastos et al. (2000) verificaram uma associação significativa entre a infecção pelo HCV e idade acima de 30 anos. Na Itália, Quaglio et al. (2003) encontraram maior positividade (92,5%) em usuários com idade superior a 35 anos. Para Roy et al. (2001), o aumento da prevalência do HCV relacionado com o aumento da idade pode ser explicado pelo efeito acumulativo de comportamentos de risco como duração e frequência do uso de drogas. De fato, neste estudo, os indivíduos que fizeram uso de drogas por mais que 10 anos tiveram chance 4,9 (IC 95%: 1,5-15,8) vezes maior de positividade para o HCV em relação àqueles que usaram drogas por 10 anos ou menos,

sendo concordante com outras investigações realizadas em usuários de drogas ilícitas (Oliveira et al. 1999, 2006, Quaglio et al. 2003, Macias et al. 2008). Além disso, a maioria (65,6%) dos indivíduos estudados referiu o uso diário de drogas, o que pode ter contribuído para exposição ao vírus no decorrer dos anos.

Os indivíduos que fizeram uso de drogas por via injetável apresentaram 22,4 (IC 95%: 8,0-52,0) vezes mais chance de infecção pelo HCV quando comparados aos não injetáveis, o que está em acordo com outros estudos realizados com usuários de drogas ilícitas (Bastos et al. 2000, Hwang et al. 2000, Turchi 2000, Jittiwutikarn et al. 2006). Além disso, nesta investigação, a prevalência da infecção pelo HCV encontrada em UDI foi quase 12 vezes maior que em UDNI (31,4% versus 2,7%, Tabela 5). Semelhantemente, Bastos et al. (2000) verificaram uma prevalência de 33,3% em UDI e de 2,5% em UDNI em dois centros de tratamento no Rio de Janeiro. Em Porto Alegre, Galperim et al. (2004) também encontraram uma prevalência elevada em UDI (88%) quando comparada à observada em UDNI (2%). Esses dados corroboram a eficiente transmissão desse vírus por via parenteral.

Verificou-se associação entre história de hemotransfusão e infecção pelo HCV (OR = 1,7; IC 95%: 0,7-3,9). Essa associação tem sido reportada, principalmente, quando tal procedimento foi realizado antes da implantação da triagem para anti-HCV nos bancos de sangue, que no Brasil foi em novembro de 1993 (Kupek 2001, Carneiro et al. 2007, Botelho et al. 2008). De fato, neste estudo, dentre os 14 indivíduos anti-HCV positivos que receberam transfusão sanguínea, a maioria (64,2%) das transfusões foi anterior a essa data (dados não mostrados), ratificando a importância da triagem para anti-HCV nos bancos de sangue no País.

Outras variáveis como estado civil (Jittiwutikarn et al. 2007), escolaridade (Burt et al. 2007), renda familiar (Oliveira et al. 1999), número de parceiros sexuais (Altaf et al. 2007), parceiro usuário de droga injetável (Segurado et al. 2004, Winslow et al. 2007), história de DST (Reyes et al. 2006) e antecedente de prisão (Oliveira et al. 2006, Rossi et al. 2008) têm se mostrado associadas à infecção pelo HCV. No presente estudo, embora as variáveis estado civil, renda

familiar, parceiro usuário de droga injetável e história de DST tenham apresentado significância estatística pela análise univariada, a mesma não permaneceu após análise multivariada. As demais variáveis (escolaridade, número de parceiros sexuais e antecedente de prisão), apesar de mais freqüentemente relatadas pelos indivíduos anti-HCV positivos, não alcançaram significância estatística.

A infecção pelo HCV se mostrou ainda associada à presença do anti-HBc ($\chi^2 = 20,2$; $p < 0,05$; dados não mostrados), considerado marcador de exposição ao HBV. Esse achado, com provável importância clínica e epidemiológica, corrobora os encontrados por outros autores também em usuários de drogas (Quaglio et al. 2003, Segurado et al. 2004), sugerindo a ocorrência de formas comuns de transmissão dos vírus das hepatites B e C em UD.

Todas as 41 amostras RNA-HCV positivas foram genotipadas pelo LiPA, sendo o genótipo 1 predominante, seguido pelo genótipo 3. Resultados semelhantes foram verificados em UDI no Rio de Janeiro por Oliveira et al. (1999), sendo os mesmos prevalentes no Brasil (Campiotto et al. 2005), bem como em nossa região (Martins et al. 2006). Em relação aos subtipos, observou-se maior freqüência de 1a (63,4%), seguido de 3a (19,5%) e 1b (17,1%) pelo LiPA, quando analisada a região 5' NC do genoma do HCV. Essa região por ser a mais conservada do genoma viral permitiu a amplificação pela PCR de um maior número de amostras que foram genotipadas. Por essa razão a região 5' NC é bastante utilizada na detecção e genotipagem do HCV, principalmente na prática clínica para definição do esquema terapêutico da hepatite C (Sandres-Sauné et al. 2003, Laperche et al. 2005, Espírito-Santo et al. 2007).

Uma distribuição semelhante foi verificada para os subtipos 1a, 3a e 1b pela análise filogenética da região NS5B (68%, 20% e 12%, respectivamente). Não havendo, portanto, discordância entre os genótipos e subtipos das 25 amostras que foram caracterizadas pelos dois métodos. Apesar de ambos serem considerados eficientes para determinar, principalmente, os genótipos, resultados discrepantes entre os subtipos do HCV têm sido reportados por outros autores (Sandres-Sauné et al. 2003, Laperche et al. 2005, Espírito-Santo et al. 2007), os quais mostraram ser a região NS5B mais apropriada para subtipagem quando

comparada com a região 5' NC, que é muito conservada para diferenciar alguns subtipos, principalmente 1a e 1b. Assim, a análise filogenética da região NS5B, que é mais indicada para caracterizar o HCV em estudos epidemiológicos, foi utilizada para confirmar os genótipos e subtipos desse vírus na população estudada.

Tendo em vista os resultados da análise filogenética, bem como os dados epidemiológicos dos usuários de drogas estudados, a transmissão do HCV entre os mesmos não pode ser sugerida. No entanto, um achado intrigante neste estudo foi a não amplificação na região NS5B das amostras provenientes de Campo Grande-MS. Se o status de positividade para a região 5'NC fosse desconhecido, as condições de estocagem das amostras poderiam ser questionadas. Contudo, todas foram positivas para a região mais conservada e permaneceram negativas para a NS5B, mesmo após reteste (desde a extração de RNA), de modo que não se pode excluir a possibilidade de baixo pareamento dos iniciadores às sequências alvo. Semelhantemente, Oliveira (2008) relatou uma frequência baixa (18,1%) de amplificação para esta região em amostras RNA-HCV positivas para a região 5'NC de UDI no Rio de Janeiro. Assim, análises adicionais, incluindo outras regiões do genoma viral, seriam interessantes para caracterizar as amostras desses usuários.

Verificou-se que o relato do conhecimento sobre as formas de transmissão do HCV era limitado nesta população de usuários de drogas, o que está em acordo com outras investigações nacionais e internacionais (Deslandes et al. 2002, MS 2003, Gyarmathy et al. 2006, Marchesini et al. 2007, Strauss et al. 2007). Tendo em vista que, o conhecimento pode influenciar mudanças de comportamento em relação às práticas de risco (Pechansky et al. 2000, Heimer et al. 2002), foram realizadas palestras educativas sobre as hepatites virais, com ênfase nas formas de transmissão e prevenção para os usuários de drogas e funcionários dos centros de tratamento que participaram deste estudo. Entretanto, essa foi uma medida isolada e sem continuidade. Assim, sugere-se a implantação de programas de educação em saúde que visem intensificar o conhecimento sobre as formas de transmissão e prevenção do HCV, não só para a população alvo deste estudo, mas para todos em risco para essa infecção.

Este estudo mostrou uma prevalência elevada da infecção e do subtipo 1a do HCV em usuários de drogas ilícitas no Brasil Central, bem como idade superior a 40 anos, via injetável e tempo de uso de drogas e história de transfusão de sangue como fatores de risco para esta infecção. Além disso, evidenciou que a população estudada apresentava conhecimento limitado sobre as formas de transmissão do HCV. Estes dados, assim como a evolução da infecção para cronicidade na maioria dos casos, a baixa resposta do genótipo 1 à terapia antiviral e a indisponibilidade de uma vacina contra hepatite C, reforçam a necessidade da ampliação de ações públicas de saúde específicas para os usuários de drogas ilícitas no Brasil Central. Essas ações devem incluir a capacitação de profissionais que atuam na promoção da saúde, programas efetivos de prevenção e controle desta infecção, reestruturação dos centros que oferecem tratamento para o abuso de drogas, o encaminhamento dos portadores do HCV para tratamento, bem como a vacinação contra hepatite B.

Finalmente, acredita-se que a contribuição mais importante da presente investigação foi ter gerado dados epidemiológicos e moleculares da infecção pelo HCV em usuários de drogas em Campo Grande-MS e Goiânia-GO, Brasil Central; informações estas que poderão contribuir para atenuar o impacto desta infecção. Ressalta-se, ainda, a importância da realização de estudos em outras regiões do Brasil, para o estabelecimento do perfil global desta infecção em usuários de drogas ilícitas no País.

6. CONCLUSÕES

- A prevalência global de anti-HCV em usuários de drogas ilícitas em centros de tratamento em Campo Grande-MS e Goiânia-GO foi de 6,9% (IC 95%: 5,2-9,2);
- O conhecimento dos usuários de drogas sobre as formas de transmissão do vírus da hepatite C era limitado, evidenciando a necessidade de ações de educação em saúde;
- Após análise multivariada, idade superior a 40 anos, via injetável e tempo de uso de drogas e história de transfusão de sangue foram fatores associados à infecção pelo HCV nos UD estudados;
- A presença dos genótipos 1 (subtipos 1a e 1b) e 3 (subtipo 3a) na população estudada corrobora os achados de outros estudos no Brasil, mostrando, assim, a relevância da circulação desses genótipos no País.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aaron S, McMahon JM, Milano D, Torres L, Clatts M, Tortu S, Mildvan D, Simm M 2008. Intranasal transmission of hepatitis C virus: virological and clinical evidence. *Clin Infect Dis* 47:931-934.
- Abramovay M, Castro MG 2005. Drogas nas escolas: versão resumida. Brasília: UNESCO, Rede Pitágoras, 143p.
- Aceijas C, Rhodes T 2007. Global estimates of prevalence of HCV infection among injecting drug users. *Int J Drug Policy* 18(5):352-358.
- Agnello V, de Rosa FG 2004. Extrahepatic manifestation of HCV infection: some current issues. *J Hepatol* 40:341-352.
- Aitken CK, McCaw RF, Bowden DS, Tracy SL, Kelsall JG, Higgs PG, Kerger MJ, Nguyen H, Crofts JN 2004. Molecular epidemiology of hepatitis C virus in a social network of injection drug users. *J Infect Dis* 190(9):1586-1595.
- Alberti A, Benvegnù L 2003. Management of hepatitis C. *J Hepatol* 38:104-118.
- Almeida D, Tavares-Neto J, Vitvitsky L, Almeida A, Mello C, Santana D, Tatsch, Paraná R 2006. Serological markers of hepatitis A, B and C viruses in rural communities of the semiarid Brazilian Northeast. *Braz J Infect Dis* 10(5):317-321.
- Altaf A, Shah SA, Zaidi NA, Memon A, Ur-Rehman N, Wray N 2007. High risk behaviors of injection drug users registered with harm reduction programme in Karachi, Pakistan. *Harm Reduction Journal* 4:7.
- Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo QL, Kuo G 1989. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 321(22): 1494-1500.
- Alter M, Margolis H, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, Hu PY, Miller JK, Gerber MA, Sampliner RE 1992. The natural history of community-acquired HCV in the United States. *N Engl J Med* 327:1899-1905.
- Alter MJ 2002. Prevention of spread of hepatitis C. *Hepatol* 36(5):93-98.
- Alter MJ 2007. Epidemiology of viral hepatitis C infection. *J Gastroenterol* 13(17):2436-2441.
- Amorim RMS, Oliveira CP, Wyant PS, Cerqueira DM, Câmara GNL, Flores LS, Martins RMB, Martins CRF 2004. Hepatitis C virus genotypes in blood donors from the Federal District, Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99(8):895-897.

Andrade AFB, Oliveira-Silva M, Silva SGC, Motta IJF, Bonvicino CR 2006. Seroprevalence of hepatitis B and C virus markers among blood donors in Rio de Janeiro, Brazil, 1998-2005. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101(6):673-676.

Asselah T, Bieche I, Paradis V, Bedossa P, Vidaud M, Marcellin P 2007. Genetics, genomics, and proteomics: implications for the diagnosis and the treatment of chronic hepatitis C. *Semin Liver Dis* 27(1):13-27.

Barbosa AP 1998. Estudo soroeptemiológico e genotipagem do vírus da hepatite C em hemofílicos em Goiânia-Goiás. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical; Doenças Infecciosas e Parasitárias) – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, 82p.

Barbosa AP, Martins RMB, Teles SA, Silva SA, Oliveira JM, Yoshida CFT 2002. Prevalence of hepatitis C virus infection among hemophiliacs in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97(5):643-644.

Barbosa VS, Silva NA, Martins RMB 2005. Hepatitis C virus seroprevalence and genotypes in patients with diffuse connective tissue diseases and spondyloarthropathies. *Braz J Med Biol Res* 38:801-805.

Barrera JM 2000. Diagnostic tests for hepatitis C virus infection. *Nephrol Dial Transplant* 15(Suppl.8):S15-S18.

Bartosch B, Cosset FL 2006. Cell entry of hepatitis C virus. *Virology* 348:1-12.

Bastos FI, Bertoni N, Hacker MA 2008. Drug and alcohol use: main findings of a national survey, Brazil 2005. *Rev Saude Publica* 42 (Suppl.1):S109-S117.

Bastos FI, Lowndes CM, Derrico M, Castelo-Branco LR, Linhares-de-Carvalho MI, Oeleman W, Bernier F, Morgado MG, Yoshida CF, Rozental T, Alary M 2000. Sexual behaviour and infection rates for HIV, blood-borne and sexually transmitted infections among patients attending drug treatment centres in Rio de Janeiro, Brazil. *Int Journal STD AIDS* 11:383-392.

Bellissimo-Rodrigues WT, Machado AA, Bellissimo-Rodrigues F 2006. Prevalence of hepatitis B and C among Brazilian Dentists. *Infect Control Hosp Epidemiol* 27:887-888.

Blackard JT, Shata MT, Shire NJ, Sherman KE 2008. Acute hepatitis C virus infection: a chronic problem *Hepatology* 47(1):321-331.

Botelho SM, Ferreira RC, Reis NR, Kozlowski AG, Carneiro MA, Teles SA, Yoshida CF 2008. Epidemiological aspects of hepatitis C virus infection among renal transplant recipients in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103(5):472-476.

Bourlière M, Barberin JM, Rotily M, Gualgliardo V, Portal I, Lecomte L, Benali S, Boustière, Perrier H, Jullien M, Lambot G, Loyer R, Lebars O, Daniel R, Khiri H,

Halfon P 2002. Epidemiological changes in hepatitis C virus genotypes in France: evidence in intravenous drug users. *J Viral Hepatitis* 92:62-70.

Boxall E, Baumann K, Price N, Sira J, Brown M, Kelly D 2007. Discordant outcome perinatal transmission of hepatitis C in twin pregnancies. *J Clin Virol* 38(2):91-95.

Branch AD, Stump DD, Gutierrez JA, Eng F, Walewski JL 2005. The hepatitis C virus alternate reading frame (ARF) and its family of novel products: the alternate reading frame protein/F-protein, the double-frameshift protein, and others. *Semin Liver Dis* 25(1):105-117.

Brandão ABM, Fuchs SC 2002. Risk factors for hepatitis C virus infection among blood donors in southern Brazil: a case-control study. *BMC Gastroenterol* 2:1-8.

Brandão ABM, Fuchs SC, Silva MAA, Emer LF 2001. Diagnóstico na prática médica: revisão da literatura. *Pan Am J. Public Health* 9(3):161-168.

Brass V, Moradpour D, Blum HE 2006. Molecular virology of hepatitis C virus (HCV): 2006 Update. *Int J Med Sci* 3(2):29-34.

Bruguera M 2007. Prevención de las hepatitis virales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 24(10):649-656.

Burt RD, Hagan H, Garfein RS, Sabin K, Weinbaum C, Thiede H 2007. Trends in hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus prevalence, risk behaviors, and preventive measures among seattle injection drug users aged 18-30 years, 1994-2004. *J Urban Health* 84:436-454.

Caiaffa WT, Bastos FI 1998. Usuários de drogas injetáveis e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana: epidemiologia e perspectivas de intervenção. *Ver Bras Epidemiol* 1(2):190-202.

Caiaffa WT, Bastos FI, Freitas LL, Mingoti SA, Proietti FA, Carneiro-Proietti AB, Gandolfi D, Doneda D, Projeto AJUDE-Brasil I, Projeto AJUDE-Brasil II 2006. The contribution of two Brazilian multi-center studies to the assessment of HIV and HCV infection and prevention strategies among injecting drug users: the AJUDE-Brasil I and II Projects. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro 22(4):771-782.

Callens N, Ciczora Y, Bartosch B, Vu-Dac N, Cosset FC, Pawlotsky JM, Penin F, Dubuisson J 2005. Basic residues in hypervariable region 1 of hepatitis C virus envelope glycoprotein E2 contribute to virus entry. *J Virol* 79:1533-1541.

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 2005. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. *Braz J Med Biol Res* 38:41-49.

Carey J, Perlman DC, Friedmann P, Kaplan WM, Nugent A, Deutscher M 2005. Knowledge of hepatitis among active drug injectors at a syringe exchange program. *J Subst Abuse Treat* 29:47-53.

Carneiro MAS, Martins RMB, Teles SA, Silva SA, Lopes CL, Cardoso DDP, Vanderborght BOM, Yoshida CFT 2001. Hepatitis C prevalence and risk factors in hemodialysis patients in Central Brazil: A survey by polymerase chain reaction and serological methods. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96:765-769.

Carneiro MAS, Teles SA, Lampe E, Espírito-Santo MP, Gouveia-Oliveira R, Reis NRS, Martins RMB 2007. Molecular and epidemiological study on nosocomial transmission of HCV in hemodialysis patients in Brazil. *Journal of Medical Virology* 79:1325-1333.

Carreño V 2006. Occult hepatitis C virus infection: a new form of hepatitis C. *World J Gastroenterol* 12(43):6922-6925.

Căruntu FA, Benea L 2006. Acute hepatitis C virus infection: diagnosis, pathogenesis, treatment. *J Gastrointest Liver Dis* 15(3):249-256.

Carvalho HB, Seibel SD, Burrtini MN, Massad E, Reingold A 2003. Vulnerabilidade às infecções pelo HIV, hepatites B e C e sífilis entre adolescentes infratores institucionalizados na cidade de São Paulo, Brasil. *J Bras Doenças Sex Transm* 15(3):41-45.

Castillo I, Pardo M, Bartolomé J, Ortiz-Movilla N, Rodríguez-Iñigo E, de Lucas S 2004. Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *J Infect Dis* 189(1):7-14.

Cavalheiro NP 2007. Hepatitis C: Genotyping in Consensus of the Brazilian Society of Infectious Diseases on the management and treatment of hepatitis C. *BJID* 11(5) (Suppl.1):S25-S27.

CEBRID - Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas 2005. II Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil. São Paulo, 468p.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention 2006. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. Hepatitis C: diagnosis and treatment, prevention, postexposure, <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/c/plan/Implement.htm>. Acesso em julho de 2008.

Chavez KAP, O'Brien B, Pillon SC 2005. Uso de drogas e comportamentos de risco no contexto de uma comunidade universitária. *Rev Latino-am Enfermagem* 13(6):1194-1200.

Chen SL, Morgan TR 2006. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci* 3(2):47-52.

Chevaliez S, Pawlotsky JM 2007. Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and management of antiviral therapy. *World J Gastroenterol* 13(17):2461-2466.

Chiquete E, Panduro A 2007. Low prevalence of anti-hepatitis C virus antibodies in Mexico: A systematic review. *Intervirol* 50:1-8.

Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244:359-362.

Ciorlia LAS, Zanetta DMT 2007. Hepatite C em profissionais da saúde: prevalência e associação com fatores de risco. *Rev Saúde Pública* 41(2):229-235.

Cocquerel L, Op de Beeck A, Lambot M, Roussel J, Delgrange D, Pillez A, Wychowski C, Penin F, Dubuisson J 2002. Topological changes in the transmembrane domains of hepatitis C virus envelope glycoproteins. *EBO J* 17(12):2893-2902.

Costa MCO, Alves MVQM, Santos CAST, Carvalho RC, Souza KEP, Sousa HL 2007. Experimentação e uso regular de bebidas alcoólicas, cigarros e outras substância psicoativas/SPA na adolescência. *Ciência & Saúde Coletiva* 12(5):1143-1154.

Cox J, De P, Morissette C, Tremblay C, Stephenson R, Allard R, Graves L, Roy E 2008. Low perceived benefits and self-efficacy are associated with hepatitis C virus (HCV) infection-related risk among injection drug users. *Soc Sci Med* 66(2):211-220.

Craxì A, Giacomo L, Zignego AL 2008. Hepatitis C (HCV) infection: a systemic disease. *Mol Aspects Med* 29:85-95.

Cuadra-Sanchez C, Moronta-Pinango R, Cordova-Villanueva E, Mindiola-Morles R, Araujo-Soto M, Callejas-Monsalve D, Porto-Espinoza L 2005. Seroprevalence of hepatitis C virus (HCV) in patients of the Regional Viral Reference Laboratory (Maracaibo, Venezuela). *Rev Gastroenterol Peru* 25:248-253.

Da Costa LMFC, Mussi ADHg, Brianeze MR Souto FJD 2008. Hepatitis C as a Risk Factor for Diabetes Type 2: Lack of Evidence in a Hospital in Central-West Brazil. *Braz J Infect Dis* 12(1):24-26.

De Carvalho HB, Mesquita F, Massad E, Bueno RC, Lopes GT, Ruiz MA, Burattini MN 1996. HIV and infections of similar transmission patterns in a drug injectors community of Santos, Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 12(1):84-92.

Delahooke TES 2004. What is the nature of the problem? *J Viral Hepatitis* 11 (Suppl.1):S5-S11.

De P, Roy E, Boivin JF, Cox J, Morissette C 2008. Risk of hepatitis C virus transmission through drug preparation equipment: a systematic and methodological review. *J Viral Hepat* 15(4):279-292.

Deng L, Nagano-Fujii M, Tanaka M, Nomura-Takigawa Y, Ikeda M, Kato N, Sada K, Hotta H 2006. NS3 protein of Hepatitis C virus associates with the tumour suppressor p53 and inhibits its function in an NS3 sequence-dependent manner. *J Gen Virol* 87:1703-1713.

Denis B, Dedobbelleer M, Collet t, Petit J, jamouille M, Hayani A, Brenard R. 2000. High prevalence of hepatitis C virus infection in Belgian intravenous drug users and potential role of the “cotton-filter” in transmission: the GEMT Study. *Acta Gastroenterol Belg* 63:147-153.

Des Jarlais DC, Diaz T , Perlist, Vlahov D, Maslow C, Latka M, Rockwell R, Edwards V, Friedman SR, Monterroso E, Williams I, Garfein RS 2003. Variability in the incidence of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infection among young injecting drug users in New York city. *Am J Epidemiol* 157:467-471.

Deslandes S F, Mendonça EA, Caiaffa WT, Doneda D 2002. As concepções de risco e de prevenção segundo a ótica dos usuários de drogas injetáveis. *Cad Saúde Pública* 18(1):141-151.

Dienstag JL, McHutchison JG 2006. American gastroenterological association technical review on the management of hepatitis C. *Gastroenterology* 130:231-264.

Dillon JF 2004. What is the best treatment? *J Viral Hepatitis* 11(Suppl.1):S23-S27.

Drazan KE 2000. Molecular biology of hepatitis C infection. *Liver Transpl* 6(4):396-406.

Dubuisson J 2007. Hepatitis C virus proteins. *Gastroenterol* 13(17):2406-2415.

Dunn J, Laranjeira R 1999. Cocaine – profiles, drug histories, and patterns of use of patients from Brazil. *Subst Use Misuse* 34(11):1527-1548.

Edeh J & Spalding P 2000. Screening for HIV, HBV and HCV markers among drug users in treatment in rural south-east England. *J Public Health Med* 22(4):531-539.

Edlin BR, Kresina TF, Raymond DB, Carden MR, Gourevitch, Josiah D. Rich, Cheever LW, Cargill VA 2005. Overcoming barriers to prevention, care, and treatment of hepatitis C in illicit drug users. (Injectin drug use hepatitis C risk behavior). *Clin Inf Dis* 40(Suppl.8):S276-S286.

Egger D, Wolk B, Gosert R, Bianchi L, Blum HE, Moradpour D, Bienz K 2002. Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral replication complex. *J Virol* 76: 5974-5984.

Erensoy S 2001. Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection and laboratory monitoring of its therapy. *J Clin Virol* 21:271-281.

Eroğlu C, Pinarbas E 2000. Hepatitis C virus: genome organization, viral proteins and implications in disease pathogenesis. *Turk J Biol* 24:253-269.

Espírito-Santo MP, Carneiro MAS, Reis NRS, Kozlowski AG, Teles SA, Lampe E, Yoshida CFT, Martins RMB 2007. Genotyping hepatitis C virus from hemodialysis patients in Central Brazil by line probe assay and sequence analysis. *Braz J Med Biol Res* 40:545-550.

Fan W, Zhu W, Wei L, Wang Q, Yin L, Du S 2005. Nonstructural 5A gene variability of hepatitis C virus (HCV) during a 10-year follow up. *J Gastroenterol* 40(1):43-51.

Faria FLR, Furegato ARF 2005. O dito e o não dito pelos usuários de drogas, obtidos mediante as vivências da técnica projetiva. *Rev Latino-am Enfermagem* 13(5):700-703.

Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV 1975. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. 1975. *Rev Med Virol* 11:3-8.

Feld JJ, Hoofnagle JH 2005. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature* 436(18):967-972.

Fernández-Arcás N, López-Siles J, Trapero S, Ferraro A, Ibáñez A, Orihuela F, Maldonado J, Alonso A 2006. High prevalence of hepatitis subtypes 4c and 4d in Malaga (Spain): phylogenetic and epidemiological analyses. *J Med Virol* 78(11):1429-1435.

Ferreira AD, Caiaffa WT, Mingoti SA 2006. Projeto AjuDE-Brasil II. Profile of male Brazilian injecting drug users who have sex with men. *Cad Saúde Pública* 22:849-860.

Ferreira Filho OF, Turchi MD, Laranjeira R, Castelo A 2003. Epidemiological profile of cocaine users on treatment in psychiatric hospitals, Brazil. *Rev Saúde Pública* 37(6):751-759.

Ferreira-Gonzalez A, Shiffman ML 2004. Use of diagnostic testing for managing hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 24(Suppl.2):S9-S17.

Fischer B, Powis J, Firestone Cruz M, Rudzinski K, Rehm J 2008. Hepatitis C virus transmission among oral crack users: viral detection on crack paraphernalia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 20(1):29-32.

Focaccia R, Conceição OJG, Sete JrH, Sabino E, Bassit L, Nitrini DR, Lomar AV, Lorenço R, Souza , Kiffer CRV, Santos EB, Gonzáles MP, Sáez-Alquézar A, Riscal JR, Fisher D 1998. Estimated prevalence of viral hepatitis in general population of the municipality of São Paulo, measured by a serological survey of stratified randomized and residence-based population. *Braz J Infect Dis* 2(6):269-284.

Focaccia R, Baraldo DCM, Ferraz MLG, Martinelli ALC, Carrilho FJ, Gonçalves JFL, Pedroso MLA, Coelho HSM, Lacerda MA, Brandão CE, Mattos AA, Lira LGC, Zamin JL, Pinheiro JOP, Tovo CV, Both CT, Soares JAS, Dittrich S 2004. Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. *Braz J Infect Dis* 8(5):348-355.

Foster GR 2004. Past, present, and future hepatitis C treatments. *Semin Liver Dis* (Suppl.2):S97-S104.

Freitas SZ, da Cunha RV, Martins RMB, Teles SA, Ibanhes ML, Motta-Castro ARC 2008. Prevalence, genotypes and risk factors associated with hepatitis C virus infection in hemodialysis patients in Campo Grande, MS, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103:405-408.

Friebe P, Bartenschlager R 2002. Genetic analysis of sequences in the 3' nontranslated region of hepatitis C virus that are important for RNA replication. *J Virol* 76(11):5326-5338.

Friebe P, Boudet J, Simorre JP, Bartenschlager R 2005. Kissing-loop interaction in the 3' end of the hepatitis C virus genome essential for RNA replication. *J Virol* 79:380-392.

Friebe P, Lohmann V, Krieger N, Bartenschlager R 2001. Sequences in the 5' nontranslated region of hepatitis C virus required for RNA replication. *J Virol* 75 (24):12047-12057.

Fried MW, Hadziyannis SJ 2004. Treatment of chronic hepatitis infection with peginterferon plus ribavirin. *Semin Liver Dis* 24(Suppl.2):S45-S54.

Galduróz JCF 2001. Uso e abuso de drogas psicotrópicas no Brasil. *Rev IMESC* 3:37-42.

Galossi A, Guarisco R, Bellis L, Pinoti C 2007. Extrahepatic manifestations of chronic HCV infection. *J Gastrointestin Liver* 16(1):65-73.

Galperim B, Cheinquer H, Stein A, Fonseca A, Lunge V, Ikuta N 2004. Intranasal cocaine use does not appear to be an independent risk factor for HCV infection. *Addiction* 91:973-977.

Giannini C, Bréchet C 2003. Hepatitis C virus biology. *Cell Death Differ* 10 (Suppl.1):S27-S38.

Ginabreda MGP, Yoshida CFT, Niel C 1997. Genomic characterization of Brazilian hepatitis C virus genotypes 1a and 1b *Braz J Med and Biol Res* 30:339-345.

Global Burden Of Hepatitis C Working Group 2004. Global burden of disease (GBD) for hepatitis C. *J Clin Pharmacol* 44(1):20-29.

Goldberg D, Anderson E 2004. Hepatitis C: who is at risk and how do we identify them? *J Viral Hepatitis* 11:S12-18.

Gomes M, Gigante LP, Gomes J, Boschetti J, Carvalho G 2006. Prevalência da soropositividade do anti-HCV em pacientes dialisados. *Rev Saúde Pública* 40(5):931-934.

Gonçales NSL, Lieber SR, Corgh DB, Junior FLG 2005. Major histocompatibility complex and immune response in hepatitis C diseases. *Virus Reviews and Research* 10:7-20.

Graham W 2001. Police to tackle social exclusion. *BMJ* 323:175-176.

Grebely J, Genoway K, Khara M, Duncan F, Viljoen M, Elliott D, Raffa JD, DeVlaming S, Conway B 2008. Treatment uptake and outcomes among current and former injection drug users receiving directly observed therapy within a multidisciplinary group model for the treatment of hepatitis C virus infection. *Int J Drug Policy* 18:437-443.

Gretch DR 1997. Diagnostic tests for hepatitis C. *Hepatology* 26(Suppl.1):S43-S47.

Gretton SN, Taylor AI, McLauchlan J 2005. Mobility of the hepatitis C virus NS4B protein on the endoplasmic reticulum membrane and membrane-associated foci. *J Gen Virol* 86:1415-1421.

Griffin SD, Harvey R, Clarke DS, Barclay WS, Harris M, Rowlands DJ 2004. A conserved basic loop in hepatitis C virus p7 protein is required for amantadine-sensitive ion channel activity in mammalian cells but is dispensable for localization to mitochondria. *J Gen Virol* 85:451-461.

Guindalini C, Vallada H, Breen G, Laranjeira R 2006. Concurrent crack and powder cocaine users from São Paulo: do they represent a different group? *BMC Public Health* 6:10-17.

Gyarmathy VA, Neaigus A, Ujhelyi E, Szabó T, Rácz J 2006. Strong HIV and hepatitis disclosure norms and frequent risk behaviors among Hungarian drug injectors. *Drug Alcohol Depend* 82(Suppl.1):S65-S69.

Hamano K, Sakamoto N, Enomoto N, Izumi N, Asahina Y, Kurosaki M, Ueda E, Tanabe Y, Maekawa S, Itakura J, Watanabe H, Kakinuma S, Watanabe M 2005. Mutations in the NS5B region of the hepatitis C virus genome correlate with clinical outcomes of interferon-alpha plus ribavirin combination therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 20:1401-1419.

Hansurabhanon T, Jiraphongsa C, Tunsakun P, Sukbunsung R, Bunyamanee B, Kuirat P, Meedsen S, Waedeng W, Theamboonlers A, Poovorawan Y 2002. Infection with hepatitis C virus among intravenous-drug users: prevalence, genotypes and risk-factor-associated behaviour patterns in Thailand. *Ann Trop Med Parasitol* 96:615-625.

Haqshenas G, Mackenzie JM, Dong X, Gowans EJ 2007. Hepatitis C virus p7 protein is localized in the endoplasmic reticulum when it is encoded by a replication-competent genome. *J Gen Virol* 88:134-142.

Healthcote EJ 2007. Antiviral therapy: chronic hepatitis C. *J Viral Hepatitis* 14 (Suppl.1):S82-S88.

Healthcote EJ, Main J 2005. Treatment of hepatitis C. *J Viral Hepatitis* 12:223-235.

Heimer R, Clair S, Grau LE, Bluthenthal RN, Marshall PA, Singer M 2002. Hepatitis-associated Knowledge is low and risks are high among HIV-aware injection drug users in three US cities. *Addiction* 97:1277-1287.

Hwang LH, Ross MW, Zack C, Bull L, Rickman K, Holleman M 2000. Prevalence of sexually transmitted infections and associated risk factors among populations of drug abusers. *Clin Infect Dis* 31:920-926.

ICTV 2006. Hepacivirus; www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB.

Irshad M, Dhar I 2006. Hepatitis C virus core protein: an update on its molecular biology, cellular functions and clinical implications. *Med Princ Pract* 15:405-416.

Irving WL 2007. Acute hepatitis C virus infection: a neglected disease? *Gut* 55:1075-1077.

Jindal N, Arora U, Singh K 2008. Prevalence of human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus, and hepatitis C virus in three groups of populations at high risk of HIV infection in Amritsar (Punjab), Northern India. *Jpn J Infect Dis* 61(1):79-81.

Jittiwutikarn J, Thongsawat S, Suriyanon V, Maneekarn N, Celentano D, Razak MH, Srirak N, Vongchak T, Kawichai S, Thomas D, Sripaipan T, Netski D, Ananthakrishnan A, Nelson KE 2006. Hepatitis C infection among drug users in northern Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 74(6):1111-1116.

Jungerman FS, Laranjeira R 2008. Characteristics of cannabis users seeking treatment in São Paulo, Brazil. *Rev Panam Salud Publica* 23(6):384-393.

Kato N 2001. Molecular virology of hepatitis C virus. *Acta Med Okayama* 55(3):133-159.

Kew M, François G, Lavanchy D, Margolis H, Van Damme P, Grob P, Hallauer J, Shouval D, Leroux-Roels G, Meheus A 2004. Prevention of hepatitis C virus infection. *J Viral Hepatitis* 11:198-205.

Kikuchi K, Umehara T, Fukuda K, Kuno A, Hasegawa T, Nishikawa S 2005. A hepatitis C virus (HCV) internal ribosome entry site (IRES) domain III-IV-targeted aptamer inhibits translation by binding to an apical loop of domain III. *Nucleic Acids Res* 33(2):683-692.

Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, Gibo Y, Yoshizawa K, Nakano Y, Furuta S, Akahane Y, Nishioka K, Purcell RH 1990. Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology* 12:671-675.

Krekulova L, Rebak V, Madrigal N, Johnson M, Killoren P, Riley LW 2001. Genotypic and epidemiologic characteristics of hepatitis C virus infections among recent injection drug user and nonuser populations. *Clin Infect Dis* 33:1435-1438.

Kresina TF, Khalsa J, Cesari H, Francis H 2005. Hepatitis C virus infection and substance abuse: medical management and developing models of integrated care-na introduction. (Presentation of the proceedings in this supplement issue of Clinical Infectious Diseases). *Clin Infect Dis* 40(Suppl.8):S259-S263.

Kumagai N, Takahashi N, Kinoshita M, Tsunematsu S, Tsuchimoto K, Saito H, Ishi H 2004. Polymorphisms of NS5B protein relates to early clearance of hepatitis C virus by interferon plus rivabirin: a pilot study *J Viral Hepat* 11:225-235.

Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB, Nei M 2001. MEGA2: molecular evolutionarygenetics analysis software. *Bioinformatics* 17:1244-1245.

Kuo G, Choo Q, 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 1989. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A non-B hepatitis. *Science* 244:362-364.

Kupek EJ 2001. Residual transfusion risk for hepatitis B and C in southern Brazil,1991-99. *J Virol Hepat* 8:78-82.

Lanford RE, Bigger C 2002. Advances in model systems for hepatitis C virus research. *Virology* 293:1-9.

Laperche S, Lunel F, Izopet J, Alain S, Dény P, Duverlie G, Gaudy C, Pawlotsky J, Plantier J, Pozzetto B, Thibault V, Tosetti F, Lefrère J 2005. Comparison of hepatitis C virus NS5B and 5' Noncoding gene sequencing methods in a multicenter study. *J Clin Microbiol* 43:773-779.

Lauer, GM, Walker BD 2001. Hepatitis C virus infections. *N Engl J Med* 345:41-52.

Le Guillemette-Guillou H, Vallet S, Gaudy-Graffin C, Payan C, Pivert A, Goudeau A, Lunel-Fabiani F 2007. Genetic diversity of the hepatics C virus: impact and issues in the antiviral therapy. *World J Gastroenterol* 13(17):2416-2426.

Lee JH, Nam IY, Myung H 2006. Nonstructural protein 5B of hepatitis C virus. *Mol cells* 21(3):330-336.

Lee KCK, Limb WWL, Lee SS 2008. High prevalence of HCV in a cohort of injectors on methadone substitution treatment. *J Clin Virol* 41:297-300.

Lopes CLR, Martins RBM, Carneiro MAS, Teles SA, Maggi PS, Oliveira LA, Cardoso DDP, Yoshida CFT 2002. Soroprevalência da infecção pelo vírus da hepatite C em profissionais das unidades de hemodiálise de Goiânia. *Rev Pat Trop* 31(1):129-133.

Lucidarme D, Bruandet A, Illef D, Harbonnier J, Jacob C, Decoster A, Delamare C, Cyran C, Van Hoenacker AF, Frémaux D, Josse P, Emmanuelli J, Lestrat Y, Desenclos JC, Filoche B 2004. Incidence and risk factors of HCV and HIV infections in a cohort of intravenous drug users in the North and East of France. *Epidemiol Infect* 132:699-708.

Lynskey M, Hall W 2000. The effects of adolescent cannabis use on educational attainment: a review. *Addiction* 95:1621-1630.

Lyra Ac, Fan X, Bisceglie AM 2004. Molecular Biology and clinical implication of hepatitis C *Braz J Med Biol Res* 37(5):691-695.

Macdonald A, Harris M 2004. Hepatitis C virus NS5A: tales of a promiscuous protein. *J Gen Virol* 85:2485-2502.

Macías J, Palacios RB, Claro E, Vargas J, Vergara S, Mira JA, Merchante N, Corzo JE, Pineda JA 2008. High prevalence of hepatitis C virus infection among noninjecting drug users: association with sharing the inhalation implements of crack. *Liver Int* 28:781-786.

Maheshwari A, Ray S, Thuluvath PJ 2008. Acute hepatitis C. *Lancet* 372:321-332.

March JC, Oviedo-Joekes E, Romero M 2006. Drugs and social exclusion in ten European cities. *Eur Addict Res* 12:33-41.

Marchesini AM, Prá-Baldi ZP, Mesquita F, Bueno R, Buchalla CM 2007. Hepatites B e C em usuários de drogas injetáveis vivendo com HIV em São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública* 41(Supl. 2):S57-S63.

Martinez A, Talal AH 2008. Noninjecting drug use: an under-appreciated risk factor for hepatitis C virus transmission. *Liver International* 28:757-760.

Martins RBM, Porto SOB, Vanderborcht BOM, Rouzere CD, Queiroz DAO, Cardoso DDP, Yoshida CFT 1995b. Prevalence of hepatitis C viral antibody among Brazilian children, adolescents, and street youths. *Am J Med Hyg* 53:654-655.

Martins RBM, Teles SA, Freitas NR, Motta-Castro ARC, Souto FJD, Mussi A, Amorim RMS, Martins CRF 2006. Distribution of hepatitis C virus genotypes among blood donors from mid-west region of Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 48(1):53-55.

Martins RBM, Vanderborght BOM, Rouzere CD, Santana CL, Santos CO, Mori DN 1994. Anti-HCV related to HCV PCR and risk factors analysis in a blood donor population of Central Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 36(6):501-506.

Martins RBM, Vanderborght BOM, Rouzere CD, Santana CL, Santos CO, Mori DN 1995a. Anti-HCV prevalence and risk factors analysis in pregnant women in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90:11.

Martins RBM, Vanderborght BOM, Yoshida CFT 1998. Hepatitis C virus genotypes among donors from different regions of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93:299-300.

Mast EE 2004. Mother-to-infant hepatitis C virus transmission and breastfeeding. *Adv Exp Med Biol* 554:211-216.

Mast EE, Hwang Lu-Yu, Seto D SY, Nolte FS, Nainan OV, Wurtzel H, Alter MJ 2005. Risk Factors for perinatal transmission of hepatitis C virus (HCV) and the natural history of HCV infection acquired in infancy. *JID* 192:1880-1889.

Mathei C, Wollants E, Verbeeck J, Van Ranst M, Robaey G, Van Damme P, Buntinx F 2005. Molecular epidemiology of hepatitis C among drug users in Flanders, Belgium: association of genotype with clinical parameters and with sex- and drug-related risk behaviours. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 24:514-522.

McHutchison JG, Poynard T 1999. Combination therapy with interferon plus ribavirin for the initial treatment of chronic hepatitis C. *Semin Liver Dis* 19 (Suppl.1):S57-S65.

McMahon JM, Simm M, Milano D, Clats M 2004. Detection of hepatitis C virus in the nasal secretions of a drug-user. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 3:6-10.

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

Mesquita F, Seibel S 2000. Consumo de drogas: desafios e perspectivas. São Paulo: Hucitec, 188 p. (Saúde Loucura [textos], (14).

Ministério da Saúde 1993. Portaria n 1376, de 19 de novembro de 1993. Diário Oficial da União, Brasília, Brasil.

Ministério da Saúde 2004. Portaria n. 112. *Diário Oficial da União*. Brasília, Brasil.

Ministério da Saúde 2005. Portaria nº 1.028/GM, 1º de julho de 2005. Disponível em: <http://saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2005/GM/GM-1028.htm>. Acessado em 05 de julho de 2008.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria n. 34 de 28 de setembro de 2007. Dispõe sobre protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite viral C. Brasília, Brasil.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação Nacional de DST e Aids 2003. A contribuição dos Estudos Multicêntricos frente à Epidemia de HIV/Aids entre UDI no Brasil: 10 anos de pesquisa e redução de danos, 114pg.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica 2008. Hepatites virais : o Brasil está atento/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 3. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 60 pg.: il. – (Série B. Textos Básicos de Saúde).

Modi AA, Liang TJ 2008. Hepatitis C: a clinical review. *Oral Dis* 14:10-14.

Mohamed MK, Abdel-Hamid M, Mikhail NN, Abdel-Aziz F, Medhat A, Magder LS, Fix AD, Strickland 2005. Intrafamilial transmission of hepatitis C in Egypt. *Hepatology* 42(3):683-687.

Mondelli MU, Cerino A, Cividini A 2005. Acute hepatitis C: diagnosis and management. *J Hepatol* 42(Suppl.9):S108-S114.

Monsalve-Castillo F, Gómez-Gamboa L, Albillos A, Álvarez-Mon M, Costa-León L, Araújo SM, Porto-Espinoza L, García Pavón M 2007. Virus de hepatitis C en poblaciones de riesgo a adquirir la infección. Venezuela. *Rev Esp Enferm Dig* (Madrid) 99(6):315-319.

Moreno-Otero R 2005. Therapeutic modalities in hepatitis C: challenges development. *J Viral Hepatitis* 12:10-19.

Morice Y, Roulot D, Grando Stirnemann J, Gault E, Jeantils V, Bentata M, Jarrouse B, Lortholary O, Pallier C, Dény P 2001. Analyses confirm high prevalence of hepatitis C virus (HCV) type 4 in the Seine-Saint-Denis district (France) and indicate seven different HCV- 4 subtypes linked to two different epidemiological patterns. *J Gen Virology* 82:1001-1012.

Munoz Espinosa LE 2002. Diagnosis of hepatitis C virus infection. *Rev Gastroenterol Mex* 67:29-35.

Murril CS, Weeks H, Castrucci BC, Weinstock HS, Bell P, Spruil C, Gwinn M 2002. Age-specific seroprevalence of HIV, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infection among injection drug users admitted to drug treatment in 6 Us cities. *Am J Public Health* 92:385-387.

Mussi AD, Pereira RA, Corrêa e Silva VA, Martins RM, Souto FJ 2007. Epidemiological aspects of hepatitis C virus infection among HIV-infected individuals in Mato Grosso State, Central Brazil. *Acta Trop* 104:116-121.

Nakano T, Lu L, Liu P, Pybus OG 2004. Viral gene sequences reveal the variable history of hepatitis C virus infection among countries. *J Inf Dis* 190:1098-1108.

Nardi HC, Rigoni RQ 2005. Marginalidade ou cidadania? A rede discursiva que configura o trabalho dos redutores de danos *Psicologia em Estudo*, Maringá 10(2):273-282.

Neiagus A, Gyarmathy VA, Miller M, Frajzyngier V, Zhao M, Friedman SR, Des Jarlais DC 2007. Injecting and sexual risk correlates of HBV and HCV seroprevalence among new drug injectors. *Drug Alcohol Depend* 89:234-243.

Nomura-Takigawa Y, Nagano-Fujii M, Deng L, Kitazawa S, Ishido S, Sada K, Hotta H 2006. Non-structural protein 4A of Hepatitis C virus accumulates on mitochondria and renders the cells prone to undergoing mitochondria-mediated apoptosis. *J Gen Virol* 87:1935-1945.

Noto A R, Formigoni MLOS 2002. A Política de Saúde Pública no Brasil. *Ciência Hoje* 31(181):45-47.

Noto AR, Galduróz JCE 1999. O uso de drogas psicotrópicas e a prevenção no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva* 4(1):145-151.

Nunes CLX, Andrade T, Galvão-Castro B, Bastos FI, Reingold A 2007. Assessing risk behaviors and prevalence of sexually transmitted and blood-borne infections among female crack cocaine users in Salvador-Bahia, Brazil. *BJID* 11(6):561-566.

Okuda M, Li K, Beard MR, Showalter LA, Scholle F, Lemon SM, Weinman AS 2002. Mitochondrial injury, oxidative stress and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology* 122:366-375.

Okura I, Horiike H, Michitaka K, Onji M 2004. Effect of mutation in the hepatitis C virus nonstructural 5B region on HCV replication. *J Gastroenterol* 39:449-454.

Oliveira MLA 2008. Aspectos epidemiológicos e moleculares da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) entre usuários de drogas injetáveis: achados de dois estudos seccionais (1994-1997 e 1999-2001). Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação do Instituto Oswaldo Cruz 174p.

Oliveira MLA, Hacker MA, Oliveira SAN, Telles PR, Rodrigues do Ó KM, Yoshida CFT, Bastos FI 2006. "The first shot": the context of first injection of illicit drugs, ongoing injecting practices, and hepatitis C infection in Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro 22(4):861-870.

Oliveira UB 2007. Hepatitis C virus perinatal transmission in Consensus of the Brazilian Society of Infectious Diseases on the management and treatment of hepatitis C. *BJID* 11(Suppl.1):S10-S11.

Oliveira YC 2006. A clínica terapêutica ocupacional com usuários de substâncias psicoativas: o desafio da práxis. *RBPS* 19(4):229-233.

Op de Beeck A, Cocquereel L, Dubuisson J 2001. Biogenesis of hepatitis C virus envelope glycoproteins. *J Gen Virol* 82:2589-2595.

Orione MAM, Assis SB, Souto FJD 2006. Perfil epidemiológico de puérperas e prevalência de anticorpos para infecção pelo HIV e vírus da hepatite C em Cuiabá, Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop* 39(2):163-168.

Pavlovic D, Neville DCA, Argaud O, Blumberg B, Raymond AD, Fischer WB, Zitzmann N 2003. The hepatitis C virus p7 protein forms an ion channel that is inhibited by long-alkyl-chain iminosugar derivatives. *PNAS* 100:6104-6108.

Pawlotsky JM 2002. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology* 36(Suppl.1):S65-S73.

Pawlotsky JM 2003. Use and interpretation of hepatitis C virus diagnostic assays. *Clin Liver Dis* 7:127-137.

Pearlman BL 2004. Hepatitis C treatment update. *Am J Med* 117:344-350.

Pechansky F 2001. Modelo teórico de exposição a risco para transmissão do vírus HIV em usuários de drogas. *Rev Bras Psiquiatr* 23(1):41-47.

Pechansky F, Inciardi JA, Surrat H, Lima AFBS, Kessler FP, Soibelman M, Hirakata V 2000. Estudo sobre características de usuários de drogas injetáveis que buscam atendimento em Porto Alegre, RS. *Rev Bras Psiquiatr* 22(4):164-171.

Pechansky F, Von Diemen L, Inciardi JA, Surratt H, De Boni R. 2004. Risk factors for HIV transmission in drug users from Porto Alegre, Rio Grande do Sul State, Brazil. *Cad Saúde Pública* 20:1651-1660.

Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural biology of hepatitis C virus. *Hepatology* 2004;39(1):5-19.

Pereira GA, Stefani MM, Martelli CM, Turchi MD, Siqueira EM, Carneiro MA, Martins RM 2006. Human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus co-infection and viral subtypes at an HIV testing center in Brazil. *J Med Virol* 78:719-723.

Pérez V 2007. Viral hepatitis: historical perspectives from the 20th to the 21st century. *Arch Med Res* 38:593-605.

Picchio GR, Bare PC, Descalzi VI, Bussy MV, Soria SM, Raffa MP, Mazzencio NE, Etchahun S, Camera JA, Mosier DE, Villamil FG 2006. High prevalence of infection with a single hepatitis C virus genotype in a small rural community of Argentina. *Liver Int* 26:660-665.

Polis CB, Shah SN, Johnson KE, Gupta A 2007. Impact of maternal HIV coinfection on the vertical transmission of hepatitis C virus: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 44(8):1123-1131.

Poynard T 2004. Treatment of hepatitis C virus: the first decade. *Semin Liver Dis* 24(Suppl.2):S19-S24.

Poynard T, Yuen MF, Ratziu V, Lai CL 2003. Viral hepatitis C. *Lancet* 362:2095-2100.

Prado KD 2007. Sexual Transmission in Consensus of the Brazilian Society of Infectious Diseases on the management and treatment of hepatitis C. *BJID* 11(Supl.1):S8-S9.

Prati D 2006. Transmission of hepatitis C virus by blood transfusions and other medical procedures: A global review. *J Hepatol* 45:607-616.

Pratta EMM, Santos MA 2006. Reflexões sobre as relações entre drogadição, adolescência e família: um estudo bibliográfico. *Estudos de Psicologia* 11(3):315-323.

Premkumar A, Wilson L, Ewart GD, Gage PW 2004. Cation-selective ions channels formed by p7 of hepatitis C virus are blocked by hexamethylene amiloride. *FEBS Lett* 557:99-103.

Prince AM, Brotman B, Grady GF, Kuhns WJ, Hazzi C, Levine RW, Millian SJ 1974. Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis-B virus. *Lancet* 2:241-246.

Quaglio GL, Lugoboni F, Pajusco B, Sati M, Talamini G, Lechi A, Mezzolani P, Des Jarlais DC 2003. Hepatitis c virus infection: prevalence, predictor variables and prevention opportunities among drug users in Italy. *JVH* 10:394-400.

Queiroz IS 2001. Os programas de redução de danos como espaços de exercício da cidadania dos usuários de drogas. *Psicologia: Ciência e Profissão* 21(4):2-15.

Rauch A, Rickenbach M, Weber R, Hirschel B, Tarr P R, Bucher HC, Vernazza P, Bernasconi E, Zinkernagel AS, Evison J, Furrer H 2005. Unsafe sex and increased incidence of hepatitis C virus infection among HIV-infected men who have sex with men: the swiss HIV cohort study. *Clin Infect Dis* 41(3):395-402.

Reiche EMV, Vogler IH, Morimoto HK, Bortoliero AL, Matsuo T, Yuahasi KK, Cancian SJ, Koguichi RS 2003. Evaluation of surrogate markers for human immunodeficiency virus infection among blood donors at the blood bank of "Hospital Universitário Regional Norte do Paraná", Londrina, PR, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 45(1):23-27.

Reyes JC, Colón M, Robles RR, Rios E, Matos TD, Negron J, Marrero CA, Calderón JM, Shepard E 2006. Prevalence and correlates of hepatitis C virus infection among street-Recruited injection drug users in San Juan, Puerto Rico. *J Urban Health* 83(6):1105-1113.

Ribeiro M, Dunn J, Sesso R, Dias AC, Laranjeira R 2006. Causes of death among crack cocaine users. *Rev Bras Psiquiatr* 28(3):196-202.

Roberts EA, Yeung L 2002. Maternal-infant transmission of hepatitis C infection. *Hepatology* 36(35):106-113.

Roccasecca R, Ansuini H, Vitelli A, Meola A, Scarselli E, Acali S, Pezzanera M, Ercole BB, McKeating J, Yagnik A, Lahm A, Tramontano A, Cortese R, Nicosia A 2003. Binding of the hepatitis C virus E2 glycoprotein to CD81 is strain specific and is modulated by a complex interplay between hypervariable regions 1 and 2. *J Virol* 77(3):1856-1867.

Rocha-Perugini V, Montpellier C, Delgrange D, Wychowski C, Helle F, Pillez A, Drobecq H, Le Naour F, Charrin S, Levy S, Rubinstein E, Dubuisson J, Cocquerel L 2008. The CD81 partner EWI-2wint inhibits hepatitis C virus entry. *PLoS ONE* 3(4):e1866.

Rodés J, Tapias JMS 2000. Hepatitis C. *Nephrol Dial Transplant* 15:2-11.

Roingard P, Hourieux C 2008. Hepatitis C virus core protein, lipid droplets and steatosis. *J Viral Hepat* 15:157-161.

Roingard P, Hourieux C, Blanchard E, Brand D, Ait-Goughoulte M 2004. Hepatitis C virus ultrastructure and morphogenesis. *Biology of the Cell* 96:103-108.

Romero-Gómez M, García-Romero D 2008. Hepatitis C: cryoglobulinemia and non-Hodgkin lymphoma. *Rev Esp Enferm Dig* 100(3):164-170.

Rosa H, Martins R, Vanderborght B 1996. Short report: association between leprosy and hepatitis C infection: a survey in a region of central Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 55(1):22-23.

Rosini N, Mousse D, Spada C, Treitinger A 2003. Seroprevalence of HBsAg, anti-HBc and anti-HCV in Southern Brazil, 1999-2001. *Braz J Infect Dis* 7(4):262-267.

Rossi D, Radulich G, Muzzio E, Naveira J, Sosa-Estani S, Rey J, Griemberg G, Friedman SR, Martínez-Peralta L, Weissenbacher M 2008. Multiple infections and associated risk factors among non-injecting cocaine users in Argentina. *Cad Saúde Pública* 24(5):965-974.

Roy E, Nancy H, Leclerc P, Boivin JF, Cédras L, Vincelette J 2001. Risk factors for hepatitis C virus infection among street youths. *CMAJ* 165(5):557-560.

Sáez-López A & Agüero-Balbín J 2006. Resistencias a los antivirales en los virus de las hepatitis B Y C. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 24(9):576-584.

Sakai A, Claire MS, Faulk K, Govindarajan S, Emerson SU, Purcell RH, Bukh J 2003. The p7 polypeptide of hepatitis C virus is critical for infectivity and contains functionally important genotype-specific sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 100(20):11646-11651.

Saldanha J, Lelie N, Heath A 1999. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology (NAT) assays for HCV RNA. *Vox Sang* 76:149-158.

Salles NA, Sabino EC, Barreto CC, Barreto AM, Otani MM, Chamone DF 2003. 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* 13(2-3):111-116.

Sanchez ZvdM, Nappo SA 2002. Sequência de drogas consumidas por usuários de crack e fatores interferentes. *Rev Saúde Pública* 36(4):420-430.

Sandres-Sauné K, Deny P, Pasquier C, Thibaut V, Duverlie G, Izopet J 2003. Determining hepatitis C genotype by analyzing the sequence of the NS5b region. *J Virol Methods* 109:187-193.

Santibanez SS, Garfein RS, Swartzendruber A, Kerndt PR, Morse E, Ompad D, Strathdee S, Williamsf LT, Friedmann SR, Ouellet LJ 2005. Prevalence and correlates of crack-cocaine injection among young injection drug users in the United States, 1997-1999. *Drug Alcohol Depend* 77(3):227-233.

Santos MAM, Souto FJD 2007. Infection by the hepatitis C virus in chronic renal failure patients undergoing hemodialysis in Mato Grosso state, Central Brazil: a cohort study. *BMC Public Health* 7:32-38.

Scheinmann R, Hagan H, Lelutiu Weinberger C, Stern R, Des Jarlais DC, Flom PL, Strauss S 2007. Non-injection drug use and hepatitis C virus: a systematic review. *Drug Alc Dep* 89(1):1-12.

Schmitz U, Tan SL 2008. NS5A – from obscurity to new target for HCV therapy. *Recent Patents Anti-Infect Drug Disc* 3(2):77-92.

Scott JD, Gretch DR 2007. Molecular diagnostics of hepatitis C infection. *Jama* 297(7):724-732.

Segurado AC, Braga P, Etzel A, Cardoso MRA 2004. Hepatitis C virus coinfection in a cohort of HIV-infected individuals from Santos, Brazil: Seroprevalence and associated factors. *AIDS Patient Care STDS* 18(3):135-143.

Senecal DL, Morelli J 2007. Hepatitis C virus infection: a current review. *JAAPA* 20(10):21-25.

Shapatava E, Kenrad NE, Tsertsvadze T, del Rio C 2006. Risk behaviors and HIV, hepatitis B, and hepatitis C seroprevalence among injection drug users in Georgia. *Drug Alcohol Depend* 82:35-38.

Shepard CW, Finelli L, Alter MJ 2005. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 5:558-567.

Shih JWK, Esteban Mur JI, Alter HJ 1986. Non-A, non-B hepatitis: advances and unfulfilled expectations of the first decade. *Prog Liver Dis* 8:433-452.

Shirin T, Ahmed T, Iqbal A, Islam M, Islam MN 2000. Prevalence and risk factors of hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus infections among drug addicts in Bangladesh. *J Health Popul Nutr* 18:145-150.

Silva MD, Rosseti MLR 2001. Hepatite C e testes diagnósticos. *Cad Farmácia* 17(2):111-115.

Silva, MBS 2005. Prevalência e genotipagem do vírus da hepatite C em usuários de droga intravenosa na cidade de Salvador-Bahia. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, 58p.

Simmonds P 2004. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus--15 years on. *J Gen Virol* 85(11):3173-3188.

Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, Halfon P, Inchauspé G, Kuiken C, Maertens G, Mizokami M, Murphy DG, Okamoto H, Pawlotsky JM, Penin F, Sablon E, Shin-I T, Stuyver LJ, Thiel HJ, Viazov S, Weiner AJ, Widell A 2005. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 42(4):962-973.

Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B Beall E, Yap PL, Kolberg J, Urdea MS 1993. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol* 74(Pt 11):2391-2399.

Soldera M, Dalgalarrrondo P, Filho HRC, Silva CAM 2004. Uso de drogas psicotrópicas por estudantes: prevalência e fatores sociais associados. *Rev Saúde Pública* 38(2):277-283.

Solowij N, Stephens RS, Roffman RA, Babor T, Kadden R, Miller M, Christiansen K, McRee B, Vendetti J 2002. Cognitive functioning of long-term heavy cannabis users seeking treatment. *JAMA* 287(9):1123-1131.

Song Y, Friebe P, Tzima E, Jünemann C, Bartenschlager R, Niepmann M 2006. The hepatitis C virus RNA 3'-untranslated region strongly enhances translation directed by the internal ribosome entry site. *J Virol* 80(23):11579-11588.

Souto FJ, da Silva AG, Yonamine F 2003. Risk of hepatitis C among Brazilian ex-soccer players. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98:1025-1026.

StGelais C, Tuthill TJ, Clarke DS, Rowlands DJ, Harris , Griffin S 2007. Inhibition of hepatitis C virus p7 membrane channels in a liposome-based assay system. *Antiviral Research* 76:48-58.

Strauss SM, Astone-Twerell J, Munoz-Plaza CE, Des Jarlais DC, Gwadz M, Hagan H, Osborne A, Rosenblum A 2007. Drug treatment program patients' hepatitis C virus (HCV) education needs and their use of available HCV education services. *BMC Health Services Research* 7:39-49.

Stuyver L, Claeys H, Wyseur A, Van Arnhem W, De Beenhouwer H, Uytendaele S, Beckers J, Matthijs D, Leroux-Roels G, Maertens G, De Paepe M 1996. Hepatitis C virus in a hemodialysis unit: molecular evidence for nosocomial transmission. *Kidney Int* 49:889-895.

Suzuki R, Suzuki T, Ishii K, Matsuura Y, Miyamura T 1999. Processing and functions of hepatitis C virus proteins. *Intervirology* 42:145-152.

Suzuki T, Aizaki H, Murakami K, Shoji I, Wakita T 2007. Molecular biology of hepatitis C virus. *J Gastroenterol* 42:411-423.

Sy T & Jamal MM 2006. Epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci* 3:41-46.

Sylvestre D 2006. Hepatitis C treatment in drug users: perception versus evidence. *E J Gastroenterol & Hepatol* 18(2):129-130.

Tahan V, Karaca C, Yildirim B, Bozbas A, Ozaras R, Demir K, Avsar E, Mert A, Besisik F, Kaymakoglu S, Senturk H, Cakaloglu Y, Kalayci C, Okten A Tozun N 2005. Sexual transmission of HCV between spouses. *Am J Gastroenterol* 100:821-824.

Takikawa S, Ishii K, Aizaki H, Suzuki T, Asakura H, Matsuura Y, Miyamura T 2000. Cell fusion activity of hepatitis C virus envelope proteins. *J Virol* 34(11):5066-5074.

Tavares BF, Jorge, Béria JU, Lima MS 2001. Prevalência do uso de drogas e desempenho escolar entre adolescentes . *Rev Saúde Pública* 35(2):150-158.

Tavares BF, Jorge, Béria JU, Lima MS 2004. Fatores associados ao uso de drogas entre adolescentes escolares. *Rev Saúde Pública* 38(6):787-796.

Taylor DR, Tian B, Romano PR, Hinnebusch AG, Lai MM, Mathews MB 2001. Hepatitis C virus envelope protein E2 does not inhibit PKR by simple competition with autophosphorylation sites in the RNA-binding domain. *J. Virol* 75:1265–1273.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 25:4876-4882.

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

Thorpe LE, Quillet LJ, Heshow R, Bailey SL, Williams IT, Williamson J, Monterroso ER, Garfein RS. 2002. Risk of hepatitis C infection among young adult injection drug users who share injection equipment. *Am J Epidemiol* 155:645-653.

Timm J, Roggendorf M 2007. Sequence diversity of hepatitis C virus: implications for immune control and therapy. *World J Gastroenterol* 13:4808-4817.

Torres-Puente M, Cuevas JM, Jiménez-Hernández N, Bracho MA, García-Robles I, Wrobel B, Carnicer F, del Olmo J, Ortega E, Moya A, González-Candelas F 2008. Using evolutionary tools to refine the new hypervariable region 3 within the envelope 2 protein of hepatitis C virus. *Infect Genet Evol* 8(1):74-82.

Tortu S, McMahon JM, Pouget ER, Hamid R 2004. Sharing of noninjection drug-use implements as a risk factor for hepatitis C. *Subst Use Misuse* 39:211-224.

Troesch M, Meunier I, Lapierre P, Lapointe N, Alvarez F, Boucher M, Soudeyins H 2006. Study of a novel hypervariable region in hepatitis C virus (HCV) E2 envelope glycoprotein. *Virology* 352(2):357-367.

Turchi MD 2000. Perfil de risco e estimativa de ocorrência de infecções de transmissão sanguínea ou sexual-HIV, hepatite B, hepatite C, HTLV-I/II e sífilis entre usuários de cocaína, em São Paulo. Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina, 152p.

Turchi MD, Martelli C, Oliveira R, Silva F, Aires R, Bariam B, Souto F, Fontes J, Azevedo e Silva V, Aguiar J 2007. Population based hepatitis A, B e C serosurvey and genotypes in Central West region of Brazil. *Tropical Medicine and International Health* 12(Suppl.1):S141.

UNODC 2008. Nações Unidas. Office on drugs and crime. World drug report. Disponível em: [http:// www.Unodc. Org/Unodc/world drug report.pdf](http://www.Unodc.Org/Unodc/world%20drug%20report.pdf). Acessado em 22 de julho, 2008.

Valente VBDI, Covas DT, Passos ADC 2005. Hepatitis B and C serologic markers in blood donors of the Ribeirão Preto Blood Center. *Rev Soc Bras Med Trop* 38(6):488-492.

Van Asten L, Verhaest I, Lamzira S, Hernandez-Aguado I, Zangerle R, Boufassa F, Rezza G, Broers B, Robertson JR, Brettle RP, McMenemy J, Prins M, Cochrane A, Simmonds P, Coutinho RA, Bruisten S 2004. Spread of hepatitis C virus among European injection drug users infected with HIV: a phylogenetic analysis. *J Infect Dis* 189:292-302.

Van de Laar TJW, Van der Bij AK, Prins M, Bruisten SM, Brinkman K, Ruys TA, van der Meer JTM, Vries HJC, Mulder J-W, van Agtmael M, Jurriaans S, Wolthers KC, Coutinho RA 2007. Increase in HCV incidence among men who have sex with men in Amsterdam most likely caused by sexual transmission. *JID* 196:230-238.

Vandelli C, Renzo F, Romanò L, Tisminetzky S, De Palma M, Stroffolini T, Ventura E, Zanetti A 2004. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-Year prospective follow-Up study. *Am J Gastroenterol* 99(5):855-859.

Veillon P, Payan C, Le Guillou-Guillemette H, Gaudy C, Lunel F 2007. Quasispecies evolution in NS5A region of hepatitis C virus genotype 1b during

interferon or combined interferon-ribavirin therapy. *World J Gastroenterol* 13(8): 1195-1203.

Walewski JL, Keller TR, Stump DD, Branch AD 2001. Evidence for a new hepatitis C virus antigen encoded in an overlapping reading frame. *RNA* 7:710-721.

Wasley A, Alter MJ 2000. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis* 20(1):91-96.

Weigand K, Stremmel W, Encke J 2007. Treatment of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 13(13):1897-1905.

Winslow M, Subramaniam M, Ng WL, Lee A, Song G, Chan YH 2007. Seroprevalence of hepatitis C in intravenous opioid users presenting in the early phase of injecting drug use in Singapore. *Singapore Med J* 48(6):504-508.

Wohnsland A, Hofmann WP, Sarrazin C 2007. Viral determinants of resistance to treatment in patients with hepatitis C. *Clin Microbiol Rev* 20:23-28.

Xia X, Luo J, Bai J, Yu R 2008. Epidemiology of hepatitis C virus infection among injection drug users in China: systematic review and meta-analysis. *Public Health*. 122(10):990-1003.

Xu Z, Choi J, Yen TSB, Lu W, Strohecker A, Govindarajan S, Chien D, Selby MJ, Ou J 2001. Synthesis of a novel hepatitis C virus protein by ribosomal frameshift. *EMBO J* 20(14):3840-3848.

Yen T, Keeffe EB, Ahmed A 2003. The epidemiology of hepatitis C virus infection. *J Clin Gastroenterol* 36(1):47-53.

Zarife MA, Silva LK, Silva MB, Lopes GB, Barreto ML, Teixeira MG, Dourado I, Reis MG 2006. Prevalence of hepatitis C virus infection in north-eastern Brazil: a population-based study. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 100:663-668.

Zein NN 2000. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev* 13(2):223-235.

Zignego AL, Ferri C, Pileri SA, Caini P, Bianchi FB 2007. Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection: a general overview and guidelines for a clinical approach. *Dig Liver Dis* 39(1):2-17.

Zoulim F, Chevallier M, Maynard M, Trepo C 2003. Clinical consequences of hepatitis C virus infection. *Rev Med Virol* 13:57-68.