

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Programa de Pós-Graduação *stricto sensu*
Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas

**“PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA A INFECCÃO PELO VÍRUS
HERPES SIMPLES TIPO-2 EM UMA COORTE DE HOMENS QUE FAZEM
SEXO COM HOMENS NO RIO DE JANEIRO”**

por

JUNIA RODRIGUES

**Dissertação de mestrado apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em
Ciências na área de Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas.**

**Orientadores: Dr(a). Beatriz Gilda Jegerhorn Grinsztejn
Dr. Francisco Inácio Pinkusfeld Monteiro Bastos**

Rio de Janeiro, abril de 2006

Dedico ao Helio Filho com amor

*Viver é afinar o instrumento
de dentro pra fora
de fora pra dentro
a toda hora
a todo momento
de dentro pra fora
de fora pra dentro
(Walter Franco)*

Rodrigues, Junia

**Prevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpes simples vírus tipo-2 em uma coorte de homens que fazem sexo com homens no Rio de Janeiro / Junia Rodrigues. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, 2006
xii, 119p.**

Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, 2006.

**1. Prevalência. 2. Doenças Sexualmente Transmissíveis
3. Fatores de risco 4. Vírus Herpes simplex 5. Vírus Herpes Simples 6.
Infecção pelo HSV-2
Dissertação. I. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz.
II. Título**

RESUMO

Introdução: O HSV-2 é a principal causa de herpes genital, sendo a maior parte destas infecções assintomática. A infecção pelo HSV-2 pode ser um fator de risco para a aquisição e transmissão de outras DST, inclusive da infecção causada pelo HIV.

Objetivo: Estimar a prevalência e identificar os fatores de risco associados à infecção pelo HSV-2 em uma coorte de homens que fazem sexo com homens da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

Métodos: Estudo transversal, com avaliação de dados sócio-demográficos, comportamentais e laboratoriais referentes à linha de base de 403 voluntários incluídos na referida coorte, no período de 1994-1998. As amostras foram testadas através do ELISA para detecção de anticorpos tipo-específicos contra a gG2 do HSV-2 (HerpeSelect - *Focus Technologies*).

Resultados: A prevalência para anticorpos anti-HSV-2 encontrada nesta população foi de 65,2%. Após análise multivariada, os fatores que se mostraram independentemente associados à infecção pelo HSV-2 foram idade mais elevada (≥ 26 anos), raça não branca, ter sorologia positiva para sífilis (TPHA), ter feito sexo desprotegido com parceria sexual masculina e ter feito sexo desprotegido com parceria sexual feminina nos seis meses que antecederam a visita.

Conclusão: Este estudo mostra uma elevada prevalência da infecção pelo HSV-2 neste grupo e associação dessa infecção com outras DST, em concordância com outros estudos. Estes dados podem ter uma importante contribuição no sentido de avaliar estratégias que possam contribuir para a prevenção desta infecção na população de homens que fazem sexo com homens, que é tida como uma população vulnerável e central à dinâmica da disseminação do HSV-2 em todo o mundo.

Palavras-chave: prevalência - doenças sexualmente transmissíveis – fatores de risco – vírus herpes simplex – infecção pelo HSV-2

ABSTRACT

Introduction: HSV-2 is the primary cause of genital herpes and most of the infections are asymptomatic. The infection by HSV-2 may be a risk factor to acquisition and transmission of other sexually transmitted diseases (STD), including infection by HIV virus.

Objective: Estimate the prevalence and identify the risk factors associated of infection by HSV-2 in a cohort of men who have sex with men (MSM) in *Fundação Oswaldo Cruz* [Oswaldo Cruz Foundation], Rio de Janeiro, Brazil.

Methods: Cross-sectional study, evaluating sociodemographic, behavioral, and laboratorial data from baseline of 403 volunteers included in this cohort, in the period of 1994-1998. The samples were tested by ELISA to detect type-specific antibodies against HSV-2 gG2 (HerpeSelect - Focus Technologies).

Results: The prevalence to antibodies anti-HV2-2 observed in this population was 65.2%. After multivariate analysis, the factors independently associated to HSV-2 infection were older age (≥ 26 years), non-white race, positive serology for syphilis (TPHA), history of unprotected sex with male partners and history of unprotected sex with female partners in the last six months before the visit.

Conclusion: This study shows a high prevalence of HSV-2 infection in this group and association with other STD, consistent with other studies. This data may have a significant contribution to evaluate strategies that may contribute to prevent this infection among MSM, as this is considered a vulnerable core-population to the dynamics of HSV-2 spreading all over the world.

Key-words: prevalence – sexually transmitted diseases – risk factors – herpes simplex virus – HSV-2 Brazil

AGRADEÇO

A Deus que é o todo.

Aos meus pais Jorge e Zahir, por me apoiarem e amarem incondicionalmente e por me perdoarem a ausência pela vida afora.

Aos meus avós queridos.

Às minhas irmãs Samira e Cristina pelo apoio, orações, esperança e por terem me dado sobrinhos lindos – Gabriela, Matheus e Isabela.

À minha orientadora Beatriz Grinsztejn pela confiança, incentivo e por estar sempre me ajudando a ser uma pessoa melhor.

Ao meu orientador Francisco Inácio Bastos pela disponibilidade e paciência.

Aos professores da pós-graduação que contribuíram para mais uma etapa da minha formação e para que este trabalho fosse realizado.

Ao Beto meu amigo querido, companheiro, que me ajudou tanto com sua presença firme e solidária.

Aos meus colegas e amigos que atenderam meus pacientes enquanto estive ausente.

Aos amigos dos Ensaios clínicos pelo apoio sempre.

Ao Carlos Alberto ‘Betinho’ da Silva pelo coração sempre disposto a ajudar.

À Luciane Velasque e João que foram fundamentais neste processo.

Agradeço à Carla Vorsatz pelo carinho na ajuda com as referências bibliográficas e *abstract*.

À equipe do Laboratório de Imunologia do IPEC pela realização dos exames. Em especial à Ingebourg Georg pela presença amiga e generosidade espontânea.

À Michelle Sampaio pelo carinho e competência com que fez a formatação do texto.

À Claudia Teresa V. de Souza do Setor de Epidemiologia do IPEC pelas orientações e disponibilidade.

À Mônica Derrico pela ajuda com o banco.

SUMÁRIO DE QUADROS E TABELAS

<u>Quadro 1: Classificação das subfamílias dos herpesvírus. Modificado de Tulane University, New Orleans.</u>	5
---	---

Tabela 1: Dados sócio-demográficos e prevalência da infecção pelo HSV-2 por estrato, em uma coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro, 1994 - 1998...	66
---	----

Tabela 2: Características comportamentais de uma coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro, 1994-1998	68
---	----

Tabela 3: Prevalência sorológica de outras Doenças Sexualmente Transmissíveis numa coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro, 1994-1998.....	70
--	----

Tabela 4: Fatores associados à infecção pelo HSV-2 em uma coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro 1994-1998.....	72
--	----

Tabela 5: Fatores de risco independentemente associados à infecção pelo HSV 2 numa coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro 1994-1998.....	74
---	----

SUMÁRIO DE FIGURAS

<u>Figura 1: Estrutura dos herpesvírus</u>	6
<u>Figura 2: Soroprevalência do HSV-2, considerando idade e raça em NHANES II (1976-1980) e NHANES III (1988-1994). Fleming, 1997</u>	14
<u>Figura 3: A) Herpes Genital no pênis; B) Vulvo-vaginite herpética - Fonte: Ministério da Saúde</u>	23
<u>Figura 4: Teste POCKit™ HSV-2 - <i>Diagnology</i></u>	36
<u>Figura 5: Teste HerpeSelect™- ELISA 1 IgG ou HerpeSelect™- ELISA –2 IgG - <i>Focus Technology</i></u>	37

SUMÁRIO DE ANEXOS

<u>Anexo 1: Termo de Confidencialidade</u>	<u>119</u>
<u>Tabela 2: Questionário sócio-comportamental</u>	120

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
2.1	Etiologia	4
2.2	Classificação dos herpesvírus	4
2.3	Replicação viral do Herpes Simplex	7
2.4	Patogenia e Transmissão da infecção pelo HSV	8
2.5	Epidemiologia do Vírus Herpes Simplex Tipo 2	12
2.6	Manifestações clínicas da infecção pelo Vírus Herpes Simplex (HSV) 19	
2.6.1	Infecção primária pelo HSV	20
2.6.1.1	Infecção de orofaringe	20
2.6.1.2	Infecção oftálmica	21
2.6.1.3	Infecção genital	21
2.6.1.4	Infecção cutânea	23
2.6.1.5	Infecção anal e perianal	23
2.6.2	Infecções recorrentes pelo HSV	24
2.6.3	Condições especiais	26
2.6.3.1	Encefalite Herpética	26
2.6.3.2	Infecção neonatal	26
2.6.3.3	Infecção pelo HSV em pacientes imunocomprometidos	27
2.7	Diagnóstico do Herpes Genital	28
2.7.1	Diagnóstico Clínico do herpes genital	28
2.7.2	Diagnóstico Laboratorial do Herpes	29
2.7.2.1	Deteção direta do HSV	30
2.7.2.2	Citopatologia (Método de Tzanck)	30
2.7.2.3	Testes virológicos	31
2.7.2.4	Testes para deteção de antígenos para o HSV	31
2.7.2.5	Hibridização do DNA-HSV	32
2.7.2.6	Análise RFLP do DNA-HSV	33
2.7.2.7	Microscopia eletrônica	33
2.7.2.8	Testes para a deteção de anticorpos para o HSV – Sorologia anti-HSV	33
2.7.2.8.1	Sorologia não tipo-específica	33
2.7.2.8.2	Testes sorológicos tipo-específicos para o HSV	34
2.8	Aspectos Associados à co-Infecção HIV-HSV-2	38
3	OBJETIVOS	48
4	MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1	Desenho do Estudo	49
4.2	Sobre a Coorte (Projeto Rio)	49
4.2.1	População do Estudo	50

4.2.2	Critérios de inclusão da coorte (Projeto Rio)	50
4.2.3	Objetivo da realização da coorte (Projeto Rio)	51
4.2.4	Procedimentos da coorte (Projeto Rio)	51
4.2.4.1	Recrutamento	51
4.2.4.2	Visitas	51
4.2.4.3	Coleta de dados	52
4.2.4.4	Exames laboratoriais realizados no âmbito do Projeto Rio	53
4.3	Análise estatística	55
4.4	Cálculo amostral	55
4.5	Descrição das variáveis utilizadas	57
4.6	Avaliação Laboratorial	60
4.6.1	Princípios do teste sorológico para o HSV-2	61
4.6.2	Material fornecido	61
4.6.3	Interpretação dos resultados	62
4.6.4	Controle de qualidade	62
4.6.5	Limitações da sorologia utilizada	62
4.7	Pesquisa bibliográfica	63
5	ASPECTOS ÉTICOS	64
6	RESULTADOS	65
6.1	Dados sócio-demográficos	65
6.2	Perfil comportamental	67
6.3	Dados laboratoriais	70
6.4	Análise bivariada	71
6.5	Fatores de risco independentemente associados à presença de anticorpos para o HSV-2 (Análise multivariada)	73
7	DISCUSSÃO	75
7.1	Limitações do estudo	81
8	CONCLUSÕES	82
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

1 INTRODUÇÃO

Globalmente, o controle das doenças sexualmente transmissíveis (DST) tornou-se uma prioridade em decorrência da pandemia de HIV/Aids (Vírus da imunodeficiência humana/Síndrome da imunodeficiência adquirida).

A OMS (Organização Mundial de Saúde) estimou para o Brasil a ocorrência de mais de 12 milhões de novos casos de algumas das DST curáveis.

Dentre as estratégias eficientes para controle das DST encontram-se os programas de prevenção, uma rede de serviços resolutivos, um sistema de vigilância epidemiológica, a determinação de fatores de risco para estas doenças (Simões et al., 2002) e o adequado acolhimento e aconselhamento dos portadores de DST e de seus parceiros sexuais.

O vírus *Herpes simplex* do tipo 2 (HSV-2) é a principal causa de doença genital ulcerada em todo o mundo e o principal agente etiológico do herpes genital (Corey & Wald, 1999). Apesar do HSV-2 causar vesículas e úlceras ano-genitais, que podem ser severas e recorrentes, a maior parte destas infecções genitais é assintomática (Singh et al., 2005; Wald & Corey, 2003; Wald & Link, 2002; Gottlieb et al., 2002; Marques & Straus, 2000; Fleming et al., 1999; Carvalho et al., 1998; Fleming et al., 1997; Corey, 1994; Siegel et al., 1992; Koutsky et al., 1992; Koutsky et al., 1990; Breinig et al., 1990; Mertz et al., 1985) e podem apresentar eliminação viral genital intermitente (Leone, 2004). A transmissão do HSV-2 para o parceiro sexual pode ocorrer dentro de todo o espectro clínico desta infecção: na presença de manifestações clínicas, nos episódios subclínicos e mesmo nos períodos de excreção viral assintomática (Wald et al., 1995).

Há evidências que o HSV-2 facilita a aquisição e a transmissão do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), o que torna a patogênese e a epidemiologia do HSV-2 mais relevantes (Rodriguez et al., 2003; Celum et al., 2004; Buve et al., 2001; Wald &

Link, 2002). O HSV-2 pode aumentar o risco de aquisição e transmissão do HIV através da quebra de barreira mecânica à infecção, pelo processo inflamatório e consequente aumento do número de células-alvo do HIV nas lesões e pelo aumento da expressão do HIV na mucosa genital (Cohen, 2004). Além disso, reativações subclínicas podem elevar o nível sérico de HIV (Corey et al., 2004). A infecção pelo HIV pode dificultar o diagnóstico do HSV por alterar sua história natural e apresentação clínica (Wu, 2004).

Dados sobre a soroprevalência do HSV-2 ainda são limitados quando comparados às outras doenças sexualmente transmissíveis, principalmente em países em desenvolvimento. A maior parte dos dados é proveniente de populações de mulheres ou de indivíduos atendidos em clínicas de doenças sexualmente transmissíveis. Essas populações podem ser consideradas de maior risco para a infecção pelo HSV-2 e pelo HIV do que a população geral (Smith et al., 2001).

Entre homens que fazem sexo com homens, a prevalência do HSV-2 pode chegar a 80% naqueles com infecção pelo HIV (Langenberg, 1989) e a 50% naqueles sem infecção pelo HIV (Mertz et al., 1985).

A maior prevalência do HSV-2 tem sido relacionada a fatores demográficos e epidemiológicos, como idade, sexo, raça e número de parceiros ao longo da vida. Os fatores de risco mais consistentes para a aquisição do HSV-2 são ser do sexo feminino (Singh et al., 2005; Corey et al., 2004; Del Mar et al., 2002; Gottlieb et al., 2002; Wald et al., 2001; Fleming et al., 1997), idade mais elevada (Rodriguez et al., 2003; Reynolds et al., 2003; Del Mar et al., 2002; Gottlieb et al., 2002; Mihret et al., 2002; Weiss et al., 2001; Cusini et al., 2000; Conde-Glez et al., 1999; Halioua et al., 1999; Wald et al., 1997; Fleming et al., 1997; Cowan et al., 1994; Siegel et al., 1992; Mertz et al., 1992; Breinig et al., 1990), maior número de anos de atividade sexual (Gottlieb et al., 2002; Austin et al., 1999; Fleming et al., 1997; Gibson et al., 1990) e história de múltiplas parcerias (Rodriguez et al., 2003; Reynolds et al., 2003; Gottlieb et al., 2002; Mihret et al., 2002; Austin et al., 1999; Laar et al., 1998; Fleming et al., 1997; Cowan et al., 1994; Breinig et al., 1990; Oberle et al., 1989). Outros estudos relatam como relevantes o estado civil, baixo nível sócio-econômico (Buchacz et al., 2000; Fleming et al., 1997), menor nível de escolaridade (Gottlieb et al., 2002; Carvalho et al., 1998; Fleming et al., 1997; Breinig et al., 1990;

Siegel et al., 1992), uso de cocaína (Buchacz et al., 2000) e a presença de outras doenças sexualmente transmissíveis (Martinez et al., 2005; Singh et al., 2005; Gottlieb, 2002; Roest, 2001; Buchacz et al., 2000; Austin et al., 1999; Hashido, 1998; Laar et al., 1998; Da Rosa-Santos et al., 1996). Inversamente, o uso de preservativos mostrou ser fator de proteção em alguns estudos (Smith et al., 2001; Wald et al., 2001; Oberle et al., 1989), mas tem se mostrado uma questão ainda controversa.

A necessidade da prevenção e do controle da infecção herpética é uma preocupação crescente em saúde pública por ser uma doença infecto-contagiosa, por sua morbidade, por ser um fator que aumenta a possibilidade de transmissão e aquisição de outras DST, incluindo o HIV, assim como pelos custos que acarreta (Leone, 2004; Wasserheit, 1992).

A abordagem sindrômica e tratamento são algumas das estratégias de intervenção para algumas DST, inclusive a infecção pelo HSV-2, mas há poucos dados disponíveis que possam determinar se esta estratégia tem um impacto positivo em relação às DST incluídas nas síndromes (Simões, 2002). De algum modo, já que a maior parte das infecções herpéticas é assintomática, essa abordagem não se presta para solucionar o problema da maior parte dessas infecções.

Até o momento não há cura para a infecção genital pelo HSV-2, mas estratégias de tratamento estão disponíveis para aliviar os sintomas agudos dos surtos de herpes, suprimir as recorrências, reduzir as excreções assintomáticas e diminuir o risco de transmissão (Leone, 2004).

Poucos dados encontram-se disponíveis em nosso meio acerca da magnitude da infecção pelo HSV-2, principalmente em populações com risco acrescido para a infecção pelo HIV.

Na última década ocorreram progressos significativos em relação ao entendimento da infecção pelo HSV-2, em parte relacionados ao desenvolvimento de testes sorológicos com alta sensibilidade e especificidade (anticorpos tipo-específicos) (Singh, 2005). A utilização desses testes permite identificar pacientes infectados pelo HSV-2 mesmo que sem manifestação clínica do herpes genital (Wald et al., 2002).

O presente estudo se propõe a avaliar a prevalência e os fatores de risco associados à infecção pelo HSV-2 em uma população de homens que fazem sexo com homens (HSH)

no Rio de Janeiro. Foram avaliadas covariáveis sócio-demográficas, comportamentais e laboratoriais associadas à infecção pelo HSV-2.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Etiologia

O termo Herpes é uma corruptela do termo grego ‘Herpein’, que significa se arrastar, serpentear, em analogia à manifestação da doença na pele, com suas lesões formando um caminho irregular, como rastros de um animal se arrastando (ou serpenteando).

A lesão pelo vírus do herpes foi descrita pela primeira vez por Hipócrates. Em 1736, esta infecção foi reconhecida como uma entidade clínica por Jean Astruc, tendo sido identificada em 1883 sua ocorrência em concomitância a outras Doenças Sexualmente Transmissíveis. Em 1946, Slavin e Gavett isolaram o vírus herpes da genitália de pacientes com lesões genitais e, por volta de 1960, dois tipos de vírus foram, então, identificados com base em critérios biológicos e sorológicos (Halioua, 1999).

2.2 Classificação dos herpesvírus

Os vírus *Herpes simplex* tipo 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2, respectivamente) são vírus DNA da família *Herpesviridae*, a qual se divide em 03 subfamílias, com base na organização do seu genoma e homologia, na variedade dos seus hospedeiros e outras propriedades biológicas (Quadro I).

Quadro 1: Classificação das subfamílias dos herpesvírus. Modificado de Tulane University, New Orleans.

<i>Alphaherpesvirinae:</i>	
Vírus Herpes Simples	Herpesvírus humano 1 e 2 (HSV-1, HSV-2)
Vírus Varicela Zoster	Herpesvírus humano tipo 3(VZV)
Betaherpesvirinae:	
Citomegalovírus	Herpesvírus humano tipo 5 (CMV)
Muromegalovírus	Citomegalovirus 1 (de ratos)
Roseolovírus	Herpesvirus humano 6, 7 (HHV-6, HHV-7)
Gammaherpesvirinae:	
Linfocriptovírus	Herpesvírus humano 4 (EBV)
Rhadinovirus	Herpesvírus humano 8 (HHV-8)

Fonte: PubMed, 16 de fevereiro de 1999.
<http://www2.tulane.edu/>

Os herpesvírus possuem uma estrutura complexa. São partículas grandes (150 a 250 nm), constituídas por 4 elementos fundamentais: *core*, nucleocapsídeo, tegumento e envelope (Fields, 1996) - (Figura 1).

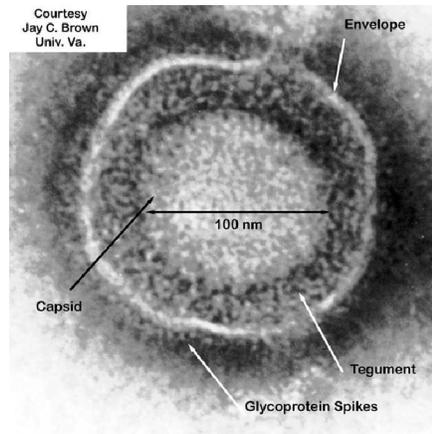


Figura 1: Estrutura dos herpesvírus.

Fonte: Brown J., Universidade de Virgínia – Estados Unidos. Disponível em <http://www.dbc.uci.edu>

As glicoproteínas do envelope possuem várias propriedades biológicas, algumas bem definidas e outras ainda obscuras. As glicoproteínas B e D dos Vírus *Herpes Simplex* 1 e 2 são responsáveis pela ligação e penetração do vírus nas células. Outras, como as glicoproteínas E, são receptores Fc do Complemento, enquanto as glicoproteínas C têm atividade de ligação da fração C3b do complemento. Não se sabe ao certo quais são os receptores de superfície celular aos quais as glicoproteínas dos herpesvírus têm de se ligar para iniciar a infecção, exceto para o vírus Epstein-Barr, que se liga ao receptor C3d do Complemento (Frade, 1985). As glicoproteínas H são necessárias para disseminar a infecção das células infectadas para as células contíguas não infectadas.

Todos os herpesvírus são morfologicamente semelhantes, possuindo um *core* interno contendo uma dupla fita de DNA. Apesar das semelhanças morfológicas, os herpesvírus possuem características biológicas e epidemiológicas distintas. Embora HSV-1 e HSV-2 sejam os dois herpesvírus mais estreitamente relacionados, ambos se distinguem, sorológica e geneticamente, além de determinarem quadros clínicos distintos.

Embora muitos DNA dos herpesvírus sejam organizados de forma semelhante, a maioria dos tipos virais mostra pouca homologia na seqüência de ácidos nucléicos. Para os herpesvírus 1 e 2, mais de 50% das suas seqüências de DNA não são homólogas, o que é suficiente para considerá-los tipos virais distintos.

Na medida em que os herpesvírus se disseminam na comunidade, mutações que não influenciam significativamente a virulência são gradualmente incorporadas às seqüências de DNA. Estas mutações podem ser detectadas por técnicas moleculares sensíveis. Uma cepa viral isolada de uma pessoa é indistinguível da cepa viral isolada da pessoa que transmitiu a infecção, ao passo que vírus isolados de pessoas que nunca estiveram em contato geralmente diferem entre si.

2.3 Replicação viral do *Herpes Simplex*

As primeiras etapas da replicação viral incluem ligação, fusão entre o envelope viral e a membrana celular para liberar o nucleocapsídeo no citoplasma da célula e desagregação do nucleocapsídeo para liberar o DNA viral. Após a fusão, várias proteínas virais são liberadas do vírion do HSV, e são imediatamente expressas. O ciclo inteiro de replicação leva 4-12 horas, dependendo do tipo de célula infectada. A maior parte das drogas anti-virais atuais interferem com as beta-proteínas, tais como a enzima DNA polimerase viral. Muitos dos beta-polipeptídeos são proteínas regulatórias e enzimas necessárias para a replicação do DNA.

O HSV é citopático para células que albergam seu ciclo de replicação completo. A infecção pelo HSV em algumas células neuronais, no entanto, não resulta em morte celular. Ao contrário, o genoma viral é mantido pelas células em um estado reprimido, compatível com a sobrevivência e atividades normais dessas células, condição esta conhecida como latência. Subseqüentemente, a ativação do genoma viral pode ocorrer, resultando no padrão normal de regulação da expressão de genes virais, replicação e liberação de HSV. A liberação do vírus do neurônio e sua entrada nas células epiteliais, em momento subseqüente, resultam na replicação viral. Esse processo é denominado reativação.

2.4 Patogenia e Transmissão da infecção pelo HSV

O vírus *Herpes simplex* (HSV) pode causar uma variedade de síndromes clínicas, tais como: gengivoestomatite, herpes labial, ceratoconjuntivite, herpes cutâneo, herpes genital, encefalite, meningite e herpes neonatal. A natureza e severidade da doença dependem de vários fatores, incluindo o sítio de inoculação, a idade e a imunidade do hospedeiro e variações genéticas relacionadas aos vírus ou ao hospedeiro infectado (Holmes et al., 1999).

A resposta imune a antígenos virais pode, em alguns casos, causar danos adicionais aos tecidos afetados. Reações imunopatológicas desta natureza parecem ser mais relevantes no caso da ceratite herpética, onde há dano tecidual profundo, mas provavelmente não são tão relevantes em lesões herpéticas de outra natureza ou mesmo na doença disseminada (Holmes et al., 1999).

A transmissão do HSV ocorre mais freqüentemente através do contato com pessoas com lesões cutâneas, em mucosa, através de secreção genital ou oral. O contato com lesão ulcerada é a via de transmissão mais comum, mas a transmissão também pode se dar através do contato com o paciente assintomático (Löwhagen et al., 1990).

O HSV é inativado em temperatura ambiente. Portanto, aerossóis e fômites não são meios usuais de transmissão. A infecção ocorre através da inoculação do vírus em superfície mucosa (por exemplo, orofaringe, cérvix, conjuntiva) ou na pele, através de pequenas soluções de continuidade (Holmes et al., 1999). Ao penetrar a pele, o HSV se replica localmente nas células epiteliais parabasais e intermediárias, resultando na lise de células infectadas e em resposta inflamatória local (Mandell, 2000). Clinicamente, observam-se vesículas em uma base inflamatória. Microscopicamente, a infecção pelo HSV está associada à necrose focal e degeneração balonizante das células, produção de células gigantes mononucleadas e inclusões intranucleares eosinofílicas. Durante a infecção inicial, o HSV pode se disseminar através de linfonodos regionais e da cadeia linfática, que drenam o sítio da infecção primária (Mandell, 2000; Holmes, 1999). A disseminação do vírus é limitada pela ativação de mecanismos imunes celulares e humorais (Holmes, 1999), provavelmente através da produção local de interferon.

Após a infecção primária, que pode ser sintomática ou assintomática, o HSV ascende ao longo da raiz de nervos sensitivos periféricos para a raiz dos gânglios sensitivos e autonômicos (dorsais). Evita, assim, a resposta imune (Mertz, 1993), estabelecendo a latência neuronal e a reativação viral intermitente, associada ou não a sintomas (Ho, 1992; Corey & Wald, 1990).

Em modelos animais, o HSV foi detectado em gânglio de nervos sensitivos dois dias após a infecção. Ocorre, a partir de então, replicação viral limitada no tecido neural, permitindo que os vírus migrem para axônios próximos aos locais de inoculação. Este fenômeno, associado à disseminação contígua do vírus nas células da epiderme e derme, pode explicar a extensa área afetada durante a infecção primária pelo HSV. Por fim, a resposta imune em indivíduos imunocompetentes controlará a replicação viral, permitindo a cicatrização das lesões (Holmes, 1999).

Durante a infecção latente nas células neurais, o DNA viral se mantém como um epissoma (não integrado), com limitada expressão de genes específicos dos vírus, sendo isto necessário para a manutenção da latência (Ho, 1993). A latência foi demonstrada nas raízes ganglionares dos nervos trigeminal, sacral e gânglio vagal. O HSV-2 e, mais raramente, o HSV-1, têm sido isolados nas raízes ganglionares dos nervos sacrais. Eventualmente, têm sido evidenciadas infecções cutâneas latentes. O mecanismo biológico pelo qual se estabelece a latência não está completamente elucidado. Evidências sugerem que todas as pessoas soropositivas para o HSV têm vírus latentes nos gânglios nervosos. Possivelmente, todas as pessoas soropositivas para o HSV-2 apresentam reativação intermitente da infecção, com excreção viral na superfície mucosa (Holmes, 1999). A intensidade dos sintomas associados à reativação é variada e pode estar relacionada à replicação do vírus, à virulência da cepa do HSV e à integridade do sistema imune do hospedeiro. A reativação e a replicação viral ocorrem periodicamente em pessoas assintomáticas e o HSV pode ser detectado mesmo na ausência de sinais e sintomas de doença. As reativações e a replicação de vírus latentes são espontâneas, mas podem ser induzidas por múltiplos estímulos, tais como febre, pneumonia pneumocócica, dano em nervos ou tecidos, estresse físico ou emocional, exposição ao calor, frio ou luz ultravioleta, imunossupressão, menstruação, infecções concomitantes, fadiga e intercurso sexual. Todos

esses fatores podem estar associados às recorrências, sendo isto verdadeiro tanto para a infecção pelo HSV-1 como pelo HSV-2 (Ho, 1992).

O HSV raramente causa doença grave ou disseminada em adultos, exceto quando há comprometimento da imunidade mediada por células. Isto sugere que os mecanismos de resposta imune celular são os mais relevantes para a prevenção da disseminação da infecção e controle da replicação viral. A resposta celular inicial é predominantemente constituída por polimorfonucleares, seguida de resposta linfocítica (Holmes, 1999). Entretanto, mecanismos imunes humorais parecem também desempenhar um papel importante no controle da infecção. As glicoproteínas expressas na superfície do envelope viral ou de células infectadas são alvos para anticorpos neutralizantes e anticorpos dependentes da citotoxicidade mediada por células, respectivamente. Além disso, anticorpos monoclonais contra glicoproteínas virais parecem proteger contra doença neurológica e prevenir a latência em modelos animais. O papel desses anticorpos em infecções humanas não está claro, mas a quantidade de anticorpos neutralizantes dependentes de anticorpos com citotoxicidade mediada por células tem relação inversa com a disseminação da doença em recém-nascidos. Curiosamente, em adultos, títulos elevados de anticorpos estão associados à elevada frequência e maior intensidade de doença recorrente, e parecem estar associados a uma infecção primária mais intensa. Infecções primárias mais intensas estão relacionadas a um aumento na frequência e intensidade de doenças recorrentes e, portanto, a estímulos antigênicos repetidos.

A imunidade mediada por células direcionada a células infectadas pelo HSV inclui células *Natural Killer*, linfócitos T ativados e macrófagos (Mandell, 2000). As citocinas liberadas pelos linfócitos podem ter uma atividade antiviral direta ou atuar na regulação de outros componentes da resposta imune do hospedeiro. Não está claro se as respostas imunes que controlam a doença localizada são as mesmas que previnem a doença disseminada (Holmes, 1999), podendo existir diferenças qualitativas e quantitativas nessas respostas. Além disso, características específicas das pessoas infectadas podem, pelo menos em parte, explicar diferenças observadas no âmbito das manifestações clínicas. Como os neurônios não expressam antígenos MHC de classe I e II, as células T podem não ser capazes de reconhecer neurônios infectados pelo HSV. Em células que expressam MHC de classe I, a

apresentação de peptídeos antigênicos para o MHC de classe I é inibida pela proteína viral ICP 47, através do bloqueio da translocação do peptídeo para o compartimento celular onde se ligam as moléculas de classe I.

Na tentativa de identificar antígenos do HSV que podem induzir a imunidade protetora em sistemas animais experimentais, foram avaliadas as glicoproteínas do envelope viral. Entretanto, como em muitas outras viroses, incluindo o CMV e HSV, células T citotóxicas podem reconhecer e eliminar células que expressam proteínas virais normalmente não expostas na superfície viral da célula. Isto decorre do fato de que células T reconhecem principalmente fragmentos de peptídeos de antígenos produzidos pelo processo catabólico e os apresentam na superfície celular em associação com moléculas MHC. Não se sabe ao certo que antígenos são mais relevantes na indução da resposta imune protetora mediada por células.

Apesar da habilidade do HSV de infectar muitos tipos de células, a doença pelo HSV se localizada freqüentemente na superfície de inoculação e gânglios sensitivos de nervos comunicantes desta região. Indubitavelmente, uma resposta imune efetiva é responsável, em parte, pela limitação da disseminação da infecção. Além disso, em adultos hígidos, barreiras não imunológicas evitam, ao menos parcialmente, a disseminação da infecção. Certos tipos de células, em tecidos diferenciados, podem não ser capazes de manter a replicação do HSV. A inacessibilidade ou perda de receptores necessários na superfície celular ou mesmo outros fatores necessários à biossíntese de componentes virais podem estar associados a este fato. Estudos evidenciaram que proteínas específicas na superfície celular servem como co-receptores para a entrada do HSV em determinadas células específicas (Holmes et al, 1999).

O HSV-1 pode causar casos esporádicos de encefalite. Supõe-se que o vírus possa se disseminar através de neurônios de gânglios periféricos ao cérebro. A freqüência com que o HSV-1 entra no cérebro não é conhecida, mas DNA do HSV foi detectado no tecido cerebral de humanos na ausência de encefalite. Diferentes cepas de HSV-1 diferem em relação à neurovirulência.

Foi demonstrado também que pode ocorrer reinfeção com cepas virais diferentes. Este não parece ser um evento freqüente, e as recorrências são quase sempre causadas pela reativação de cepas que infectaram originalmente os gânglios com infecção latente.

2.5 Epidemiologia do Vírus *Herpes Simplex* Tipo 2

As infecções pelos vírus *Herpes simplex* tipos 1 e 2, Varicela-zoster, Epstein-Baar, Citomegalovírus e vírus Herpes humano 6, 7 e 8 são endêmicas em todo o mundo (Spear,1990).

Infecções pelo vírus Herpes simplex podem ser encontradas nas mais remotas populações humanas. Não se tem notícias de vetores animais para o vírus *Herpes simplex*. Aparentemente, os seres humanos são os únicos reservatórios naturais deste vírus.

Os dados referentes à soroprevalência da infecção pelo HSV-2 são escassos, especialmente nos países em desenvolvimento, quando comparados aos relacionados a outras doenças sexualmente transmissíveis (Smith et al.,2001). A maior parte dos dados disponíveis sobre o HSV-2 é proveniente de estudos realizados em clínicas de doenças sexualmente transmissíveis, população reconhecida como sob particular risco para a infecção pelo HSV-2, se comparada à população geral. Existe também uma predominância de estudos conduzidos na população feminina (Smith et al., 2001).

De uma forma geral, as prevalências de infecção genital pelo vírus do herpes reportadas variam com as características clínicas e demográficas da população estudada, e com o critério utilizado para o diagnóstico. Estudos soropidemiológicos têm evidenciado uma grande variação entre prevalências de anticorpos e infecções clínicas, indicando serem as infecções subclínicas freqüentes.

A avaliação da soroprevalência da infecção pelo HSV-1 e HSV-2 evoluiu significativamente a partir do desenvolvimento de sorologias tipo-específicas (Pereira, 1996; Corey, 1993). Essas técnicas permitem a detecção de HSV-2 na presença de anticorpos para o HSV-1 e vice-versa (Ho, 1993; Ho, 1992).

A prevalência de anticorpos para o HSV-2 aumenta com a idade e pode se correlacionar com o *status* socioeconômico, sendo mais prevalente entre indivíduos pertencentes a estratos sociais menos favorecidos.

Nos Estados Unidos, 40-60% dos pacientes atendidos em clínicas de Doenças Sexualmente Transmissíveis já adquiriram herpes genital (Austin et al., 1999; Rompalo et al., 1997; Hook et al., 1992).

Estudos soropidemiológicos realizados naquele país em 1976-1980 e 1988-1994 (*National Health and Nutrition Examination Survey* – NHANES II and III, respectivamente) mostraram que aproximadamente 22% dos indivíduos da população geral com 12 anos ou mais de idade eram soropositivos para o HSV-2 (IC de 95%, 20,2-23,6 %). A soroprevalência foi mais elevada entre as mulheres (25,6%) do que entre os homens (17,8%), e entre os negros (45,9%) do que entre os brancos (17,6%). Nos grupos mais jovens, a soroprevalência de infecção pelo HSV-2 mostrou-se relacionada à idade, aumentando progressivamente com o aumento desta. Entre os indivíduos com 30 ou mais anos de idade, a prevalência desta infecção mostrou-se estável, com valores entre 24 e 28% (Figura 2). Ao explorar a associação entre variáveis sócio-demográficas e a infecção pelo HSV-2, constatou-se uma maior prevalência da infecção entre pessoas divorciadas ou separadas e viúvas, quando comparadas àquelas solteiras ou casadas. Na avaliação das variáveis comportamentais, observou-se soroprevalência mais elevada entre aqueles que já haviam utilizado cocaína, entre aqueles que tiveram seu primeiro intercurso sexual quando tinham 17 anos ou menos e entre aqueles com maior número de parceiros ao longo da vida.

No modelo multivariado, diferenças associadas à situação conjugal e idade do primeiro intercurso sexual não se mostraram preditores independentes da infecção pelo HSV-2. Por outro lado, ser do sexo feminino, da raça não-branca, ser mais velho, ter menor nível de escolaridade formal, baixa renda, ter tido maior número de parceiros sexuais ao longo da vida e ter feito uso de cocaína constituíram preditores independentes da infecção pelo HSV-2. Os preditores mais fortemente associados à infecção pelo HSV-2 (OR \geq 3,0) foram sexo (feminino), raça/etnia (não-branca) e número de parceiros sexuais ao longo da vida (maior número). Apenas 2,6% dos adultos que se mostraram soropositivos para a infecção pelo HSV-2 relataram história de infecção genital pelo herpes (Fleming, 1997).

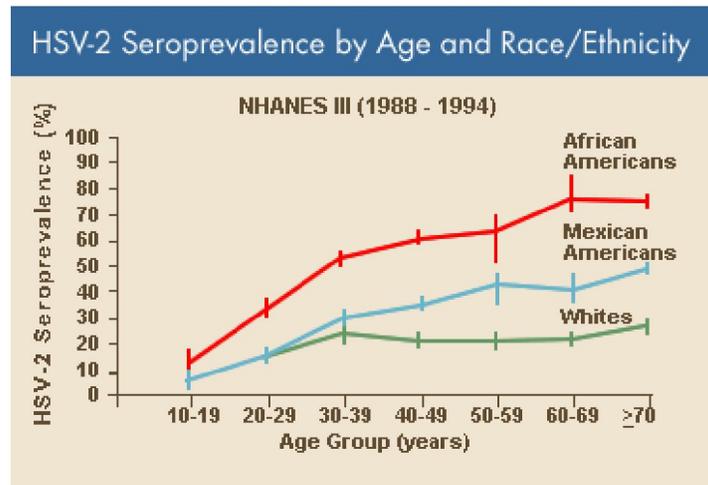


Figura 2: Soroprevalência do HSV-2, considerando idade e raça em NHANES II (1976-1980) e NHANES III (1988-1994). Fleming, 1997

A soroprevalência da infecção pelo HSV-2 na população geral dos países da Europa ocidental, incluindo França, Alemanha, os Países Baixos, Itália e Suíça, é relativamente baixa e se aproxima da observada nos Estados Unidos (Corey et al., 2004).

Na Cidade do México, uma soropositividade de 60,8% para a infecção pelo HSV-2 foi encontrada em um estudo realizado na segunda metade dos anos 1990, entre mulheres profissionais do sexo atendidas em clínicas de DST (Conde-Glez, 1999). Os fatores associados à soropositividade para o HSV-2 foram: idade (mais elevada) e período (mais dilatado) de trabalho como profissional do sexo. Foram igualmente observadas diferenças estatisticamente significativas com relação a fatores demográficos e geográficos, sendo maior a prevalência da infecção entre aquelas mulheres nascidas fora da Cidade do México, com menor nível de escolaridade e que trabalhavam nas ruas como profissionais do sexo.

A prevalência na população geral nos países asiáticos em desenvolvimento varia entre 10% e 30% (Weiss, 2004).

Na África, a maior parte dos dados sobre prevalência do HSV-2 é proveniente de países da região Sub-Saariana, incluindo países como a República Centro-Africana, Gâmbia, Tanzânia, Uganda, África do Sul e Zimbábue. A maior parte destes estudos foi realizada em populações de homens e mulheres com idade entre 15-54 anos e os dados

sobre infecção pelo HSV-2 foram obtidos a partir de estudos epidemiológicos que avaliaram, primariamente, as taxas de infecção pelo HIV (Weiss, 2004).

Weiss (2004) analisou criticamente os dados publicados sobre a epidemiologia da infecção pelo HSV-2 em países em desenvolvimento. Na população geral da África subsahariana, os dados mostraram uma prevalência de infecção pelo HSV-2 entre 30% e 80%, em mulheres, e 10% e 50%, em homens. Nas Américas Central e do Sul, a maior parte dos dados são provenientes de populações femininas, com prevalências de infecção pelo HSV-2 que variaram entre 20% e 40%. Na Ásia, a prevalência na população geral variou entre 10% e 30%. Entre os estudos analisados, observou-se que, nos países em desenvolvimento, a soropositividade para a infecção pelo HSV-2 é mais elevada em mulheres do que em homens e aumenta com a idade. A soroprevalência da infecção pelo HSV-2 foi mais elevada também em populações que relatavam comportamento sexual de risco para a aquisição/transmissão de outras DST, tais como entre clientes de clínicas de DST e profissionais do sexo.

Um trabalho publicado por Mihret et al. (2002) estimou a prevalência e fatores de risco associados à infecção pelo HSV-2 na população urbana geral e entre trabalhadores da indústria têxtil em Addis Ababa, Etiópia. Este país, na ocasião (final da década de 1990), abrigava a terceira maior população estimada de pessoas vivendo com HIV/Aids no mundo (UNAIDS, 2000). Entre os 506 indivíduos da comunidade urbana, 263 (52%) eram homens e 243 (48%) mulheres, enquanto que entre os 657 trabalhadores da indústria têxtil 371 (56,5%) eram homens. A soroprevalência para a infecção pelo HSV-2 foi de 32% entre homens e 37,9% entre mulheres da comunidade. Entre os trabalhadores da indústria têxtil, a soroprevalência para o HSV-2 foi de 61,5% entre as mulheres e 44,7% entre homens. Observou-se associação mais pronunciada entre infecção pelo HSV-2, maior idade cronológica e situação conjugal (ser casado) entre os homens da comunidade, quando comparados aos trabalhadores da indústria têxtil.

Entre as mulheres da comunidade, taxas mais elevadas de infecção pelo HSV-2 se mostraram associadas ao nível de escolaridade (mais baixo), a um maior número de parceiros sexuais ao longo da vida e à história de sífilis passada ou em atividade (avaliada

pelo TPHA — *Treponema pallidum hemagglutination*), quando comparadas às demais mulheres.

Neste mesmo estudo observaram-se maiores taxas de infecção pelo HSV-2 entre indivíduos mais velhos, com um maior número de parceiros sexuais na vida e história de sífilis, tanto entre os homens como entre as mulheres. Estes e outros achados similares sugerem que o HSV-2 seria um marcador de exposição sexual (Laar et al., 1998).

A maior parte dos dados sobre HSV-2 em populações da América Central e do Sul provém de estudos soropidemiológicos realizados em populações de mulheres submetidas a exame para detecção de câncer cervical, considerada população de baixo risco para infecção pelo HSV-2. A soroprevalência da infecção pelo HSV-2 nessas populações variou entre 20% e 40% (Weiss, 2004). Em um estudo de soroprevalência para o HSV-1 e 2 realizado na Costa Rica, entre 766 mulheres com idade entre 25 e 59 anos, 39,4% foram soropositivas para a infecção pelo HSV-2. Destas, apenas 1,1% tinham história de herpes genital sintomático (Carvalho et al., 1998; Oberle et al., 1989).

No Peru, estudo conduzido por Sanchez et al. (2002), em áreas de baixo nível socioeconômico, entre homens apresentando doença genital ulcerada (DGU), foi encontrada uma prevalência de 43% de sorologia positiva para o HSV-2. Naquele mesmo país, um estudo realizado por Konda et al (2005) em cinco grupos populacionais distintos evidenciou taxas de infecção pelo HSV-2 bastante variadas. Na população geral, a prevalência entre os homens (7,1%; IC 95%, 5,3-9,3%) foi significativamente mais baixa do que entre as mulheres (20,5%; IC, 17,9-23,2%). Na população socialmente marginalizada, a prevalência encontrada, entre os homens, foi de 20,7% (IC 95%, 18,1-23,4%), enquanto entre as mulheres foi de 42,5% (IC 95%, 33,5-52,9%).

Já entre os homens que fazem sexo com homens (HSH), a prevalência foi de 72,3% (IC 95%, 64,8%-78,9%). Foram exploradas as possíveis associações entre seis covariáveis: “idade”, “situação conjugal”, “educação”, “número de parceiros sexuais nos últimos 03 meses”, “sexo desprotegido com parceiro sexual primário” (companheiros/parceiros fixos) e “sexo desprotegido com parceiros casuais” e a variável-resposta. Além disso, foram avaliadas as seguintes variáveis: “número de parceiros ao longo da vida”, “homens que fazem sexo exclusivamente com outros homens” e “tempo de vida sexualmente ativa”.

No âmbito deste estudo, a prevalência da infecção pelo HIV foi de 9,7%, entre homens que fazem sexo com homens (IC 95%, 5,6-15,2%), significativamente mais elevada quando comparada com os demais grupos sob análise. A prevalência da infecção pelo HIV em mulheres da população geral foi de 0,2% (IC 95%, 0,0-0,7%) e de 0,0% (nenhum caso de infecção pelo HIV identificado). Em mulheres socialmente marginalizadas a prevalência de infecção pelo HIV foi de 0,0% e de 0,2% em homens socialmente marginalizados (IC 95%, 0,0-0,7%).

Na análise bivariada, a infecção pelo HSV-2 se mostrou associada à infecção pelo HIV em HSH e homens socialmente marginalizados. No modelo multivariado, em todos os cinco grupos, a prevalência do HSV-2 se mostrou associada à idade (maior prevalência entre os mais velhos), ao maior número de parceiros ao longo da vida, ao maior tempo de vida sexualmente ativa e a ser HSH (Konda et al., 2005).

Monsalve et al. (2001) observaram uma soroprevalência de 53% de HSV-2 em um grupo de 96 mulheres de uma comunidade em Zulia, Venezuela. Entre as mulheres com idades entre 21 e 40 anos, a prevalência foi de 66,7%, e entre gestantes desta mesma comunidade a prevalência encontrada foi de 54,6%.

Alguns estudos foram conduzidos na América do Sul e América Central em populações consideradas vulneráveis para a infecção pelo HSV-2.

No Brasil estudos conduzidos em diferentes populações da cidade de Campinas, verificaram uma prevalência de 6,9% da infecção pelo HSV-2 entre estudantes de ambos os sexos, com taxas de infecção de 22,6% entre mulheres em trabalho de parto e 53,1% entre pacientes com diagnóstico de uma outra doença sexualmente transmissível (DST) (Carvalho et al., 1998).

Em um estudo que avaliou a soroprevalência e os fatores de risco para a aquisição da infecção pelo HSV-2 realizado entre 552 mulheres submetidas a exames para diagnóstico de câncer cervical em São Paulo, Brasil (181 mulheres), e Manila, Filipinas (371 mulheres), a soroprevalência da infecção pelo HSV-2 encontrada foi significativamente mais elevada no Brasil (42,0%) do que nas Filipinas (9,2%). Levando em consideração que havia diferenças quanto à média de idade das mulheres brasileiras (52,4 anos) e Filipinas (46,6 anos) que compuseram a amostra, não se observou associação

entre soropositividade para o HSV-2 e idade cronológica, possivelmente devido ao fato de que a maioria das mulheres que integraram o estudo tinha mais de 40 anos. As participantes brasileiras relataram um número maior de parceiros sexuais ao longo da vida e um nível mais baixo de escolaridade, quando comparadas às filipinas. As brasileiras relataram ainda que seus parceiros tinham mais freqüentemente outras parcerias sexuais, quando comparadas às mulheres filipinas (Smith et al., 2001).

No Rio de Janeiro, um estudo de soroprevalência de HSV-2 em populações de baixo (155 doadores voluntários de sangue) e alto risco (85 homossexuais masculinos infectados pelo HIV com múltiplos parceiros e 20 profissionais do sexo) para a aquisição de doenças sexualmente transmissíveis, evidenciou uma prevalência de anticorpos para o HSV-2 de 29,1% na população de baixo risco e de 73,0% entre os voluntários infectados pelo HIV ($P < 0,01$). Quando considerados somente os voluntários de alto risco para DST, a prevalência encontrada foi de 72,0%, praticamente idêntica àquela verificada entre os indivíduos vivendo com HIV/Aids. Apenas 10% de todos os indivíduos soropositivos para o HSV-2 relataram algum episódio de herpes genital com expressão clínica. Nas populações vulneráveis à aquisição de DST, a infecção pelo HSV-2 se mostrou independentemente associada ao (maior) tempo de vida sexualmente ativa, história prévia de HPV e cancro mole, (maior) número de parceiros sexuais no mês anterior à entrevista de linha de base, (maior) número de gestações e abortos induzidos e ao intercurso anal receptivo (Da Rosa-Santos, 1996).

A literatura tem apontado que as taxas de infecção pelo HSV-2 podem alcançar um *plateau* ou mesmo decrescer com a idade (Fleming et al., 1997). Idades mais jovens quando do primeiro intercurso sexual constituem um fator de risco relevante em diferentes contextos (Wald et al., 1997; Oberle et al., 1989), ainda que existam trabalhos com achados discrepantes, onde a idade precoce do intercurso sexual não constitui fator de risco (Obasi et al., 1999; Cowan et al., 1994).

Em todos os estudos acima mencionados e na literatura de um modo geral, a infecção pelo HSV-2 mostrou-se a etiologia mais freqüente de úlceras genitais. A elevada prevalência da infecção pelo HSV-2 mostra-se associada a uma maior efetividade dos critérios diagnósticos específicos, a uma maior capacidade de detecção dos casos de sífilis e

cancro mole através da abordagem sindrômica, facilitando o diagnóstico diferencial, a uma maior prevalência de ulcerações genitais pelo HSV-2 em pacientes co-infectados pelo HIV e ao desenvolvimento de metodologias laboratoriais mais sensíveis e específicas.

Entretanto, alguns estudos conduzidos em países em desenvolvimento não apontaram o vírus *Herpes simplex* do tipo 2 como o patógeno mais freqüentemente associado à DGU (Ballard, 2002; Totten, 2000). Em um estudo realizado entre mineiros sul-africanos, 54% das úlceras genitais estavam relacionadas ao *Haemophilus ducreyi*, sendo o HSV-2 o segundo patógeno mais prevalente, encontrado em 18% das úlceras. Mais de um patógeno foi encontrado em 9,1% das úlceras (Ballard, 2002).

Em Dakar no Senegal, entre pacientes atendidos em clínica de DST, 12,8% (5/39) das amostras de úlceras foram positivas para o HSV-2, comparadas com 56% para *H.ducrey* e 15% para *T. pallidum* (Totten, 2000).

Em resumo, as taxas de prevalência de anticorpos para o HSV-2 se correlacionam com a história passada de atividade sexual, tornando-se mais elevadas a partir da puberdade. A freqüência de anticorpos para o HSV-2 é maior entre pessoas recrutadas em clínicas de DST e entre homens homossexuais. A presença desses anticorpos se correlaciona, de forma consistente entre os estudos, ao número de parceiros sexuais na vida, idade do início das relações sexuais e a história de outras DST, podendo servir como um marcador sorológico para o comportamento sexual de risco em diferentes populações (Laar et al., 1998).

2.6 Manifestações clínicas da infecção pelo Vírus *Herpes Simplex* (HSV)

A intensidade e freqüência das manifestações clínicas e recorrências da infecção herpética são influenciadas por fatores relacionados ao vírus e ao hospedeiro, tais como o tipo viral, a imunidade prévia a vírus autólogos ou heterólogos, gênero e imunidade do hospedeiro. A influência de outros fatores como idade, raça, local de inoculação, ou ainda fatores genéticos que influenciariam a aquisição da infecção ou expressão da doença estão, no momento, sob investigação. Muitas infecções, sejam elas causadas pelo HSV-1 ou pelo HSV-2 (vírus *Herpes simplex* tipo 1 e 2, respectivamente), são subclínicas. As possíveis

especificidades que distinguiriam pessoas com doença clínica sintomática ou doença clinicamente silenciosa (subclínica) não estão ainda claramente estabelecidas. Além disso, cepas idênticas do vírus podem ter manifestações distintas em diferentes episódios de reativação. Mesmo em um mesmo indivíduo, não existe uma correlação clara entre a duração de episódios consecutivos e os intervalos entre as recorrências (Holmes et al, 1999).

2.6.1 Infecção primária pelo HSV

2.6.1.1 Infecção de orofaringe

A infecção primária pelo HSV é freqüentemente assintomática, mas pode se apresentar como gengivostomatite e faringite, principalmente em crianças, e, ocasionalmente, em adultos jovens. O quadro de gengivostomatite/faringite pode ser causado pelo HSV-1 e pelo HSV-2. O período de incubação após a exposição é de 2 a 12 dias, a que se seguem febre e odinofagia (dor à deglutição), com edema e eritema na faringe. Pouco tempo depois, pequenas vesículas se desenvolvem na faringe e mucosa oral, evoluindo para ulcerações, que, rapidamente, aumentam em número, freqüentemente envolvendo o palato mole, a mucosa do assoalho oral e a língua. As gengivas tornam-se enantematosas e sangram facilmente. As lesões podem se estender aos lábios e à face. A febre e a toxemia podem persistir por vários dias e o paciente pode referir dor intensa. O hálito é fétido e há adenopatia cervical. Em crianças, pode haver desidratação por baixa ingestão de líquidos, sialorréia e febre. Em adolescentes, a infecção primária pelo HSV freqüentemente pode se apresentar como faringite posterior ou tonsilite.

Deve ser feito diagnóstico diferencial com faringite estreptocócica e diftérica, herpangina (causada pelo vírus Coxsackie do grupo A), estomatite aftosa, Síndrome de Stevens-Johnson, angina de Plaut-Vincent e mononucleose infecciosa. A doença evolui com remissão espontânea, num período de 10 a 14 dias, sem seqüelas, apesar da adenopatia cervical poder persistir por várias semanas. A auto-inoculação em outras regiões não é incomum, sendo relativamente freqüente nos dedos das crianças.

2.6.1.2 Infecção oftálmica

As infecções oftálmicas pelo HSV são comumente causadas pelo HSV-1. Infecções primárias pelo HSV podem se manifestar como conjuntivite unilateral, com adenopatia regional e/ou blefarite, com vesículas na margem palpebral. Podem estar presentes fotofobia, edema conjuntival e palpebral e lacrimejamento excessivo. Se a doença se limitar à conjuntiva, a cicatrização ocorre em duas a três semanas. Entretanto, se sinais e sintomas de envolvimento mais profundo estiverem presentes, a cicatrização pode ser mais demorada. A cicatrização espontânea da conjuntiva e córnea é habitualmente completa. É importante a identificação do HSV como o causador da infecção, tendo em vista que corticosteróides tópicos utilizados para o tratamento deste quadro, quando causado por outro agente etiológico, podem agravar a condição clínica. Outras alterações oculares associadas à infecção pelo HSV incluem coriorretinite (observada em indivíduos infectados pelo HIV, como resultado da disseminação do HSV) e a síndrome de necrose retiniana aguda, uma rara causa de perda da visão observada em adultos saudáveis (Mandell, 1995).

2.6.1.3 Infecção genital

As lesões genitais herpéticas podem ser causadas pelo HSV-1 ou pelo HSV-2, não sendo possível estabelecer a distinção clínica entre as duas infecções.

A infecção genital primária é mais comum em adolescentes e em adultos jovens e, na maior parte dos casos, é causada pelo HSV-2 (70 a 90%). O período de incubação é de 2 a 7 dias. Em homens, a apresentação clínica mais comum é o surgimento de lesões vesiculares de base eritematosa, freqüentemente, na glândula ou no corpo do pênis (Figura 3A). Em mulheres, as lesões podem envolver a vulva, períneo, nádegas, cérvix e vagina e são freqüentemente acompanhadas de secreção vaginal (Figura 3B). Lesões extragenitais ocorrem em 10 a 20% dos pacientes. A infecção genital primária pelo HSV pode estar associada à febre, mal-estar, anorexia e adenopatia inguinal dolorosa bilateral, em ambos os sexos. Apesar das lesões vesiculares persistirem por vários dias nos homens, em mulheres

elas rapidamente ulceram e se tornam cobertas por um exsudato. As lesões podem ser dolorosas e o envolvimento uretral pode resultar em disúria ou retenção urinária. A radiculomielite herpética na região sacral pode levar à retenção urinária, neuralgia e constipação. A perda de tônus anal pode algumas vezes ser evidenciada nestes pacientes, além de diminuição do reflexo bulbo-cavernoso e evidência de disfunção baixa do neurônio motor. Lesões de herpes genital primário podem persistir por várias semanas antes de cicatrizar completamente. Há evidências conflitantes a respeito do efeito protetor da infecção pelo HSV-1 com relação à infecção pelo HSV-2, com alguns estudos sugerindo que há um efeito protetor (Gottlieb et al., 2002; Mihret et al., 2002; Cowan et al., 1994; Corey & Wald, 1990; Mertz et al., 1985) e outros que não corroboram este suposto efeito protetor (Cowan et al., 2003; Langenberg et al., 1999).

No diagnóstico do herpes genital, outras doenças sexualmente transmissíveis devem ser afastadas, como o cancro mole ou sífilis, lesões secundárias a escoriações, manifestações genitais da síndrome de Beçet ou eritema multiforme e candidíase local.



Figura 3: A) Herpes Genital no pênis; B) Vulvo-vaginite herpética - Fonte: Ministério da Saúde.

2.6.1.4 Infecção cutânea

Apesar das infecções primárias pelo HSV se apresentarem primordialmente em região perioral, ocular ou genital, qualquer região cutânea pode ser envolvida. A infecção cutânea primária pelo HSV pode ser extensa e mimetizar o herpes zoster, apesar de não ser usualmente mantida a distribuição por dermatômos (característica do herpes zoster) e a dor se apresentar com menor intensidade.

Infecções primárias nos dedos (paroníquia) causadas pelo HSV podem estar relacionadas à exposição ocupacional entre médicos, paramédicos ou profissionais de odontologia. São freqüentemente causadas pela HSV-1, enquanto na população em geral são, via de regra, secundárias à infecção pelo HSV-2. Estas infecções podem ser diagnosticadas erroneamente como sendo decorrentes de paroníquia piogênica e podem ser desnecessariamente drenadas. Habitualmente, um único dedo é envolvido na paroníquia herpética, inicialmente com intenso prurido ou dor, seguido da formação de uma ou mais vesículas profundas que podem coalescer. Freqüentemente, há comprometimento geral e dor local intensa; neuralgia e adenopatia axilar podem ocorrer. Se não for incisionada para drenagem, a cicatrização pode ocorrer em 2 a 3 semanas; se o for, pode se desenvolver uma infecção bacteriana secundária, retardando a cicatrização (Mandell, 1995).

2.6.1.5 Infecção anal e perianal

A infecção anal e perianal pelo HSV-2 tem sido freqüentemente evidenciada em homossexuais masculinos e em mulheres (Koutsky et al., 1992). A dor é o sintoma primário, com prurido, tenesmo e secreção. Podem estar presentes sintomas gerais como febre, mal-estar, cefaléia, dificuldade para urinar e parestesia sacral. Ao exame físico, podem ser observadas vesículas e ulcerações em área perianal e anal, que podem se tornar confluentes e resultar em criptite ulcerada cercada por edema de mucosa. A adenopatia

inguinal bilateral é comum. O curso é geralmente auto-limitado, exceto quando há sobreposição de infecção bacteriana, com cicatrização ocorrendo em 1 a 3 semanas. Em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids), a proctite herpética, assim como outras manifestações cutâneas da infecção pelo HSV, as manifestações podem ser prolongadas e progressivas (Mandell, 1995).

2.6.2 Infecções recorrentes pelo HSV

O herpes labial recorrente é freqüentemente precedido por sintomas prodrômicos, como dor, ardência, parestesia ou prurido, com duração de, aproximadamente, seis horas, mas ocasionalmente durando de 24 a 48 horas. As vesículas aparecem mais comumente na região externa do lábio, provocando dor considerável. O lábio inferior é mais amiúde envolvido, apesar de alguns pacientes apresentarem lesões estereotipadas em locais similares a cada episódio de recorrência. As lesões progridem de vesículas para úlceras e crostas em 48 horas. A intensidade da dor é maior nas primeiras 24 horas após o aparecimento das lesões. A cicatrização geralmente se completa em 8 a 10 dias. Raramente, pode haver recorrência na boca ou nariz, região mentoniana ou na face. Queixas sistêmicas não são comuns no herpes labial recorrente, mas pode ocorrer adenopatia local.

A infecção ocular causada pelo HSV pode recorrer como ceratite, blefarite ou ceratoconjuntivite. A ceratite recorrente causada pelo HSV é habitualmente unilateral, mas raramente (em 1 a 2% dos casos) bilateral. Dois tipos principais de ceratite pelo HSV podem se desenvolver: ulceração dendrídica ou envolvimento do estroma. A acuidade visual pode estar diminuída porque as úlceras herpéticas freqüentemente envolvem a porção pupilar da córnea. A infecção ocular pode se fazer acompanhar de opacificação anterior mínima ou envolvimento profundo do estroma. A ceratite superficial pelo HSV normalmente cicatriza espontaneamente, mas a infecção recorrente pode levar ao envolvimento profundo do estroma e uveíte, que pode, em parte, ser mediada por reações de hipersensibilidade. Ocorre uma diminuição gradual da acuidade visual. Alguns episódios podem durar vários meses, com a formação de escara, adelgaçamento de córnea e

neovascularização. Pode resultar em perda visual permanente e, raramente, em ruptura do globo ocular.

Lesões genitais recorrentes pelo HSV em ambos os sexos estão geralmente associadas a sintomas sistêmicos menos intensos e menor envolvimento local, se comparadas ao primeiro episódio. Frequentemente são observados pródromos de dor, prurido, parestesia ou ardência locais algumas horas antes da recorrência. As lesões genitais pelo HSV em mulheres são mais frequentes nos pequenos e grandes lábios, períneo e, menos comumente, no púbis ou nádegas. As lesões genitais pelo HSV em homens são mais frequentes na glândula ou corpo do pênis. Em mulheres as recorrências tendem a ser mais intensas. A cicatrização geralmente acontece em seis a dez dias. A excreção viral assintomática pelo HSV desempenha um papel importante na história natural da doença, assim como na transmissão horizontal e vertical do HSV (Halioua, 1999). É mais facilmente detectada em mulheres, principalmente na região do cérvix e vulva, no primeiro ano após o primeiro episódio da doença e uma semana após recorrência sintomática (Wald et al., 1995; Kinghorn, 1994; Mertz, 1993; Koelle, 1992). A excreção viral do HSV diminui mais lentamente em mulheres e pode ser evidenciada entre episódios de recorrência em ambos os sexos (Koelle, 1992; Koutsky et al., 1992). Ocasionalmente, as recorrências genitais se mostram associadas à cefaléia e até mesmo à meningite asséptica (Davies, 2004; Dylewski et al., 2004). Estreitamento uretral e fusão labial já foram relatados após infecções genitais recorrentes.

Infecções recorrentes pelo HSV-1 e HSV-2 podem se desenvolver em extremidades; ocasionalmente estas lesões estão associadas à neuralgia severa. Edema local e linfangite podem também ocorrer durante recorrências.

Os estudos demonstram que maiores taxas de recidiva estão relacionadas ao HSV-2 em região genital, com taxas decrescentes com relação à infecção pelo HSV-1 em região orolabial, HSV-1 em área genital e, por fim (com taxas substancialmente reduzidas), na infecção pelo HSV-2 em localização orolabial (Koelle, 1992).

2.6.3 Condições especiais

2.6.3.1 Encefalite Herpética

O HSV-1 é a causa mais comum de encefalite nos Estados Unidos após o período neonatal. A encefalite pelo vírus *Herpes simplex* pode resultar de infecção primária pelo HSV-1, reativação ou reinfecção. Teoricamente, o vírus se dissemina através do nervo olfatório de hospedeiros susceptíveis e alcança o lobo temporal. Os pacientes apresentam estado subagudo de confusão mental, febre, cefaléia, crise convulsiva focal e alucinações olfatórias (Isada, 1999).

O diagnóstico diferencial da encefalite causada pelo HSV frente às demais encefalites secundárias a outras etiologias (como arboviroses, tuberculose, infecções fúngicas) é difícil. Achados no líquido cefalorraquiano não são específicos e o isolamento do HSV-1 em cultura de líquido raro. O eletroencefalograma é útil em localizar a área de processo inflamatório no lobo temporal. A tomografia computadorizada e a ressonância nuclear magnética do encéfalo podem revelar necrose do lobo temporal em alguns casos, sendo este um achado altamente sugestivo de encefalite pelo HSV. O diagnóstico definitivo é feito através da biópsia cerebral, com cultura e histopatologia (Isada, 1999).

2.6.3.2 Infecção neonatal

A infecção causada pelo HSV em recém-nascidos (menos de 6 semanas de vida) é freqüentemente grave. A disseminação visceral do vírus e a infecção do sistema nervoso central são freqüentes. Quando não tratada, a mortalidade é superior a 65%. Muitos dos que sobrevivem apresentam distúrbios no desenvolvimento. A infecção ocorre com mais freqüência durante o nascimento, na passagem do bebê pelo canal do parto (Isada, 1999).

2.6.3.3 Infecção pelo HSV em pacientes imunocomprometidos

Pacientes com comprometimento imunológico por imunodeficiência ou imunossupressão, desnutrição ou desordem que comprometa a integridade da pele (queimadura, eczema) estão sob risco para o desenvolvimento de infecções mais graves pelo HSV. Em transplantados, a infecção pode ser assintomática, mas, ocasionalmente, pode ser particularmente intensa e persistir por semanas ou meses, com o envolvimento do trato gastrointestinal ou respiratório, resultando em traqueobronquite, pneumonia, esofagite ou hepatite.

Aparentemente, infecção intensa está relacionada à supressão iatrogênica da imunidade mediada por células após o transplante em estágios iniciais. Pacientes com neoplasia hematológicas e linforreticulares e crianças com desordens tímicas também podem desenvolver infecção mucocutânea intensa, crônica ou progressiva pelo HSV. A infecção pelo HSV durante a gestação ou em populações geriátricas pode estar associada, em raras ocasiões, a doença disseminada, envolvendo vísceras, particularmente o fígado. A doença disseminada é possivelmente secundária à imunodeficiência relativa do linfócito T, decorrente da senectude e presente na gestação (Mandell, 1995).

Infecções intensas e recorrentes pelo HSV são freqüentemente vistas em pacientes com Aids. Ulcerações perianais progressivas, com proctite, podem ser causadas pelo HSV-1 e HSV-2. Esta manifestação pode causar dor anorretal, hematoquesia, tenesmo e febre. A esofagite pelo HSV pode ser assintomática, mas pode estar associada à odinofagia, dor torácica, sangramento gastrointestinal, processo inflamatório não específico, úlceras ou esofagite pseudomembranosa. A esofagite causada pelo HSV pode resultar de extensão direta de lesões orais pelo HSV para o esôfago ou de reativações do HSV no nervo vago que inerva o esôfago. A apresentação clínica é indistinguível da esofagite por Candida, outra condição comum em pacientes com Aids. As lesões esofágicas causadas pelo HSV são inespecíficas e a biópsia deve afastar esofagite por Candida e por CMV. A pneumonia causada pelo HSV é uma manifestação não usual do HSV observada em imunossuprimidos e resulta em pneumonia necrotizante. Habitualmente, a confirmação diagnóstica é feita

através de broncoscopia. Além disso, a colite e uma variedade de desordens neurológicas causadas pelo HSV têm sido observadas em pacientes com Aids.

O herpes genital pode ser um fator de risco para a aquisição do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Freeman, 2006; Wade, 2005; Cohen, 2004; Celum et al., 2004; Wu, 2004; Corey et al., 2004; Rodriguez et al., 2003; Renzi et al., 2003; Wald & Link, 2002; Buve et al., 2001).

2.7 Diagnóstico do Herpes Genital

A maior parte dos pacientes jovens e sexualmente ativos com Doença Genital Ulcerada (DGU) nos Estados Unidos tem herpes genital, sífilis ou cancro mole (CDC, 2002). A frequência relativa de cada uma destas Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) difere de acordo com a área geográfica e a população estudada. Entretanto, o herpes genital é a mais prevalente, sendo a principal etiologia de DGU naquele país. Mesmo após terem sido submetidos à avaliação diagnóstica completa, 25% (ou mesmo uma proporção ainda maior) dos pacientes com úlceras genitais não têm seu diagnóstico laboratorial confirmado.

A investigação diagnóstica para a infecção pelo HIV deve ser sempre disponibilizada no acompanhamento de pacientes que apresentam úlceras genitais causadas pelo *Treponema pallidum* ou *Haemophilus ducreyi*. O mesmo teste deveria ser também considerado para aqueles que apresentam úlceras causadas pelo vírus *Herpes simplex* (HSV) (CDC, 2002). Há fatores de risco em comum que vulnerabilizam o indivíduo a qualquer uma destas DST, ou a mais de uma, simultaneamente. De uma perspectiva complementar, a sinergia clínica e epidemiológica entre as diferentes DST requer diagnóstico acurado de cada uma dessas condições, visando prevenir/tratar quadros clínicos graves e reduzir as taxas de transmissão de cada uma destas infecções.

2.7.1 Diagnóstico Clínico do herpes genital

O diagnóstico do herpes genital é essencialmente clínico, baseado na história médica e exame físico. Entretanto, em alguns casos, o diagnóstico clínico pode ser pouco

sensível e inespecífico (Corey, 1993; Koutsky et al., 1992; Koutsky et al., 1990; Langenberg, 1989). As lesões típicas causadas pelo HSV (múltiplas, dolorosas, vesiculares ou ulcerativas) podem estar ausentes em muitas das pessoas infectadas (CDC, 2002).

A distinção entre as ulcerações genitais causadas pela infecção pelo HSV daquelas secundárias a outras etiologias infecciosas e não infecciosas pode ser difícil. Se há múltiplas vesículas agrupadas ou história de lesões prévias, com duração e características morfológicas similares, a infecção pelo HSV é a etiologia mais provável. As lesões genitais causadas pelo HSV são frequentemente dolorosas ao toque e este sinal clínico pode ser útil na diferenciação desta lesão de lesões com etiologia diversa, como o *T. pallidum*. Cabe observar que ambos os patógenos podem coexistir em uma mesma lesão. Os dados epidemiológicos podem ser úteis na determinação da prevalência da infecção pelo herpes genital no contexto de outras possíveis infecções com características similares.

A infecção primária e recorrente pelo HSV se faz habitualmente acompanhar de linfadenopatia inguinal dolorosa e móvel. A drenagem ganglionar frequentemente observada na infecção pelo *H. ducreyi* no linfogranuloma venéreo é raramente observada em infecções pelo HSV. Linfonodos não dolorosos, elásticos e aderidos são frequentemente observados na infecção pelo *T. pallidum*.

Causas não infecciosas de ulcerações genitais, como a doença inflamatória intestinal (Doença de Crohn) ou ulcerações mucosas associadas à Síndrome de Beçet, podem igualmente exigir diagnóstico diferencial com o herpes genital. A ausência de evidências laboratoriais de infecção pelo HSV após tentativas repetidas de sua identificação sugere o diagnóstico clínico destas entidades mórbidas não infecciosas (Holmes, 1999). Portanto, tendo em vista a multiplicidade dos sinais e sintomas das infecções pelo HSV, a confirmação laboratorial da etiologia de úlceras genitais deve ser sempre que possível realizada.

2.7.2 Diagnóstico Laboratorial do Herpes

Existe uma variedade de testes disponíveis para a investigação diagnóstica da infecção pelo HSV. Estes testes podem ser classificados em duas classes: a detecção direta do HSV e a sorologia anti-HSV.

A escolha do teste mais adequado depende da situação clínica, do grau de urgência com que se requer o resultado e da disponibilidade local de recursos laboratoriais. É importante que se proceda a triagem para as demais DST. A exclusão da sífilis no diagnóstico diferencial é especialmente relevante (Veronesi, 1997).

2.7.2.1 Detecção direta do HSV

A capacidade dos testes de detecção direta de confirmar, de maneira confiável e acurada a presença de vírions do HSV depende da qualidade das amostras. Os melhores resultados são obtidos a partir de células infectadas, portanto, deve-se coletar o material das lesões com um *swab* de algodão ou dacron. Uma alternativa é a aspiração das vesículas intactas com agulha fina, pois os vírions são abundantes neste fluido. As amostras devem ser colocadas imediatamente em um meio de conservação/transporte adequado. Os vírus mantidos em um meio adequado permanecem viáveis por 48 a 96 horas (Veronesi, 1997).

2.7.2.2 Citopatologia (Método de Tzanck)

O citodiagnóstico de Tzanck pode ser útil como método auxiliar para confirmação diagnóstica da infecção pelo HSV. A positividade é dada pela presença de multinucleação e balonização celulares. Trata-se de um procedimento simples, em que se faz um raspado do assoalho de uma vesícula íntegra com uma lâmina e cora-se pelo método de Giemsa, Wright ou Hematoxilina-eosina. A utilização da coloração pelo Papanicolaou permite a observação de inclusões virais, que podem ser observadas em 50% dos casos. A cultura viral é o método definitivo.

2.7.2.3 Testes virológicos

O isolamento do HSV em cultura de células é o teste virológico de escolha em pacientes que apresentam lesões genitais ulceradas ou outras lesões mucocutâneas (Ramaswamy, 2004). A sensibilidade da cultura varia de acordo com o estágio da lesão causada pelo HSV. É progressivamente menor em lesões vesiculosas, pustulosas, ulceradas e crostosas. No herpes primário, a sensibilidade do teste virológico situa-se em torno de 50%, e, no herpes recorrente, de 20%. A cultura pode ser útil em identificar causas pouco habituais de úlceras ou úlceras que não respondem à terapia inicial (CDC, 2002).

O HSV só pode ser cultivado em meios vivos. Uma grande variedade de linhagens celulares é utilizada para o cultivo do HSV *in vitro*, como fibroblastos diplóides humanos e células de rim de coelho. Uma vez que o HSV se replica rapidamente (ciclo de 12 a 18 horas), pode-se detectá-lo após 18 a 24 horas, devido a seus efeitos citopáticos característicos, isto é, balonização seguida de edema celular, e, finalmente, morte celular. O tempo médio de aparecimento dos efeitos citopáticos é de 2 a 3 dias, todavia, o cultivo deve ser observado por até 14 dias. Uma vez detectados os efeitos citopáticos, a sorotipagem do vírus é feita através de anticorpos monoclonais fluorescentes, específicos para o HSV tipo 1 e 2 (Veronesi, 1997). É necessário que haja um grande número de vírus para que a cultura resulte positiva. Os vírus estão presentes em maior quantidade nas primeiras 48 horas após o surgimento das lesões (Schechter, 1998). Apesar de o cultivo permitir a realização de estudos antivirais de sensibilidade, trata-se de uma técnica relativamente trabalhosa e lenta (Veronesi, 1997).

2.7.2.3.1 Testes para detecção de antígenos para o HSV

Este método rápido (execução em duas a seis horas) é muito utilizado, especialmente em pacientes que apresentam imunodeficiência. Requer uma titulação antigênica elevada, que pode ser detectada tanto por imunofluorescência com fluoresceína conjugada a anticorpo anti-HSV, como por ensaio imunoadsorvente ligado à enzima (ELISA). É possível realizar-se a tipagem viral através de anticorpo monoclonal. Trata-se

de um método de execução relativamente fácil, com uma sensibilidade de 70 a 90%, quando comparado ao cultivo (padrão-ouro) (Veronesi, 1997).

A Imunofluorescência Direta detecta diretamente o HSV, não sendo necessária a cultura viral. Coleta-se material de lesões vesiculares ou ulceradas, preferencialmente, nos 3 primeiros dias da erupção. A efetividade da detecção do HSV depende em grande parte da coleta de um número suficientemente grande de células infectadas intactas da lesão, com resultados particularmente favoráveis quando da coleta de células da base de vesículas intactas. A presença de lesões infectadas diminui em lesões cicatrizadas, e em lesões crostosas pode haver pouco ou nenhum material antigênico. Este teste tem sensibilidade de 70%, quando comparado à cultura (Isada, 1999).

Alguns dos testes para detecção de antígenos — diferentemente da cultura e do teste de imunofluorescência direta — não distinguem o HSV-1 do HSV-2.

Os testes de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) do DNA do HSV são altamente sensíveis, principalmente em reativações (Corey, 1994), e específicos, mas o papel deles no diagnóstico da doença genital ulcerada não está ainda bem definido. Entretanto, a técnica de PCR está disponível e constitui o teste de eleição para o diagnóstico de infecção pelo HSV no sistema nervoso central (pesquisa de HSV em líquido cefalorraquiano) onde a titulação viral é baixa. O diagnóstico definitivo estará disponível em 4 a 48 horas, entretanto, deve-se ter cautela para evitar a contaminação da amostra por DNA-HSV de outras fontes.

2.7.2.3.2 Hibridização do DNA-HSV

A hibridização do DNA-HSV, assim como a detecção antigênica, constitui um método rápido (execução em duas a seis horas) e amplamente utilizado, em particular, nos pacientes imunocomprometidos. Tem uma alta especificidade, e sua sensibilidade é pouco menor do que o cultivo (Veronesi, 1997).

2.7.2.3.3 Análise RFLP do DNA-HSV

A técnica de análise do polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição (RFLP – *Restriction Fragment Length Polymorphism*) utiliza endonucleases específicas para clivar o DNA-HSV em sítios conhecidos. As variações do comprimento dos fragmentos resultantes são utilizadas para caracterizar os tipos e subtipos de HSV. A alta especificidade deste método permite que se rastreie, no âmbito de uma população, a dinâmica de uma dada cepa viral. Sendo primariamente um instrumento de pesquisa, não é, em geral, utilizada como um método de diagnóstico da infecção pelo HSV (Veronesi, 1997).

2.7.2.3.4 Microscopia eletrônica

Apesar de ser um método rápido (executável em um período de 1 a 24 horas), tem sido menos utilizado, em função de baixa sensibilidade e especificidade e do alto custo do equipamento (Veronesi, 1997).

2.7.2.4 Testes para a detecção de anticorpos para o HSV – Sorologia anti-HSV

2.7.2.4.1 Sorologia não tipo-específica

A maioria dos testes disponíveis para a detecção de anticorpos para o HSV não é tipo-específica, fornecendo exclusivamente evidência de exposição prévia ao antígeno HSV. É, portanto, impossível determinar sua associação com ulcerações genitais recorrentes ou mesmo com um único episódio de herpes orolabial (Veronesi, 1997). Anticorpos específicos IgM ou IgG podem ser mais úteis em um evento agudo. Após alguns dias de uma infecção primária pelo HSV-1 e HSV-2, há produção de anticorpos,

mas o pico de elevação dos títulos ocorre em torno de 4 a 6 semanas (Isada, 1999). Portanto, na suspeita de herpes genital primária, a documentação da soroconversão de anticorpos HSV inicialmente negativos para positivos, dentro de seis semanas de seguimento, constitui uma evidência confirmatória convincente (Veronesi, 1997). Entretanto, como a exposição aos herpesvírus é quase universal (50 a 90% dos adultos apresentam anticorpos para o HSV), o antecedente de anticorpos pode fazer com que a resposta sorológica seja de difícil interpretação em um episódio de recorrência. Testes falso-positivos e falso-negativos são comuns com os Ensaio Imunoenzimáticos (EIA — *Enzyme Immunoassay*). A coleta requer pareamento sorológico para delinear se os títulos estão, de fato, aumentando ou se mantêm estáveis, não sendo estes resultados, em geral, relevantes frente à avaliação clínica. Desta forma, a sorologia para o HSV não deve ser recomendada como rotina clínica.

Não resta dúvida, entretanto, de que a sorotipagem do HSV tem sua utilidade em estudos clínicos e epidemiológicos. Além disso, a distinção entre sorotipos de HSV influencia o prognóstico e as estratégias de aconselhamento, pois mais de 30% dos casos de herpes genital primário são causados pelo HSV-1 e as recorrências são menos frequentes pela infecção pelo HSV-1, quando comparada à infecção genital pelo HSV-2 (CDC, 2002).

2.7.2.4.2 Testes sorológicos tipo-específicos para o HSV

Anticorpos tipo-específicos e não específicos para o HSV se desenvolvem durante as primeiras semanas que se seguem à infecção pelo HSV e persistem indefinidamente. Vários testes sorológicos tipo-específicos foram desenvolvidos, permitindo uma discriminação confiável da exposição a estes subtipos virais intimamente relacionados. A maior parte destes testes se baseia na presença de anticorpos contra as glicoproteínas G1 e G2 do HSV, que têm especificidades antigênicas para o HSV-1 e HSV-2, respectivamente.

Como culturas falso-negativas são comuns, especialmente em pacientes com infecção recorrente ou com lesões cicatriciais causadas pelo HSV, testes sorológicos tipo-específicos podem auxiliar o diagnóstico clínico de herpes genital. Adicionalmente, estes

testes podem ser utilizados no diagnóstico de pessoas com infecção não identificada pelo HSV e no controle de parceiros sexuais de pessoas com herpes genital (CDC, 2002).

Testes sorológicos para o HSV-2 deveriam estar disponíveis para pessoas que assim os solicitam (CDC, 2002).

O *Western Immunoblot* (WBA), que detecta anticorpos contra proteínas virais e o Ensaio Imunoenzimático (EIA), que detecta anticorpos tipo-específicos contra a glicoproteína G são testes sorológicos tipo-específicos, extremamente sensíveis e específicos. Os estudos evidenciam uma concordância elevada nos resultados destes dois testes (Morrow, 2003). Estes testes podem fornecer a prevalência estimada de infecção genital pelo HSV-2 na população, partindo-se do pressuposto de que todos os soropositivos para o HSV-2 estão infectados (Ashley, 2003) e que o HSV-2 é a causa primária da infecção genital (Kinghorn, 1994). Entretanto, estes testes não permitem diagnosticar a infecção genital inaparente pelo HSV-1, pois a soropositividade para o HSV-1 pode indicar infecção genital ou oral (esta última pouco relevante com relação ao HSV-2). O *Western Blot* detecta anticorpos para um grande número de antígenos do HSV e tem sensibilidade e especificidade maiores que 99% para infecções sintomáticas estabelecidas há 6 meses ou mais.

Em maio de 2002, os CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) publicaram as “Orientações para Tratamento de Doenças Sexualmente Transmissíveis” (*2002 STD Treatment Guidelines*), com a recomendação de que testes para a detecção de anticorpos anti-HSV-2 estejam disponíveis quando os pacientes têm diagnóstico de herpes genital, entretanto, não há indicação de triagem para o HSV-1 e HSV-2 na população geral.

Atualmente, os testes tipo-específicos baseados em glicoproteínas G aprovados pelo FDA incluem o POCKitTMHSV-2 (*Diagnology*) (Figura 4), o HerpeSelectTM- ELISA 1 IgG ou o HerpeSelectTM- ELISA -2 IgG (*Focus Technology, Inc*) e o HerpeSelectTM 1 and 2 Immunoblot IgG (*Focus Technology, Inc*). O teste POCKitTMHSV-2 fornece resultado de anticorpos para o HSV-2 a partir de amostras do sangue capilar ou do soro em poucos minutos, no contexto de uma visita clínica. É considerado um teste confiável, com elevada sensibilidade e especificidade. Quando há infecção pelo HSV-2, o teste torna-se positivo em poucas semanas na maioria dos pacientes.



Figura 4: Teste POCKit™HSV-2 - *Diagnology*

O teste da *Focus Technology* (HerpeSelect™- ELISA 1 IgG ou HerpeSelect™- ELISA –2 IgG) é um método sorológico tipo-específico para detecção de anticorpos contra a glicoproteína recombinante gG do HSV-2 (Figura 5). A sensibilidade desses testes na detecção de anticorpos para o HSV-2 varia de 80 a 98%, e resultados falso-negativos podem ocorrer, especialmente em estágios iniciais da infecção pelo HSV-2. A especificidade desses testes é igual ou superior a 96%. Resultados falso-positivos podem ocorrer, especialmente em pacientes onde a infecção constitui um evento pouco provável. Em alguns casos, a repetição do teste ou a utilização de um teste confirmatório (por exemplo, um teste de *Immunoblot* se o teste inicial foi um ELISA) podem constituir alternativas válidas.

Teste tipo-específico HerpeSelect-1 e HerpeSelect-2



Figura 5: Teste HerpeSelect™- ELISA 1 IgG ou HerpeSelect™- ELISA –2 IgG - *Focus Technology*

Estudos demonstraram que o valor preditivo positivo deste teste em populações com alta prevalência para a infecção pelo HSV-2 (89-98%) foi aceitável para sugerir seu uso sem necessidade de teste confirmatório (Ashley-Morrow et al., 2004; CDC, 2002; Cusini et al., 2000) e que este teste poderia ser útil na triagem de adultos sexualmente ativos para detectar infecções causadas pelo HSV-2 não identificadas clinicamente (CDC, 2002).

Testes diagnósticos mais precisos da infecção pelo HSV podem proporcionar um melhor controle clínico, assegurar tratamento em tempo adequado e fornecer aconselhamento apropriado para doenças específicas e uma avaliação criteriosa dos fatores de risco subjacentes à transmissão dessas infecções.

2.8 Aspectos Associados à co-Infecção HIV-HSV-2

Diversos fatores aumentam o risco de transmissão do HIV e devem ser levados em consideração na sua prevenção. Alguns atuam aumentando a infectividade do indivíduo com HIV, tais como a evolução imunodeficiência e a presença de certas co-infecções (como malária, infecções helmínticas e tuberculose). Outros podem aumentar, simultaneamente, a infectividade e susceptibilidade, como a presença de outras doenças sexualmente transmissíveis (DST) (Cohen, 2004), especialmente aquelas que causam doença genital ulcerada (DGU) (Wald & Link, 2002; Fleming et al., 1999; Grosskurth, 1995).

O risco de transmissão do HIV está também relacionado à concentração de HIV no esperma e na secreção cérvico-vaginal. A probabilidade estimada de transmissão do HIV aumenta com o aumento da concentração viral de HIV nestas secreções. No esperma a probabilidade de transmissão varia de aproximadamente 1/1.000, quando a concentração viral é de 50.000 cópias/mL de RNA do HIV, para 1/100, quando a carga viral é de 1 milhão de cópias/mL (Chakraborty, 2001). A fase aguda da infecção pelo HIV é especialmente favorável à sua transmissão, e aproximadamente 50% de todos os casos de transmissão do HIV possivelmente ocorrem durante os estágios iniciais da infecção pelo HIV (Wawer et al., 2003).

Outras DST podem facilitar a aquisição e a transmissão do HIV através de diferentes mecanismos. Em relação à susceptibilidade, as DST podem diminuir as barreiras físicas e mecânicas à penetração dos vírus (por exemplo, causando lesões na mucosa), aumentar o número de receptores celulares ou a densidade destes receptores (por exemplo, causando inflamação persistente), bem como produzir um ambiente mais favorável à transmissão (por exemplo, na vigência de vaginose bacteriana, aumentando o nível de anaeróbios ou aminas) (Gadkari et al., 1998). A ruptura da mucosa propicia a entrada direta do HIV no sangue. Além disso, o epitélio em cicatrização após um episódio de DGU e a presença de postatite podem levar a novas ulcerações genitais durante o intercuro sexual ou a infecções secundárias (associadas à higienização inadequada da região genital), aumentando o risco de transmissão da infecção pelo HIV (Weiss, 2004; O'Farrell, 2001).

Em relação à infectividade, as DST podem favorecer a emergência de variantes mais infecciosas do HIV (Ping, 2000) e aumentar a concentração de HIV nas lesões genitais (Gadkari et al., 1998; Cohen et al., 1997). Os objetivos centrais das iniciativas que visam reduzir o risco de transmissão e aquisição do HIV associado às DST são a redução da concentração de HIV na secreção genital e da taxa de aquisição do HIV mediante o tratamento destas doenças em pacientes infectados ou não pelo HIV (Cohen, 1997).

As úlceras genitais inespecíficas, em particular aquelas causadas pelos vírus do herpes, representam um fator de risco potencial para a aquisição e transmissão do HIV (Reynolds, 2003; Wald & Link, 2002; Ballard et al., 1999; Risbud et al., 1999; Fleming et al., 1999; Mertz et al., 1998; Wasserheit, 1992; Hook, 1992). Desta forma, o estudo da patogênese e da epidemiologia do HSV-2 torna-se especialmente relevante no contexto da epidemia de HIV/Aids (Celum et al., 2004; Rodriguez et al., 2003; Wald, 2002; Buve et al., 2001).

O sinergismo entre a infecção pelo HSV-2 e a transmissão do HIV foi evidenciado em diversos estudos (Corey et al., 2004; Celum et al., 2004; Wald, 2002). Esta interação é bidirecional, uma vez que o HSV aumenta o risco de aquisição e, possivelmente, de transmissão do HIV (Wald & Link, 2002; Auvert et al., 2001; Weiss et al., 2001; Mbopi et al., 2000; Gwanzura et al., 1998; Kinghorn, 1994; Hook et al., 1992), enquanto o HIV agrava a expressão clínica do HSV-2 (Weiss, 2004; Schacker et al., 1998).

Várias proteínas do HSV aumentam a expressão do HIV-1 (Margolis et al., 1993) e o HSV infecta e se replica em células CD4 ativadas e macrófagos (Kucera et al., 1990). Tanto vírions inativados como viáveis (infecciosos) do HSV-1 e HSV-2 determinam aumento na expressão do HIV-1 em macrófagos (Kucera et al., 1990). A microscopia eletrônica demonstrou também a presença do HSV em queratinócitos e macrófagos (Heng, 1994).

Estudos evidenciaram que a reativação subclínica do HSV está também associada ao aumento da replicação do HIV na superfície mucosa. Este dado tem grande relevância epidemiológica, uma vez que grande parte das reativações do HSV-2 no trato genital são clinicamente inaparentes, ainda que associadas à destruição mucosa e infiltração linfocítica. O HSV atravessa as lesões mucosas, atingindo a submucosa, e pequenas ulcerações

precedem o desenvolvimento da reativação subclínica (Corey, 1999). Estas soluções de continuidade em mucosas e na pele da região genital criam portas de entrada para o HIV. Lesões pelo HSV-2, ao causarem um processo inflamatório, concentram linfócitos T CD4+ ativados, os quais atuam como células-alvo para a ligação e entrada do HIV no trato genital durante episódios de reativação do HSV-2 (Cohen, 2004). A ruptura da mucosa e a elevação do número de células CD4+ ativadas aumentam a probabilidade de que a infecção pelo HIV ocorra de fato (Corey et al., 2004). Além disso, episódios de reativações subclínicas do HSV-2 estão associados a um aumento de excreção do HIV nas lesões e mucosa genital (Celum et al., 2004; Corey et al., 2004).

Em um estudo prospectivo envolvendo 12 homens soropositivos para o HSV-2 e para o HIV, foi evidenciado RNA do HIV-1 em lesões, durante 25 dos 26 episódios de reativações periódicas de herpes genital, com uma carga viral do HIV mais elevada nas lesões genitais do que no sangue, sugerindo que a reativação do HSV aumentaria a infectividade do HIV em pessoas co-infectadas pelo HIV e HSV (Schacker et al., 1998).

Uma meta-análise de achados epidemiológicos referentes ao HSV-2 e risco de infecção pelo HIV entre heterossexuais norte-americanos (Wald & Link, 2002) determinou que a infecção pelo HSV-2 estava associada a um risco aumentado em até duas vezes de aquisição do HIV (frente aos não infectados pelo HSV-2). Em estudos realizados na África, entre heterossexuais, a infecção pelo HSV-2 foi considerada como o principal risco para a aquisição do HIV (Buve et al., 2001; Wald et al., 1995).

Dados biológicos de estudos *in vivo* e *in vitro* têm corroborado com a hipótese que o HSV-2 aumenta a infectividade do HIV (Celum et al., 2004).

Um estudo conduzido na Tanzânia por Del Mar et al. (2002) explorou a relação e o tempo entre a ocorrência da infecção prevalente e incidente pelo HSV-2 e a soroconversão para o HIV entre 127 homens e mulheres. Foi observada uma forte associação entre a infecção pelo HSV-2 e a soroconversão para o HIV entre os 70 homens que compunham a casuística do estudo, tendo 60 destas soroconversões ocorrido em homens com infecção pelo HSV-2. A incidência da infecção pelo HIV em homens soropositivos para o HSV-2 foi significativamente mais elevada entre os homens que soroconverteram para o HSV-2 ao longo dos dois primeiros anos de seguimento, ou seja, entre os casos incidentes de infecção

pelo HSV-2 (se comparados aos casos prevalentes quando da avaliação de linha de base), sugerindo que a intensidade da infecção e as reativações em curto intervalo de tempo, mais frequentes entre pacientes recém-infectados pelo HSV-2, desempenham papel relevante na ampliação do risco de aquisição do HIV. Por outro lado, os achados entre mulheres não foram conclusivos (Del Mar, 2002).

Em um estudo seccional de 1.507 indivíduos, com idades entre 14-24 anos de idade, na África do Sul, a soropositividade para o HSV-2 se mostrou um fator de risco independente para a infecção pelo HIV, com um aumento das chances de infecção entre aqueles infectados pelo HSV-2 de até sete vezes (Auvert et al., 2001).

Buve et al. (2001) avaliaram os fatores associados à prevalência da infecção pelo HIV em quatro cidades na África, duas com alta prevalência do HIV e duas com prevalência relativamente baixa. Os autores concluíram que a elevada prevalência da infecção pelo HSV-2 entre homens e mulheres, e da tricomoníase, em mulheres, além da baixa prevalência de circuncisão em homens das duas cidades onde a prevalência para o HIV era elevada explicavam parte substancial das variações na prevalência do HIV nestas quatro cidades (ainda que controlando os achados pelas eventuais diferenças na frequência dos diferentes comportamentos de risco). Dada a alta soroprevalência para o HSV-2 nas cidades com alta prevalência para o HIV, Buve et al. hipotetizaram que haveria um sinergismo entre as duas infecções (pelo HSV-2 e HIV). Weiss et al. (2001) avaliaram detidamente, neste mesmo estudo, o papel da infecção pelo HSV-2, concluindo que, em três das quatro cidades, a prevalência do HSV-2 foi maior do que 50% entre as mulheres e 25% entre os homens. Em todas as quatro cidades as prevalências de HSV-2 e HIV se mostraram estreitamente correlacionadas.

Um estudo realizado na Índia evidenciou um aumento no risco de aquisição do HIV em indivíduos soropositivos para o HSV-2 (quando comparado com soronegativos para o HSV-2), especialmente entre aqueles recém-infectados pelo HSV-2 (Reynolds, 2003).

O herpes genital foi identificado como causa de mais de 40% das úlceras genitais em estudos conduzidos até meados dos anos 90 nos países africanos mais afetados pela epidemia de HIV/Aids (O'Farrell, 2001). Também no contexto latino-americano, a infecção

incidente pelo HSV-2 se mostrou associada a um aumento significativo da chance de aquisição do HIV-1 entre HSH, no Peru (Sanchez et al., 2001).

Um estudo conduzido entre homens infectados e não infectados pelo HIV, atendidos em clínica de atendimento de DST em cidades sul-africanas (Durban, Joanesburgo e Cidade do Cabo), que incluiu 558 homens com úlceras genitais e 602 homens com uretrite, o HSV-2 foi detectado em 35,9% de material coletado das úlceras, sendo 47,4% provenientes de pacientes co-infectados pelo HIV. Pacientes com DGU se mostraram mais freqüentemente infectados pelo HIV, se comparados aos pacientes com uretrite (39,4% vs. 21,4%; $P \leq 0,001$), sugerindo uma forte associação entre a infecção pelo HSV-2 e HIV entre pacientes que apresentam DGU (Chen et al., 2000).

A prevalência de anticorpos para o HSV-2 entre pacientes atendidas em uma clínica para tratamento de DST, na Tanzânia, foi de 80%, utilizando-se a técnica de PCR, enquanto os anticorpos anti-HIV foi detectado em 42% dos soros (Mwansasu, 2002). Apesar da forte associação entre a infecção pelo HIV e soropositividade para o HSV-2, o DNA do HSV-2 isolado nas úlceras genitais não foi mais prevalente entre os pacientes infectados pelo HIV, quando comparados aos não-infectados. O HSV-1 não foi encontrado em nenhuma das úlceras genitais nesta população.

Um estudo conduzido em Pune, Índia, envolvendo 302 pacientes atendidos em clínica de tratamento de DST, entre 1994 e 1996, evidenciou uma soroprevalência da infecção pelo HIV de 22,2%. Esta se mostrou significativamente mais elevada entre aqueles que apresentavam sorologia positiva para o HSV-2 (OR= 2,1; IC 95%, 1,2-3,7), quando comparados com pacientes infectados por outras infecções (Risbud et al., 1999).

Os dados observacionais mais consistentes acerca dos efeitos da infecção pelo HSV-2 sobre a aquisição e transmissão do HIV-1 provêm das análises referentes à comunidade de Rakai, Uganda (Wawer et al., 1999). Anticorpos anti-HSV-2 foram detectados em 61% das mulheres com idade entre 15-29 anos e 31% dos homens com idade semelhante. A análise dos dados de uma coorte de casais monogâmicos de Rakai, sorodiscordantes para o HIV-1, permitiu definir a taxa de aquisição e transmissão do HIV por contato sexual (desprotegido) no contexto de outros fatores de risco, como os níveis de HIV-1 RNA do parceiro infectado pelo HIV-1 (Gray et al., 2001; Quinn et al., 2000). Os

sintomas de uretrite e o diagnóstico de DST confirmado em laboratório, incluindo gonorréia, infecção por *Chlamydia* e Tricomoníase não aumentaram o risco de aquisição do HIV-1 por contato sexual (Gray et al., 2001). A probabilidade de infecção pelo HIV-1 por contato sexual foi, entretanto, cinco vezes mais elevada quando o parceiro susceptível era soropositivo para o HSV-2 (quando comparados aos parceiros não infectados pelo HSV-2). Essa associação foi observada entre homens e mulheres. Além disso, o risco de aquisição do HIV foi também maior na vigência de infecções assintomáticas pelo HSV-2, sugerindo que infecções subclínicas pelo HSV-2 são quase tão importantes quanto lesões clinicamente diagnosticadas em relação ao aumento da susceptibilidade ao HIV (Gray et al., 2001). A taxa de aquisição do HIV-1 por contato sexual de pessoas soropositivas para o HSV-2 com parceiros que tinham carga viral plasmática para o HIV <1.700 cópias/ml foi similar à dos indivíduos soronegativos para o HSV-2 com parceiros com carga viral plasmática para o HIV de 12.000 a 39.000 cópias/ml.

Apesar deste estudo ter sido conduzido entre pessoas que não recebiam a HAART (*Highly Active Anti-retroviral Therapy* – Terapia anti-retroviral altamente potente), seus achados ressaltaram o papel do HSV-2 como cofator possivelmente relevante da transmissão do HIV no contexto da HAART, ou seja, em situações de redução da carga viral do HIV devido ao efeito da medicação. O estudo evidenciou que cargas virais elevadas do parceiro infectado pelo HIV e a ulceração genital nos parceiros suscetíveis foram os principais determinantes da transmissão do HIV. Especificamente, a soropositividade para o HSV-2 do parceiro suscetível aumentou o risco de aquisição do HIV em 5 a 8 vezes por contato sexual, independente da carga viral para o HIV do parceiro infectado.

A prevalência da infecção pelo HSV-2 poderia explicar os resultados contrastantes dos estudos de intervenção em DST conduzidos em Muanza, Tanzânia, e Masaka e Rakai, Uganda em relação à infecção pelo HIV-1. Foram fornecidos três ciclos de tratamento em massa para DST bacterianas a cada 10 meses, em 56 comunidades rurais de Rakai, Uganda, de 1994 a 1997. A intervenção resultou em uma queda modesta na prevalência de sífilis, mas não redundou em redução na incidência do HIV-1 (Grosskurth et al., 2000). O HSV-2 foi identificado como causa de 45% das úlceras genitais que foram pesquisadas e que

tiveram etiologia confirmada naqueles pacientes (Grosskurth et al., 2000). Em Rakai, a prevalência e incidência do HIV-1 são mais elevadas do que em Mwanza, onde o tratamento sintomático de DST reduziu em 40% a incidência da infecção pelo HIV-1 (Grosskurth et al., 2000). Indivíduos coinfetados pelo HIV e o HSV-2 podem apresentar episódios mais freqüentes de herpes genital, com lesões sintomáticas e úlceras quando comparados aos soronegativos para o HIV. Este fato pode elevar o risco de transmissão do HIV aos parceiros sexuais. Kamali et al. (2003) observaram que intervenções comportamentais e um melhor manejo dos casos de DST determinaram um efeito pouco expressivo sobre a incidência do HIV-1 em Masaka, Uganda, onde há uma prevalência elevada de infecção pelo HIV-1 e uma prevalência igualmente elevada da infecção pelo HSV-2.

Com o propósito de avaliar os resultados das intervenções visando ao controle das DST, com ênfase no controle de DST bacterianas, nessas três comunidades (duas em Uganda e uma na Tanzânia), Orroth et al. (2003) compararam as práticas sexuais e a prevalência de DST naquelas populações, evidenciaram uma prevalência elevada de infecção pelo HSV-2 nas três populações, indicando que este vírus pode ser um fator importante para explicar a diferença nos resultados dos estudos. A infecção causada pelo HSV-2 foi mais prevalente do que outras DST bacterianas combinadas.

Uma meta-análise da literatura realizada por Freeman et al. (no prelo), evidenciou que a prevalência da infecção pelo HSV-2 era um fator de risco estatisticamente significativo (após ajustes para idade e práticas sexuais), para a aquisição do HIV em homens e mulheres da população geral nos diversos estudos longitudinais analisados. Homens e mulheres, com práticas exclusivamente heterossexuais, infectados pelo HSV-2 tinham, aproximadamente, uma chance três vezes maior de adquirir a infecção pelo HIV. Entre homens que fazem sexo com homens (HSH), o efeito se mostrou menos pronunciado, se comparado aos homens com práticas heterossexuais. Estes achados podem se dever a vícios ou refletir, de fato, diferenças secundárias às diferentes vias de transmissão. Entre mulheres consideradas de alto risco para a aquisição de DST, a relação entre a prevalência de HSV-2 e a aquisição de HIV não foi consistente. As variações e contrastes entre os diferentes estudos revisados poderiam se dever às prevalências das demais DST, que atuam

como cofatores da transmissão do HIV. A diferença pode ser ainda resultante de fatores de confusão, em virtudes de ajustes mais ou menos adequados nos diferentes estudos.

Um estudo foi realizado com HSH no Senegal, onde esta prática é considerada um ato criminoso tanto pelas autoridades religiosas e políticas, como pela população. Foram desenvolvidas análises sócio-comportamentais e laboratoriais para avaliar a relação entre DST e infecção pelo HIV (Wade et al., 2005). Nos cinco centros que integraram o estudo, foram incluídos 463 homens (HSH). A prevalência de infecção pelo HIV foi de 21,5%, com o predomínio do HIV-1 (frente ao HIV-2). Foi evidenciada infecção pelo HSV-2 em 22,3% desses indivíduos, infecção esta que se mostrou fortemente associada à infecção pelo HIV (OR 4,76; IC 95%, 2,89-7,83). O OR ajustado para idade, centro integrante do estudo, ocupação, viagem para outro país da África e consumo de álcool foi de 3,83 (IC 95% 2,26-6,430). Dos 463 participantes examinados, 4,8% tinham pelo menos um sinal ou sintoma de DST no momento da entrevista. Com relação aos doze meses que antecederam a entrevista, 35,1% dos homens relataram ao menos um sintoma de DST. Observou-se uma associação entre história de sintomas sugestivos de DST e infecção pelo HIV (OR 1,63; IC 95% 1,03-2,60), que, no entanto, não se mostrou estatisticamente significativa quando ajustada para idade, centro integrante do estudo, ocupação, viagem para outro país da África e consumo de álcool (OR ajustado, 1,47; IC 95%, 0,77-2,39). A análise multivariada dos fatores de risco evidenciou que a prevalência do HIV aumenta com a idade, ocupação (ser garçom ou *barman*) e entre aqueles com mais de nove parceiros ao longo da vida.

Outro estudo realizado por Buve et al. (2001) na África subsaariana, que avaliou fatores associados à transmissão diferencial do HIV em cidades com alta e baixa prevalência para o HIV ao nível populacional, evidenciou que soroprevalências altas para o HSV-2 ao nível da população geral e taxas baixas de circuncisão eram os principais fatores de risco para transmissão do HIV.

Apesar da infecção pelo HSV ser uma das infecções oportunistas descritas nos relatos iniciais de casos de Aids, em 1981 (Siegal et al., 1981), ela só veio a ser estudada de forma sistemática algum tempo depois em pessoas vivendo com HIV-1. No contexto de doença avançada pelo HIV e não tratada, as úlceras pelo HSV são freqüentemente extensas, profundas, algumas vezes mimetizando cancro mole, com cicatrização lenta, e

freqüentemente, com apresentação em regiões atípicas do corpo. Entretanto, quadros desta gravidade representam apenas uma pequena parcela do espectro da apresentação clínica do herpes genital em pessoas infectadas pelo HIV-1, subestimando a freqüência real de reativação em mucosa do HSV-2 nesta população (Corey et al., 2004). Assim como na história natural do HSV-2 em pessoas imunocompetentes, em pessoas com HIV/Aids, a maioria das reativações do HSV-2 é subclínica.

Schacker et al. (1998) e Augenbraun et al. (2001) coletaram dados provenientes de estudos conduzidos em Seattle, EUA, acerca da reativação do HSV entre homens coinfectados pelo HIV-1 e HSV-2. A reativação do HSV-2 foi mais freqüentemente observada entre os homens soropositivos para o HIV (se comparados aos soronegativos para o HIV), com elevada freqüência de reativações subclínicas da infecção pelo HSV-2 em populações imunocomprometidas. A contagem de células CD4+ e do RNA do HIV-1 plasmático modulou as taxas de reativação do HSV-2. Uma correlação direta foi observada entre o número de dias em que o HSV foi detectado por cultura ou PCR e a carga viral (PCR-RNA) plasmática. Por outro lado, uma correlação inversa foi evidenciada entre a contagem de células CD4+ e freqüência de reativação do HSV (Schacker et al., 1998). Entretanto, a reativação ocorre com relação a todos os estratos definidos a partir da contagem de células CD4+, e diversas pacientes com contagens de células CD4 >350 cels/mm³ apresentaram reativação tão freqüente quanto aqueles com contagem de CD4 <100 cels/mm³ (Augenbraun et al., 2001; Schacker et al., 1998).

Posavad et al. (2004) observaram que a reativação subclínica é freqüente mesmo entre os pacientes tratados com a HAART. Este dado sugere que a interação entre HSV-2 e HIV permanece uma preocupação, mesmo entre os pacientes com reconstituição imune.

Diversos estudos têm avaliado o impacto da reativação do HSV sobre a carga viral (PCR-RNA) plasmática do HIV. Alguns estudos evidenciaram uma elevação no PCR-RNA associada a lesões genitais (Serwadda et al., 2003), o que não foi confirmado por outras análises (Schacker et al., 2002).

Dois estudos que avaliaram a excreção viral subclínica do HSV sugeriram que o HSV-2 influencia significativamente a replicação do HIV-1. Gray et al. (2003) observaram que em homens e mulheres com infecções recentes pelo HIV-1, em Rakai, coinfectados

pelo HSV-2 e HIV-1, apresentavam títulos de RNA-HIV elevados de meio log frente aos soropositivos para o HIV que eram soronegativos para o HSV-2. Schacker et al. (2002) estudaram a influência da infecção pelo HSV na replicação do HIV-1 *in vivo*, a partir da administração crônica diária de aciclovir, fármaco com ação antiviral, em indivíduos coinfectados (Schacker et al., 2002). Mensurou-se o nível de HIV através de RNA-PCR plasmático, antes e após a administração do aciclovir, em pacientes coinfectados. Observou-se uma redução do nível plasmático de HIV-RNA da ordem de um terço de log, em 11 dos 12 indivíduos que utilizaram o aciclovir. Foi evidenciado retorno dos níveis de RNA-HIV-1 aos níveis vigentes antes da administração do aciclovir, após a descontinuação da terapia com aciclovir. Estes estudos subsidiariam os achados de estudos anteriores em que o uso de monoterapia com zidovudina se mostrou associado a um aumento na sobrevida, quando do uso conjunto do aciclovir (Ioannidis et al., 1998).

3 OBJETIVOS

1. Estimar a prevalência de HSV-2 em uma coorte de homens que fazem sexo com homens que foram atendidos no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Rio de Janeiro, no período de 1994-1998
2. Descrever fatores de risco associados à infecção pelo HSV-2 desta coorte – demográficos, comportamentais e biológicos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.7 Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo seccional, no qual foram analisados dados demográficos, sócio-comportamentais e laboratoriais, referentes à visita de base de uma coorte de homens que fazem sexo com outros homens (Projeto Rio), soronegativos para o HIV, com comportamento de risco para a aquisição da infecção pelo HIV, que incluiu voluntários no período entre 1994-1998, no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), Fundação Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro.

Como o protocolo original do estudo não contemplava a avaliação de taxas de infecção pelo vírus *Herpes simplex* tipo 2 (HSV-2), para avaliação da prevalência desta infecção, foram avaliadas amostras de soro congeladas no Laboratório de Imunologia do IPEC (Soroteca do projeto), referentes à linha de base da referida coorte. Estas amostras foram pareadas aos questionários respondidos naquela ocasião, através de códigos de identificação comuns a amostras laboratoriais e formulários utilizados no estudo.

4.8 Sobre a Coorte (Projeto Rio)

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Programa Conjunto das Nações Unidas em HIV/Aids (UNAIDS) estabeleceram, no início dos anos 1990, um programa abrangente visando coordenar estudos preparatórios para vacinas e estudos com vacinas anti-HIV/Aids em países em desenvolvimento, em diferentes áreas geográficas. Em 1992, o Brasil foi selecionado como um dos quatro países (além de Tailândia, Uganda e Ruanda), para receber suporte técnico e financeiro visando à implementação de estudos preparatórios de avaliação de eficácia (Fase III) de produtos candidatos a vacinas para o HIV. Esta seleção ocorreu após avaliações acerca da natureza e magnitude da epidemia no país, assim como da infra-estrutura e capacidade de coordenação local de estudos desta natureza.

A iniciativa da OMS/UNAIDS resultou na constituição de um grupo de trabalho, com atuação em três localidades, correspondentes a centros de referência situados nas capitais de três estados brasileiros — Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo —, com o objetivo de estimar a incidência do HIV, consolidar a infra-estrutura e capacitar pessoal, elementos essenciais ao balizamento e perspectivas dos futuros protocolos vacinais.

O Ministério da Saúde do Brasil e as autoridades de saúde e acadêmicas dos três estados envolvidos decidiram constituir e acompanhar coortes de homens que fazem sexo com homens (homo e bissexuais masculinos), supondo-se que seriam evidenciadas nessa população taxas médias ou mesmo elevadas de incidência da infecção pelo HIV. Era necessário conhecer melhor as características dessa população, sabidamente afetada pela epidemia, além de apostar na auto-organização e conscientização incontestavelmente presentes nessa população.

O Projeto Rio foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Clínica da Fundação Oswaldo Cruz, sendo os voluntários incluídos após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), fazendo parte deste TCLE a informação de que seriam realizados, naquele momento ou futuramente, diversos testes laboratoriais visando avaliar as taxas de infecção para diferentes DST.

4.8.2 População do Estudo

Homens que fazem sexo com outros homens, soronegativos para o HIV no recrutamento, com idade entre 18-50 anos, residentes no Estado do Rio de Janeiro e interessados em participar de protocolo de pesquisa clínica, expressando formalmente sua anuência em participar através da leitura e assinatura de TCLE.

4.8.3 Critérios de inclusão da coorte (Projeto Rio)

- 1 Ser do sexo masculino
- 2 Já ter feito sexo com outros homens
- 3 Ter idade entre 18-50 anos no recrutamento

- 4 Ter sorologia anti-HIV negativa no momento do recrutamento
- 5 Não estar trabalhando como profissional do sexo no momento do recrutamento
- 6 Não ser travesti ou transexual
- 7 Residir no Estado do Rio de Janeiro
- 8 Demonstrar interesse em participar de Protocolo de pesquisa clínica
- 9 Assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e concordar em aderir aos procedimentos do estudo

4.8.4 Objetivo da realização da coorte (Projeto Rio)

O objetivo principal da constituição desta coorte foi avaliar o desejo de homens que fazem sexo com outros homens de participar de um estudo preparatório (Projeto Rio) para a inclusão em um estudo de fase III para a testagem de vacina anti-HIV.

4.8.5 Procedimentos da coorte (Projeto Rio)

4.8.5.3 Recrutamento

Os voluntários do Projeto Rio foram recrutados através de estratégias combinadas, como a referência de pacientes provenientes de Centros Municipais de Saúde, através de divulgação na mídia (jornais, rádio e televisão), através de atividades comunitárias, como contato pessoal, pequenas redes em boates e bares direcionados ao público-alvo, e, finalmente, através da divulgação verbal por parte de outros voluntários do estudo (“bola-de-neve”) e militantes de organizações não governamentais (ONG).

4.8.5.4 Visitas

Os voluntários potenciais eram avaliados pelos profissionais de saúde que integravam a equipe do ‘Projeto Rio’ e recebiam informações detalhadas acerca dos seus objetivos e procedimentos. Eram, inicialmente, triados com coleta de amostra de sangue para a testagem para o HIV, sífilis e marcadores para hepatite B, após aconselhamento pré-

teste, sendo, então, a amostra enviada ao laboratório, protegida por codificação específica, para análise e estocagem em *freezer* a -20°C . Os candidatos retornavam em aproximadamente uma semana para buscar os resultados dos seus testes laboratoriais. Todos os candidatos, independente do resultado da sorologia anti-HIV, receberam aconselhamento pós-teste. Aqueles que apresentaram sorologia reagente (positiva) para a infecção pelo HIV foram referenciados para tratamento especializado em unidades de saúde próximas à sua residência ou foram incluídos em algum protocolo para investigação clínica em pacientes assintomáticos do IPEC. Os que apresentaram sorologia não-reagente (negativa) para a infecção pelo HIV foram convidados a participar do Estudo e após esclarecimentos pertinentes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O exame clínico integrava os procedimentos de admissão então utilizados. Respondiam, então, a um questionário estruturado, contemplando variáveis relativas a dados sócio-demográficos, comportamentais, atitudes e percepção de risco para a aquisição do HIV.

4.8.5.5 Coleta de dados

Para o Projeto Rio foi utilizado um questionário estruturado, composto por 4 diferentes módulos e administrados por entrevistadores treinados, em Português. Desta forma, as informações que passaram a integrar o banco de dados foram obtidas de formulários diversos:

- a) formulário de visita inicial, com enfoque nas razões para participar do estudo, dados referentes ao estudo, conhecimento prévio sobre o projeto, resultados prévios de sorologia;
- b) questionário sócio-comportamental, incluindo dados demográficos, conhecimento sobre HIV/Aids, atitude sexual, práticas sexuais, estratégias de prevenção e uso de drogas. Este foi o único questionário utilizado no presente estudo e encontra-se em anexo (página 120-147).
- c) questionário de avaliação clínica, com dados referentes a doenças sexualmente transmissíveis e exame físico
- d) formulário para sistematização de exames laboratoriais coletados

As variáveis coletadas incluíam dados sociais e demográficos (idade, renda, nível de educação, raça), tipos de parceria sexual, práticas sexuais recentes e uso de preservativos na prática de sexo oral e sexo penetrativo (anal e vaginal, no caso de homens com práticas bissexuais).

“Parceiro fixo” foi definido para os propósitos do projeto original (Projeto Rio) como a pessoa com quem o voluntário planejou (quando do primeiro encontro) um novo encontro e com quem ele tinha um envolvimento emocional. “Parceiros casuais” foram definidos aqui como aqueles com quem o voluntário tinha um (ou mais) encontro(s) sexuais sem marcar data para um encontro futuro.

Todos os comportamentos de risco foram coletados com referência aos seis meses anteriores à entrada do voluntário no estudo, compreendendo qualquer contato sexual penetrativo (anal ou vaginal) desprotegido, ao longo deste período.

Para fins de análise, a coorte foi estratificada em um grupo de indivíduos ditos exclusivamente homossexuais e um grupo de bissexuais, baseado na sua história de práticas sexuais exclusivas com outros homens, ou com homens e mulheres durante toda a sua vida.

4.8.5.6 Exames laboratoriais realizados no âmbito do Projeto Rio

Eram coletados 10 mL de sangue venoso de cada voluntário para sorologia, utilizando tubos Vacutainer^R (*Becton Dickinson*), aliquotando em média 1 ml de soro para soroteca e coleta de 5 ml de sangue venoso obtido para contagem total de células, em tubo Vacutainer^R contendo EDTA (ácido etilenodiaminotetracético). As amostras foram centrifugadas a 3.000 rotações/minuto (RPM) durante 10 minutos. Os soros foram depositados em *cryovials*, etiquetados com iniciais, data da coleta e número da coleta e mantido em um *freezer* a menos 20 graus Celsius.

Os testes laboratoriais sorológicos Anti-HIV e para sífilis (VDRL e TPHA) foram realizados no Laboratório de Imunologia do IPEC e a sorologia para hepatite B no Departamento de Virologia do IPEC. Os testes anti-HIV utilizados foram dois tipos diferentes de ELISA (*Enzyme Linked Immunoassay*): HIV Uniform-Form II (Organon

Teknika, Boxtel, The Netherlands) e Enzygnost anti-HIV 1/2 Plus (Behring, Marburg, Germany). Todos os soros foram testados por teste de Imunofluorescência produzido por Bio-Manguinhos (Departamento de Desenvolvimento Tecnológico da FIOCRUZ). A sorologia para sífilis foi realizada pelo método VDRL (*Veneral Disease Research Laboratory*) e pelo TPHA (*Treponema pallidum Haemoagglutination Absortion*, Randox Laboratories, Antrim, UK) utilizado como método confirmatório. Os marcadores de hepatite foram processados através do EIA (Ensaio Imunoenzimático, Biomanguinhos-FIOCRUZ), tendo sido avaliados os seguintes marcadores: HBsAg (antígeno), Anti-HBs (anticorpo) e Anti-HBc (anticorpo).

Os voluntários que participaram do Projeto Rio foram submetidos a avaliações comportamentais, clínicas e laboratoriais semestrais, bem como receberam aconselhamento sobre sexo seguro, ao longo dos 3 (três) anos de duração do projeto.

Foram realizadas visitas não programadas visando atender às demandas prementes dos voluntários, caso estes apresentassem alguma queixa ou sinais/sintomas sugestivos de Doença Sexualmente Transmissível. Para o diagnóstico e tratamento das infecções/doenças sexualmente transmissíveis foi utilizada a abordagem sindrômica, preconizada pelo Ministério da Saúde (Manual do Ministério da Saúde e/ou CDC).

Preservativos masculinos foram sistematicamente oferecidos, de forma gratuita, ao longo de todo o período de acompanhamento.

Um total de 1.165 indivíduos foram recrutados e avaliados pelo Projeto Rio. Destes, foram incluídos na coorte do Projeto Rio 647 voluntários por atenderem aos critérios de inclusão do estudo (página 50-51).

Sendo a coorte formada de soronegativos para o HIV, a infecção pelo HIV constatada através da sorologia positiva foi critério de exclusão no estudo. Portanto, alguns indivíduos foram excluídos já nesta fase do estudo, não chegando a integrar a coorte.

4.9 Análise estatística

O presente estudo utilizou o banco de dados do Projeto Rio, tendo analisado exclusivamente os dados referentes à visita de linha de base do referido Projeto.

O banco do Projeto Rio foi originalmente construído em SPSS (*Statistical Package for Social Science*), na sua versão 6.0.

Dentre um amplo conjunto de variáveis que integravam o projeto original, foram excluídas aquelas que diziam respeito exclusivamente às demandas específicas do estudo preparatório para vacinas anti-HIV/Aids, tais como o desejo de participar de futuros estudos vacinais, variáveis estas exploradas em estudos anteriores (de Souza et al., 2003). Para o presente estudo, foram selecionadas variáveis sócio-demográficas e comportamentais, além de variáveis que foram previamente identificadas na literatura internacional como relacionadas à infecção pelo HSV-2 entre HSH (principais preditores e variáveis de confundimento).

A infecção pelo HSV-2, definida segundo os critérios laboratoriais descritos, constituiu o desfecho (variável-resposta) do presente estudo. Foram avaliadas diversas covariáveis de natureza sócio-demográfica, comportamental e clínico-laboratorial, potencialmente associadas ao desfecho.

A análise levou em consideração as habituais limitações dos estudos seccionais, em que as covariáveis e o desfecho são mensurados em um mesmo momento, incapazes, portanto, de avaliar a direcionalidade de algumas das associações evidenciadas (ou seja, em todas as associações em que a bidirecionalidade for plausível do ponto de vista lógico e biológico).

4.10 Cálculo amostral

O fato do presente estudo utilizar-se de amostra do Projeto Rio e, portanto, definida sobre critérios externos ao presente estudo, não o desobrigou de realizar uma avaliação criteriosa da exeqüibilidade do estudo, incluindo a avaliação da factibilidade da testagem de amostras estocadas por longo tempo e a comprovação de que o presente estudo dispõe de

suficiente poder estatístico em consonância com os seus objetivos específicos. Isto foi feito, através de um estudo-piloto e de cálculo do poder estatístico, constatando-se ser o estudo factível e dispor o mesmo de poder estatístico adequado para o conjunto de análises estatísticas (bi - e multivariadas) propostas, o que será visto a seguir em detalhe.

Para a avaliação da prevalência da infecção pelo HSV-2, foram processadas amostras de soro que se encontravam congeladas no laboratório de imunologia do IPEC, obtidas por ocasião da inclusão dos voluntários na coorte no período de 1994 a 1998. Trata-se de uma amostra de conveniência.

Inicialmente, foi realizado um inventário das amostras congeladas, com inspeção macroscópica (rótulos, eventual presença de fungos, contaminação), sendo as condições das amostras estocadas consideradas satisfatórias. As amostras deste estudo foram testadas no Laboratório de Imunodiagnóstico do IPEC.

Foi realizado estudo exploratório (piloto) com 100 amostras selecionadas de forma aleatória (através da utilização de tábua de números aleatórios) da soroteca original, tendo sido avaliadas a qualidade de conservação do material e a prevalência para o HSV-2.

A análise preliminar das 100 amostras da soroteca evidenciou uma soroprevalência elevada para o HSV-2 (56%), não impondo, portanto, qualquer restrição às análises subseqüentes, da perspectiva do desfecho sob análise.

A análise dos potenciais fatores de risco para a infecção pelo HSV-2 foi realizada a partir dos dados coletados quando da entrevista de linha de base. Foram avaliadas covariáveis sócio-demográficas, comportamentais e laboratoriais potencialmente associadas à infecção pelo HSV-2.

Considerando-se uma análise de regressão múltipla, com uma amostra total composta por 403 indivíduos e um valor de p igual a 0,05, partimos de uma situação hipotética definida por: um conjunto de quatro covariáveis, um único fator preditor (relato de sexo anal desprotegido nos últimos 6 meses, comportamento bastante freqüente nesta casuística, conforme evidenciado em publicações anteriores) e uma única variável dependente (amostra positiva para a sorologia para HSV-2). Se supusermos que as covariáveis correspondem a uma variância de 5% (IC 95%) com relação à determinação da soropositividade, teremos um poder de detectar este efeito superior a 0,85. Além disso,

teremos um poder estatístico de aproximadamente 0,90 para detectar uma mudança no R^2 de 0,04 para o único fator preditor referente à infecção detectada pela sorologia. Para o presente estudo, preditores que correspondam a menos de 4% da variância não serão considerados cientificamente relevantes.

4.11 Descrição das variáveis utilizadas

Todas as variáveis descritas a seguir se referem aos dados coletados por ocasião da entrevista de linha de base:

1) **Idade** - a idade foi categorizada em: “até 21 anos”, “de 21 a 30 anos” e “maior do que 30 anos de idade”.

2) **Raça** – dicotomizada em “branco” e “não-branco”.

3) **Estado civil** – categorizado em: “solteiro”, “casado”, “separado”, “viúvo” e “outros” (quaisquer outras situações).

4) **Escolaridade** – dicotomizada em: “mais de 8 anos de estudo” e “até 8 anos de estudo”.

5) **“Mora com”** – esta variável foi categorizada em: “mora com os pais/familiares”, “mora com mulher/filhos”, “mora com companheiro”, “mora com amigo (a)” e “mora sozinho”.

6) **Trabalha** - Variável indicadora (1- sim, 0-não).

7) **Renda individual no último mês** – agrupada em 03 categorias: “não tem rendimentos”, “rendimentos de 1 a 3 salários mínimos” e “rendimento maior que 3 salários mínimos”.

Para os propósitos do presente estudo, consideramos, que, em maio de 1995, o salário mínimo era de 100 reais; correspondendo o dólar, naquela ocasião, a 0,911 centavos de Real, portanto, correspondendo o salário mínimo, *grosso modo*, equivalente a 100 dólares.

8) **Idade de início da relação sexual** – agrupada em 4 categorias: “menor do que 11 anos”, “de 12 a 15 anos”, “de 16 a 18 anos” e “maior do que 19 anos de idade”. A mediana encontrada na análise exploratória foi de 15 anos de idade, o que orientou a definição das referidas faixas.

9) **Idade da primeira relação sexual com homens** - utilizamos a mesma categorização empregada anteriormente quanto à variável “idade da primeira relação sexual”.

10) *Idade da primeira relação sexual com mulheres* – também aqui, utilizamos a mesma categorização empregada anteriormente quanto à variável “idade da primeira relação sexual”.

11) *Ter tido a primeira relação sexual com homem* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

12) *Prática sexual* – definida para os propósitos do presente estudo em “homossexual” e “bissexual”

13) *Ter tido relação sexual com mulher alguma vez* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

14) *Parceira sexual fixa nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

15) *Parceiras sexuais ocasionais nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

16) *Parceiro sexual fixo nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

17) *Parceiros sexuais ocasionais nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

18) *Ter feito sexo anal desprotegido (sem usar o preservativo) com parceiro fixo nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

19) *Ter feito sexo anal desprotegido (sem usar o preservativo) com parceiro ocasional nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

20) *Ter feito sexo vaginal desprotegido (sem usar o preservativo) com parceira fixa nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

21) *Ter feito sexo vaginal desprotegido (sem usar o preservativo) com parceira ocasional nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

22) *Ter feito sexo anal desprotegido (sem usar o preservativo) com parceira fixa nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

23) *Ter feito sexo anal desprotegido (sem usar o preservativo) com parceira ocasional nos últimos seis meses* - Variável indicadora (1-sim, 0-não)

Com relação à definição de parceiros fixos e ocasionais foram utilizados os critérios anteriormente detalhados.

24) *Ter feito sexo por dinheiro alguma vez* - Variável indicadora (1-sim, 0-não). Isto inclui oferecer ou receber dinheiro para fazer sexo.

25) Ingestão de bebida alcoólica, nos últimos seis meses, no contexto de relação sexual - Variável indicadora (1-sim, 0-não). Isto se refere a uso de álcool nas situações de ‘paquera’, ‘transa’ ou ‘outras situações’

26) Sífilis – duas situações foram consideradas:

“Sífilis em atividade” – VDRL reagente com títulos $\geq 1/8$ com TPHA reagente: Variável indicadora (1-sim, 0-não)

“Sífilis passada” (história de sífilis, que não está, no momento, em atividade), cicatriz sorológica ou recentemente diagnosticada/tratada – TPHA positivo, isoladamente ou com VDRL reagente com títulos inferiores a 1/8: Variável indicadora (1-sim, 0-não)

27) Hepatite B - Variável indicadora (1-sim, 0-não). Foi considerado um marcador de infecção (Anti-HBc), independente da presença de Hepatite B ativa (presença do antígeno – HbsAg - ou não).

Com a finalidade da modelagem algumas variáveis foram reagrupadas, a saber:

Idade - foi utilizada a mediana

“Mora com” - foi reagrupada em duas categorias: “parceiros” e “outros”

Idade do início da relação sexual – foi utilizada a mediana

Idade do início da relação sexual com homens – foi utilizada a mediana

Idade do início da relação sexual com mulheres – foi utilizada a mediana

Foram utilizadas Razões de prevalência (RP) para estimar as possíveis associações entre a infecção pelo HSV-2 e cada um dos potenciais fatores de risco. As possíveis associações foram inicialmente exploradas por análises bivariadas (através do modelo de regressão de Poisson com variância robusta), a fim de avaliar o papel independentemente desempenhado por cada fator (covariável), sendo seus resultados apresentados através de suas RP e respectivos intervalos de confiança de 95%. Para esta análise, utilizou-se um nível de significância estatística de $p < 0,25$ para rejeição ou não da hipótese nula referente à associação ou não de cada covariável e o desfecho.

Variáveis cujas estimativas não ajustadas (análise bivariada) da razão de prevalência se mostraram associadas em nível de significância igual ou inferior a 0,25 foram incluídas nos modelos multivariados de regressão de Poisson. Na análise multivariada, a estratégia utilizada para encontrar o melhor modelo foi partir do modelo cheio, onde todas as

variáveis consideradas significativas na análise bivariada estão presentes, com a retirada das variáveis não significativas ($p > 0.05$), uma a uma, começando pela de maior p-valor.

As interações evidenciadas nos modelos intermediários foram introduzidas em análises subseqüentes enquanto termos de interação. Nenhuma interação permaneceu no modelo final.

O aplicativo *Stata Corporation* versão 7.0 para Windows, foi utilizado nas análises estatísticas.

Foram considerados como estatisticamente significantes resultados associados a $p < 0,05$, com a não inclusão da unidade (1) quando da definição de intervalos de 95% de confiança.

Variáveis consideradas limítrofes ($p < 0,08$) também permaneceram no modelo final.

4.12 Avaliação Laboratorial

As amostras aliqüotadas de soro estavam armazenadas a menos 20⁰C no *freezer* do Laboratório de Imunologia do IPEC. As sorologias para o HSV-2 foram realizadas entre março e junho de 2005.

Foi utilizado um critério conservador na escolha das amostras a serem utilizadas. Foram realizadas sorologias anti-HSV-2 dos 403 primeiros soros viáveis referentes à visita de base de voluntários que tinham dados disponíveis no banco de dados analisado.

A sorologia do HSV-2 foi realizada mediante a técnica de HSV-2 EIA, da *Focus Technologies* (HerpeSelect, Cypress, Califórnia), que detecta anticorpos tipo-específicos contra a glicoproteína G do HSV-2.

As amostras não possuíam identificação nominal e foram vinculadas (*linking*) aos dados dos voluntários através de códigos comuns. Todas as amostras com resultados duvidosos foram retestadas, visando confirmação, utilizando-se o mesmo método (em um total de 08 amostras, correspondendo a 1,9% do total de amostras analisadas). Nenhuma amostra permaneceu duvidosa após o reteste.

4.6.1 Princípios do teste sorológico para o HSV-2

O teste HSV-2 ELISA IgG (HerpeSelect™ 2 ELISA IgG) da *Focus Technologies* é um teste para determinação qualitativa de anticorpos humanos IgG anti-HSV-2 no soro humano. O teste é indicado no exame de adultos sexualmente ativos e de grávidas, como auxiliar no diagnóstico presuntivo da infecção pelo HSV. Segundo o fabricante, a sensibilidade e especificidade hipotética deste teste são de 98% e 97%, respectivamente. Em relação ao *Western Blot* a sensibilidade relativa foi de 96% (IC 95% 88,9-99,2) e a especificidade relativa foi de 97% (IC 95% 93,0-99,0%). Em populações de baixa prevalência, a especificidade relativa foi de 98,7% em relação ao *Western Blot* (IC 95% 93,1-100%) e sensibilidade relativa de 100% (IC 95% 15,8-100%).

No teste HSV-2 ELISA IgG da *Focus Technologies*, as microcavidades de poliestireno são sensibilizadas com o antígeno recombinante gG2. Amostras de soros diluídos e controles são incubados nas microcavidades de modo a permitir que os anticorpos específicos presentes nas amostras reajam com o antígeno. Reagentes não específicos são removidos pela lavagem e o conjugado anti-IgG humana marcada com peroxidase é adicionado e reage com a IgG específica. O substrato e o cromógeno são então adicionados, desenvolvendo-se com isso uma coloração. Após a adição da solução de bloqueio, a coloração resultante é quantificada em um espectrofotômetro, obtendo-se assim a densidade óptica. As densidades ópticas das amostras são comparadas à densidade óptica do *cut-off* para determinar os resultados.

4.12.2 Material fornecido

O teste HSV-2 ELISA IgG da *Focus Technologies* contém material suficiente para realizar 96 determinações. Os reagentes devem atingir a temperatura ambiente antes de ser utilizado. Os reagentes são estáveis a 2-8⁰ C.

4.12.3 Interpretação dos resultados

Neste estudo foram consideradas positivas (reagentes) as amostras com Valores Índices (divisão de densidade óptica das amostras pela média de absorbância dos calibradores do *cut-off*) maiores ou iguais a 1,2.

4.12.4 Controle de qualidade

Cada ensaio incluiu um calibrador de *cut-off* e todos os 3 controles.

Embora o valor das absorbâncias varie entre as corridas e entre os diferentes laboratórios (no caso de estudos conduzidos em mais de um laboratório), o valor médio da absorbância do calibrador *cut-off* deve estar entre 0,100 e 0,700. Todos os valores das absorbâncias das replicatas do calibrador *cut-off* devem estar dentro de 0,10 unidades de absorbância do valor médio.

O Valor Índice do Controle Positivo Alto deve ser maior do que 3,5; o Valor Índice do Controle Positivo Baixo deve estar entre 1,5 e 3,0; o Valor Índice do Controle Negativo deve ser menor do que 0,8.

4.12.5 Limitações da sorologia utilizada

1. O desempenho do ensaio não foi estabelecido para a população em geral (o que não se aplica ao presente estudo, que envolve uma população particularmente vulnerável);
2. O desempenho do ensaio não foi estabelecido para amostras que não sejam soro, determinação visual ou monitoramento da terapia, limitações estas que não se aplicam ao presente estudo;
3. Todos os resultados desta e de outras sorologias devem ser relacionadas à história clínica, dados epidemiológicos e outros dados disponíveis para o tratamento médico e diagnóstico, exatamente o que foi feito no âmbito do presente estudo;

4. O resultado positivo somente indica exposição prévia. Os níveis da resposta ou a classe de anticorpo não devem ser usados para determinar infecção ativa ou a fase da doença, recomendação adotada para fins do presente estudo;
5. Resultados falso-negativos podem ocorrer quando o vírus infectante apresenta deficiência da proteína gG ou quando não se sabe se o antígeno do ensaio foi glicosilado da mesma maneira que as células mamíferas. Liljeqvist relatou que em 0,2% (5/2.400) dos HSV-2 isolados eram deficientes da proteína gG (Liljeqvist et al., 1999), representando, portanto, no âmbito do presente estudo, um erro hipotético de mínima ou nenhuma relevância.

4.13 Pesquisa bibliográfica

A pesquisa bibliográfica deste estudo foi realizada no banco de dados PubMed e livros-texto.

5 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fiocruz, Rio de Janeiro.

Foi assinado pelo pesquisador responsável (a autora do presente estudo) um ‘Termo de Confidencialidade’ (anexo I) para utilização das amostras congeladas.

6 RESULTADOS

6.7 Dados sócio-demográficos

No período de janeiro de 1994 a dezembro de 1998, 1.165 homens que fazem sexo com homens (HSH) foram entrevistados, com vista a avaliar a sua eventual inclusão em uma coorte aberta de HSH soronegativos para o HIV, no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Fiocruz, no Rio de Janeiro – 'Projeto Rio'. Respeitados os critérios de inclusão e exclusão do estudo, foram efetivamente incluídos na coorte 647 voluntários soronegativos para o HIV.

O presente estudo analisou os dados de 403 voluntários. Todas as informações sócio-demográficas, comportamentais e clínico-laboratoriais se referem à situação do voluntário no momento da entrevista de linha de base.

A mediana de idade dos voluntários foi de 26 anos (18-49 anos), e 68,0% dos voluntários (n=274) tinham idade inferior a 30 anos. Duzentos e cinco voluntários (51%) se auto-referiu como sendo da raça branca. Com relação à escolaridade, 188 (46,6%) tinham até 8 anos completos de estudo.

Na avaliação da renda mensal em salários mínimos, 50 voluntários (12,4%) referiram não contar com nenhuma renda. Duzentos e um voluntários (49,9%) referiram renda mensal de até três salários mínimos e 126 (31,3%) renda mensal maior do que três salários mínimos. No momento da entrevista, 266 voluntários (66%) encontravam-se empregados (compreendendo vínculo estável ou não).

Mais da metade dos entrevistados (53,0%) referiu morar com seus pais e familiares, 19 (5,0%) com mulher e filhos, 38 (9,4%) com parceiro/companheiro, 33 (8,2%) com amigo (a), 82 (20,4%) sozinhos e 16 (4,0%) mencionaram outros arranjos em termos de moradia (Tabela 1).

Tabela 1: Dados sócio-demográficos e prevalência da infecção pelo HSV-2 por estrato, em uma coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro, 1994 - 1998.

Características	Total de indivíduos N = 403(%)	Proporção de infectados por HSV-2 (%)
Idade (anos)		
< 21	79 (19,6)	45 (56,9)
21 – 30	195 (48,4)	122 (62,6)
> 30	129 (32,0)	96 (74,4)
Média (SD)	27,5 (7,3)	
Mediana	26	
Raça		
Branca	205 (51,0)	124 (60,5)
Não branca	186 (46,0)	131 (70,4)
Não respondeu	12 (3,0)	
Escolaridade		
≤ 8 anos	188 (46,6)	120 (63,8)
> 8 anos	210 (52,1)	140 (66,7)
Não respondeu	5(1,3)	
Renda (mês)		
Nenhuma	50 (12,42)	32 (64,0)
1–3 SM	201 (49,87)	134 (66,6)
Maior que 3 SM	126 (31,26)	80 (63,5)
Não respondeu	26 (6,45)	
Trabalha		
Não	129 (32,0)	84 (65,12)
Sim	266 (66,0)	172 (64,6)
Não respondeu	8 (2,0)	
Mora com:		
Pais e familiares	215 (53,0)	123 (57,21)
Sozinho	82 (20,4)	58 (70,73)
Parceiro/companheiro	38 (9,4)	30 (78,95)
Amigo(a)	33 (8,2)	23 (69,70)
Mulher e filhos	19 (5,0)	17 (89,47)
Outros	16 (4,0)	12 (75,00)
Estado Civil		
Solteiro	339 (84,1)	217 (64,01)
Casado	27 (6,7)	22 (81,50)
Separado	14 (3,5)	8 (57,4)
Outros	22 (5,5)	15 (68,18)
Não respondeu	1 (0,2)	

HSV-2 = *Vírus Herpes Simplex* tipo 2
HSH = Homens que fazem sexo com Homens

6.8 Perfil comportamental

Entre os 403 voluntários, 181 (45%) foram definidos como homossexuais e 217 (54%) como bissexuais.

Cento e noventa voluntários (47,1%) relataram ter tido a primeira relação sexual entre 12 e 15 anos (inclusive); 82 (20,3%) com idade inferior ou igual a 11 anos e 90 (22,3%) entre os 16 e 18 anos (inclusive). Noventa e seis voluntários (37,8%) relataram ter tido a sua primeira relação sexual com outros homens e os demais com mulheres. Não foi observada diferença com relação à mediana de idade da primeira relação sexual, fosse ela com homens ou com mulheres, sendo esta mediana equivalente a 15 anos de idade (Tabela 2).

Noventa e quatro voluntários (38%) que relataram terem feito sexo com mulheres alguma vez na vida tiveram sua primeira relação com outros homens.

Duzentos e vinte e oito voluntários (56,6%) relataram parceria fixa do sexo masculino nos 6 meses anteriores à entrevista, sendo que 136 (33,75%) relataram ter feito sexo anal sem preservativos pelo menos uma vez com este parceiro, nesse mesmo período. Duzentos e sessenta e sete voluntários (66,2%) relataram parceria ocasional masculina nos 6 meses anteriores à entrevista. Destes, 222 (55,1%) referiram ter feito sexo anal sem preservativos, nesse mesmo período.

Dos 403 voluntários, 101 (25,0%) referiram ter praticado sexo com mulheres nos seis meses anteriores à entrevista.

Setenta e um voluntários (18,0%) relataram ter feito sexo vaginal desprotegido e 34 (8,5%) sexo anal desprotegido com parceira fixa nos seis meses que antecederam a entrevista. Cinquenta e um entrevistados (13,0%) relataram sexo vaginal desprotegido e 36 (9,0%) sexo anal desprotegido com parceira ocasional nos seis meses que antecederam a entrevista.

A prevalência da infecção pelo HSV-2 mostrou-se mais elevada entre os bissexuais, quando comparada aos homossexuais. Na análise bivariada, porém, tal associação não se manteve na análise multivariada, após controle pelas demais variáveis de interesse.

Quanto à ingestão de bebida alcoólica nos últimos seis meses, no contexto de relação sexual (uso de álcool nas situações de ‘paquera’, ‘transa’ ou ‘outras situações’), 202 voluntários (50,1%) responderam que fizeram uso de álcool nessas situações. Trezentos e vinte e um voluntários (79,8%) referiram não ter feito uso de cocaína nessas situações nos seis meses que antecederam a visita.

Tabela 2: Características comportamentais de uma coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro, 1994-1998

Características	Total de indivíduos N = 403(%)
Uso de álcool	
Não	180 (44,6)
Sim	202 (50,1)
Não respondeu	21 (5,3)
Uso de cocaína	
Não	321 (79,8)
Sim	41 (10,1)
Não respondeu	41 (10,1)
Prática Sexual	
Homossexual	181 (45,0)
Bissexual	217 (54,0)
Não respondeu	5 (1,0)
Idade na primeira relação sexual (anos)	
≤ 11	82 (20,35)
12 – 15	190 (47,15)
16 – 18	90 (22,33)
≥ 19	34 (8,44)
Não respondeu	7 (1,73)
Idade na primeira relação sexual com homem (anos)	
≤ 11	33 (8,20)
12 – 15	76 (18,85)
16 - 18	83 (20,60)
≥ 19	57 (14,14)
Não respondeu	154 (38,21)
Idade na primeira relação sexual com mulher (anos)	
≤ 11	16 (4,0)
12 – 15	120 (29,8)
16 - 18	87 (21,6)
≥ 19	31 (7,6)
Não respondeu	149 (37,0)

Tabela 2: continuação

Teve a primeira relação sexual com homem	96 (37,8)
Teve a primeira relação sexual com mulher	307 (62,2)
Sexo por dinheiro	
Nunca	228 (56,58)
Alguma vez	175 (43,42)
Sexo com mulher	
Nunca	140 (34,7)
Alguma vez	263 (65,3)
Sexo com mulher nos últimos 6 meses	
Não	302 (74,94)
Sim	101 (25,06)
Parceiro ocasional masculino nos últimos 6 meses	
Não	136 (33,75)
Sim	267 (66,25)
Parceiro fixo masculino nos últimos 6 meses	
Não	175 (43,42)
Sim	228 (56,58)
Sexo anal desprotegido (insertivo ou receptivo) com parceiro fixo nos últimos 6 meses	
Não	267 (66,25)
Sim	136 (33,75)
Sexo anal desprotegido (insertivo ou receptivo) com parceiro ocasional nos últimos 6 meses	
Não	181(44,9)
Sim	222 (55,1)
Sexo vaginal desprotegido com parceira fixa nos últimos 6 meses	
Não	317 (79,0)
Sim	71 (18,0)
Não respondeu	15 (3,0)
Sexo anal desprotegido com parceira fixa nos últimos 6 meses	
Não	356 (88,3)
Sim	34 (8,5)
Não respondeu	13 (3,2)
Sexo vaginal desprotegido com parceira ocasional nos últimos 6 meses	
Não	339 (84,0)
Sim	51 (13,0)
Não respondeu	13 (3,0)
Sexo anal desprotegido com parceira ocasional nos últimos 6 meses	
Não	353 (88,0)
Sim	36 (9,0)
Não respondeu	14 (3,0)

6.3 Dados laboratoriais

Entre os 403 soros avaliados, 263 (65,2%) apresentavam sorologia positiva para o HSV-2. Cento e quarenta indivíduos (35,0%) apresentaram sorologia (TPHA) positiva para sífilis (infecção passada ou sífilis em atividade). Destes, 109 (78%) também apresentavam sorologia positiva para o HSV-2. Trinta e um indivíduos (7,7%) apresentavam VDRL com titulação $\geq 1/8$, todos com TPHA reagente (sífilis em atividade ou em tratamento). Destes, 24 (77,42%) apresentavam sorologia positiva para o HSV-2. Com relação à hepatite B, 134 (33,2%) apresentaram Anti-HBc (marcador de infecção recente ou passada) reagente; destes, 99 (74,0%) apresentavam também sorologia reagente para o HSV-2.

Dentre os 403 voluntários, todos soronegativos para o HIV quando do seu ingresso no estudo (em consonância com seus critérios de inclusão e exclusão), 11 (2,7%) vieram a soroconverter para o HIV. Entre os 11 soroconvertores, 9 (81,8%) eram soropositivos para o HSV-2 no momento da entrevista da visita de base. Um maior detalhamento deste grupo de pacientes foge ao escopo do presente estudo e foi abordado em publicação específica (Projeto Rio; vide Suttmoller et al., 2002).

Tabela 3: Prevalência sorológica de outras Doenças Sexualmente Transmissíveis numa coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro, 1994-1998.

Sorologia positiva	Total de indivíduos N = 403(%)	Proporção de infectados por HSV-2 (%)
Sífilis (VDRL $\geq 1/8$)	31 (7,7)	24 (77,42)
Sífilis (TPHA)	140 (35,0)	109 (78,00)
Hepatite B (Anti-HBc)	134 (33,2)	99 (74,0)
HIV	11 (2,7)	9 (81,8)
Herpes simples tipo 2	263 (65,2)	

TPHA = *Treponema pallidum Haemoagglutination Absortion*

HIV = Vírus da Imunodeficiência Adquirida

6.9 Análise bivariada

Duzentos e sessenta e três (correspondendo a uma prevalência pontual de 65,2%) dos 403 voluntários testados eram soro-reagentes para o HSV-2.

Dentre as variáveis demográficas, a “idade” (indicadora de “ter mais de 26 anos”) e “raça” (indicadora de “*não branca*”) se mostraram estatisticamente associadas à presença da infecção pelo HSV-2 (ao nível de $p=0,003$ e $p=0,04$, respectivamente).

Entre os fatores relacionados ao comportamento, “morar com parceiro” ($p=0,018$), “uso de álcool” ($p=0,047$), “ter feito sexo anal desprotegido com parceiro fixo nos últimos 6 meses” ($p=0,058$), “ter feito sexo anal desprotegido com parceira fixa nos últimos 6 meses” ($p<0,001$) e “idade ≤ 15 anos na primeira relação sexual com outro homem” ($p=0,17$) mostraram-se estatisticamente associadas à presença da infecção pelo HSV-2.

No que se refere à presença de outras DST (além da infecção pelo HSV-2), “ter sorologia positiva para sífilis”, seja ela mensurada por TPHA ($p=0,001$) ou VDRL ($p=0,074$), se mostrou estatisticamente associado à presença da infecção pelo HSV-2, assim como a sorologia positiva para a Hepatite B (presença de anti-HBc) ($p=0,009$).

Todas as variáveis testadas no modelo bivariado estão apresentadas na Tabela 4 (as variáveis que não atingiram a significância de $p < 0,20$ não foram consideradas no modelo multivariado).

Tabela 4: Fatores associados à infecção pelo HSV-2 em uma coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro 1994-1998.

Características	RP	Intervalo de Confiança 95%	p-valor
Idade (>26 anos)	1,24	1,07 – 1,43	0,003
Escolaridade (até 8 anos)	1,04	0,90 – 1,21	0,55
Raça (não branco)	1,16	1,00 – 1,34	0,04
Trabalha	1,00	0,85 – 1,16	0,93
Estado civil	1,01	0,95-1,10	0,63
Mora com parceiro(a)	1,18	1,03 – 1,37	0,02
Hepatite B (Anti-HBc)	1,21	1,05 – 1,40	0,009
Sífilis (TPHA positivo)	1,33	1,16 – 1,52	<0,001
Sífilis (VDRL > 1/8)	1,20	1,00 – 1,48	0,074
Uso de álcool	1,16	1,00 - 1,36	0,05
Comportamento sexual (Bissexual)	1,07	0,92 – 1,24	0,37
Idade do início da relação sexual (≤ 15 anos)	1,02	0,87 – 1,19	0,804
Idade na primeira relação sexual com homem (≤ 15 anos)	1,18	0,95 – 1,30	0,16
Idade na primeira relação sexual com mulher (≤ 15 anos)	1,02	0,87 – 1,19	0,82
Ter tido a primeira relação sexual com homem	1,04	0,90 – 1,23	0,55
Ter feito sexo por dinheiro alguma vez	1,07	0,93 – 1,24	0,31
Ter tido relação sexual com mulher alguma vez	1,04	0,89 – 1,22	0,61
Ter tido relação sexual com mulher nos últimos 6 meses	1,03	0,88 – 1,20	0,72
Ter tido parceiro ocasional masculino nos últimos 6 meses	1,04	0,90 – 1,22	0,55
Ter tido parceiro fixo masculino nos últimos 6 meses	1,03	0,90 – 1,20	0,64
Ter feito sexo anal desprotegido com parceiro fixo nos últimos 6 meses (insertivo e/ou receptivo)	1,14	1,00 – 1,32	0,06
Ter feito sexo anal desprotegido com parceiro ocasional nos últimos 6 meses	1,04	0,91 – 1,21	0,51
Ter feito sexo vaginal desprotegido com parceira fixa nos últimos 6 meses	1,11	0,93 – 1,31	0,25
Ter feito sexo anal desprotegido com parceira fixa nos últimos 6 meses	1,35	1,15 – 1,60	<0,001
Ter feito sexo vaginal desprotegido com parceira ocasional nos últimos 6 meses	0,92	0,73 – 1,17	0,51
Ter feito sexo anal desprotegido com parceira ocasional nos últimos 6 meses	0,94	0,71 – 1,23	0,64

HSV-2 = Vírus Herpes Simples do tipo 2
HSH = Homens que fazem sexo com Homens
RP= Razão de Prevalência

6.10 Fatores de risco independentemente associados à presença de anticorpos para o HSV-2 (Análise multivariada)

No modelo de análise multivariada por regressão de Poisson, as variáveis indicativas de “sorologia positiva para sífilis (TPHA)”, “raça”, “idade (> 26 anos)”, “ter feito sexo anal desprotegido com parceiro fixo nos últimos 6 meses” e “ter feito sexo anal desprotegido com parceira fixa nos últimos 6 meses” permaneceram como correlatos independentes da infecção pelo HSV-2.

Ter sorologia positiva para sífilis (TPHA) resultou em um aumento de 28% (RP = 1,29, p <0.001) na prevalência da infecção pelo HSV-2, quando comparado com a sorologia negativa.

Em relação às características comportamentais, ter feito sexo anal desprotegido com parceiro fixo nos últimos 6 meses resultou em um aumento de 15% (RP = 1,16; p=0,05) na prevalência da infecção pelo HSV-2 e ter feito sexo anal desprotegido com parceira fixa nos últimos 6 meses representou um aumento de 32% (RP=1,32; p=0,005) na prevalência da infecção pelo HSV-2.

Com relação às características demográficas, ter 26 anos de idade ou menos mostrou ser um fator de proteção para o desfecho sob análise, reduzindo em 16% a prevalência da infecção pelo HSV-2 (RP = 0,84; p=0,01). No que diz respeito à raça, os referenciados como “não brancos” apresentaram uma prevalência da infecção pelo HSV-2 13% maior (RP = 1,13; p=0,08), quando comparados àqueles referenciados como “brancos”.

A variável raça foi mantida no modelo final por ter atingido uma significância considerada limítrofe.

Os resultados da análise multivariada estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Fatores de risco independentemente associados à infecção pelo HSV 2 numa coorte de HSH acompanhada no IPEC/Fiocruz. Rio de Janeiro 1994-1998.

Características	RP	Intervalo de Confiança 95%	p-valor
Idade (>26 anos)	1,19	1,03 – 1,38	0,018
Raça (não branco)	1,13	0,98 – 1,31	0,087
Sífilis (TPHA positivo)	1,29	1,12 – 1,48	<0,001
Ter feito sexo anal desprotegido com parceiro fixo nos últimos 6 meses	1,16	0,10 – 1,34	0,054
Ter feito sexo anal desprotegido com parceira fixa nos últimos 6 meses	1,32	1,09 – 1,61	0,005

HSV-2 = Vírus Herpes Simples do tipo 2
HSH = Homens que fazem sexo com Homens
RP= Razão de Prevalência

O herpes genital é a doença sexualmente transmissível (DST) mais freqüentemente associada à gênese de úlceras genitais, no contexto dos países em desenvolvimento, inclusive no Brasil (Ballard et al., 2002; Totten et al., 2000; Halioua et al., 1999; Da Rosa-Santos et al., 1996). O vírus Herpes simplex do tipo 2 (HSV-2) é a principal causa de herpes genital e é especialmente prevalente entre homens que fazem sexo com homens (HSH) (Mark et al., 2005).

O presente estudo evidenciou uma elevada prevalência de infecção por HSV-2 (65,2%) em uma amostra de HSH, recrutada por um estudo preparatório de vacinas anti-HIV/Aids, realizado no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC-FIOCRUZ), no Rio de Janeiro. Tal achado aponta para a necessidade e a premência da implantação de programas integrados de prevenção do HSV-2 e outras DST, especificamente direcionados a esta população. Embora este dado seja consistente com a observação de outros estudos conduzidos neste mesmo grupo populacional em diferentes países (Konda et al., 2005; Hashido et al., 1998; Laar et al., 1998; Corey, 1994), cabe observar que, em se tratando de amostras de conveniência, este resultado não necessariamente se aplica à população de HSH como um todo, seja no contexto brasileiro ou internacional. Todavia, os dados desta casuística são relevantes, tendo em vista que até o presente momento, não há estudos realizados no Brasil acerca da prevalência e dos fatores de risco para a infecção pelo HSV-2 na população de homens que fazem sexo com homens soronegativos para o HIV. Como é sabido, trata-se de uma população vulnerável e crítica, com relação à dinâmica da disseminação do HSV-2 (e outras DST) em todo o mundo.

Observamos ainda uma elevada prevalência de outras DST na amostra estudada, sendo estas outras infecções e doenças fatores de risco especialmente relevantes com relação à aquisição da infecção pelo HSV-2 e pelo HIV (Freeman, 2006; Wade, 2005; Martinez et al., 2005; Cohen, 2004; Celum et al., 2004; Wu, 2004; Corey et al., 2004; Reynolds et al., 2003; Renzi et al., 2003; Wald & Link, 2002; Del Mar, 2002; Weiss et al. ,

2001; Auvert et al., 2001; Buve et al., 2001; Sanchez et al., 2001; Mbopi et al., 2000; Ballard et al., 1999; Risbud et al., 1999; Fleming et al., 1999; Gwanzura et al., 1998; Mertz et al., 1998; Wald et al., 1995; Kinghorn, 1994; Corey, 1993; Wasserheit, 1992; Hook et al., 1992). Em se tratando de um estudo seccional, não houve qualquer preocupação e não deve ser feita nenhuma inferência com relação à direcionalidade dessas associações, que vêm sendo objetos de diferentes estudos longitudinais, em todo o mundo.

A mediana de idade neste estudo foi de 26 anos e verificou-se ser a idade cronológica um fator de risco independente para a infecção pelo HSV-2, achado este consistente com a observação de outros investigadores, em diferentes contextos, nacionais e internacionais (Konda et al., 2005; Singh et al., 2005; Nilsen et al., 2005; Gottlieb et al., 2002; Varela et al., 2001; Cusini et al., 2000; Austin et al., 1999; Carvalho et al., 1998). O risco de adquirir a infecção pelo HSV-2 aumenta de forma praticamente linear com a idade (Rodriguez et al., 2003; Reynolds et al., 2003; Del Mar et al., 2002; Gottlieb et al., 2002; Mihret et al., 2002; Weiss et al., 2001; Cusini et al., 2000; Conde-Glez et al., 1999; Halioua et al., 1999; Wald et al., 1997; Fleming et al., 1997; Cowan et al., 1994; Siegel et al., 1992; Breinig et al., 1990), provavelmente refletindo uma maior chance de aquisição da infecção relacionada a um maior tempo de exposição (exposição acumulada), e não a um aumento da susceptibilidade a esta infecção em função da idade e possíveis alterações da imunidade dos indivíduos decorrentes do seu envelhecimento, como ocorre em outras infecções/doenças (Reynolds et al., 2003; Renzi et al., 2003). Além disso, a infecção pelo HSV-2 é persistente, não havendo, portanto, eliminação espontânea do vírus (como, por exemplo, no caso do Vírus do Papiloma Humano – HPV e dos agentes etiológicos das hepatites virais).

A prevalência da infecção pelo HSV-2 mostrou-se mais elevada entre os bissexuais, quando comparada aos homossexuais, na análise bivariada, porém, tal associação não se manteve na análise multivariada, após controle pelas demais variáveis de interesse.

Embora o modelo de regressão logística e o respectivo cálculo das razões de chance (*odds ratios*, OR, em língua inglesa) sejam as alternativas mais frequentemente utilizadas em estudos de prevalência, optou-se, no presente estudo, pela utilização do modelo de regressão de Poisson, já que este é capaz de estimar diretamente a razão de prevalências,

alternativa mais correta quando ocorre violação do pressuposto básico subjacente à utilização dos modelos logísticos e das razões de chance: a raridade do evento sob análise. Diferentemente do modelo de regressão logística, que superestima, nestes casos, a efetiva razão de prevalências, o modelo de Poisson permite obter estimativas adequadas a contextos de elevada prevalência do evento sob análise. Cabe esclarecer, finalmente, que na aplicação do modelo de Poisson, foi necessário utilizar um método de estimação robusta da variância para melhor ajuste (Barros & Hirakata, 2003).

Na maioria dos artigos da literatura nacional e internacional, a soroprevalência do HSV-2 é maior entre as mulheres do que entre os homens (Singh et al., 2005; Del Mar et al., 2002; Gottlieb et al., 2002; Fleming et al., 1997; Wald et al., 1997; Cowan et al., 1994; Mertz et al., 1992; Siegel et al., 1992). A maior susceptibilidade feminina à infecção pelo HSV-2 se deveria, em parte, à maior extensão da área de mucosa genital feminina exposta durante o contato sexual (Weiss, 2004; Corey & Wald, 1990), à maior eficiência dos homens enquanto “vetores” de transmissão (Mertz et al., 2002), e devido ao fato das recorrências serem mais freqüentes entre os homens do que entre as mulheres (Whitley et al. 1998; Benedetti et al. 1994). Além desses fatores, de natureza basicamente biológica, os padrões e hábitos na esfera social e comportamental, determinariam diferenças quanto aos riscos de aquisição de infecção pelo HSV-2 (e demais DST) entre homens e mulheres (Fleming et al., 1997). As mulheres escolhem mais freqüentemente parceiros com idade maior do que a sua e, portanto, teoricamente, estão em interação mais freqüente com populações cuja prevalência de fundo (*background prevalence*) para o HSV-2 é mais elevada do que a sua própria população de referência, ou seja, as demais mulheres (Rodriguez et al., 2003).

A dinâmica de transmissão do HSV-2 se mostra especialmente complexa em função da transmissão diferencial desta infecção entre homens e mulheres (Mertz et al., 1992).

Mark et al. (Baltimore, 2005), sugeriram que a parceria sexual feminina pode ser um fator central na aquisição da infecção pelo HSV-2 em homens bissexuais. Prevalências potencialmente mais elevadas de infecção pelo HSV-2 entre as mulheres, conjugadas à evidência de que homens bissexuais têm menos freqüentemente sexo protegido com

mulheres do que com seus parceiros masculinos poderiam explicar esses achados (Fleming et al., 1997) e os achados do presente estudo.

A população de HSH/bissexual poderia potencialmente funcionar como uma “população-ponte” entre homens sob alto risco e a população em geral de mulheres. Este padrão de “mistura sexual” (*sexual mixing*) contribuiria para a disseminação de diferentes DST na população geral, onde predominam as relações heterossexuais (Binson et al., 1995).

Consistente com a observação de outros investigadores (Singh et al., 2005; Turner et al., 2003; Gottlieb et al., 2002; Wald et al., 2001; Buchacz et al., 2000; Austin et al., 1999; Langenberg et al., 1999; Fleming et al., 1997; Wald et al., 1997; Johnson et al., 1994; Kinghorn, 1994; Siegel et al., 1992; Gibson, 1990; Breinig et al., 1990), no presente estudo, ser da raça “não branca” se mostrou um preditor independente da infecção pelo HSV-2. Tal achado se deveria a diferentes fatores, de cunho atual ou histórico, em que as diferenças raciais e étnicas estariam associadas à pobreza, a diferenças no acesso a serviços de saúde, padrões de comportamento sexual específico de diferentes segmentos populacionais, comportamentos e práticas relacionados à saúde em geral e à composição sexual e etária dos diferentes estratos populacionais e seus padrões de interação sexual e afetiva (Fleming et al., 1997). A elevada soroprevalência entre não-brancos sugere fortemente que a transmissão da infecção pelo HSV-2 é influenciada por fatores além dos relacionados ao comportamento sexual individual, de natureza contextual e social, como mencionado acima (Gottlieb et al., 2002).

Dentre os indicadores mais importantes quanto à avaliação e mensuração do nível sócio-econômico, potencialmente associados à saúde da população, citam-se o nível de instrução, a renda e a ocupação (Kunst et al., 1994). O nível educacional está associado a diferenças entre indivíduos e grupos sociais, em termos de acesso à informação e perspectivas e possibilidades de se beneficiar de novos conhecimentos (Kunst et al., 1994). Neste contexto, o baixo nível de escolaridade estaria associado a uma menor aderência às práticas sexuais seguras, incluindo o uso de preservativos (Gottlieb et al., 2002).

No presente estudo, não foi observada a associação entre a prevalência da infecção pelo HSV-2 e o (baixo) nível de escolaridade, por razões que não foi possível explorar, em virtude das limitações do questionário aplicado (pouco detalhado quanto à captação das

diferentes informações sócio-demográficas). Outros estudos, nacionais e internacionais, evidenciaram esta associação (Gottlieb et al., 2002; Carvalho et al., 1998; Fleming et al., 1997; Siegel et al., 1992; Breinig et al., 1990), em contraposição aos achados do presente estudo.

Entre as variáveis relacionadas ao comportamento sexual, foram evidenciados enquanto fatores de risco independente para a aquisição da infecção pelo HSV-2: “ter feito sexo anal desprotegido (receptivo e/ou insertivo) com parceiro fixo” e “ter feito sexo anal desprotegido com parceira fixa nos seis meses que antecederam a entrevista”. Estes achados, centrais à plausibilidade biológica da transmissão do HSV-2, seriam tributários do risco acumulado de exposição ao HSV-2 (exposições repetidas no contexto de relações sexuais e afetivas estáveis) e a não utilização do preservativo no contexto dessas parcerias fixas (estáveis), como tem sido repetidamente mencionado por trabalhos na área da psicologia e antropologia. O uso sistemático de preservativos não é prática corrente entre parceiros estáveis, devido à proximidade e intimidade vigente entre estes parceiros, sendo os métodos de proteção muitas vezes considerados com o empecilho e estorvo a um clima de envolvimento emocional e confiança mútua.

Além disso, as características da infecção pelo HSV-2 — crônica, de caráter recorrente e, na maior parte dos casos, sem qualquer manifestação clínica evidente (excreção assintomática) estariam também relacionadas à não utilização dos preservativos (já que, não havendo do que, supostamente, se proteger não haveria motivação da adoção de proteção).

O fato de não ter sido evidenciada associação entre a prática de sexo comercial (“receber ou oferecer dinheiro em troca de sexo”) e a infecção pelo HSV-2 é provavelmente decorrente da utilização mais freqüente de preservativos neste contexto, embora não seja possível deixar de lado as inegáveis limitações determinadas pelo pequeno tamanho da amostra nesse estrato específico (pessoas que relataram engajamento em sexo comercial).

O uso do preservativo é efetivo na prevenção da transmissão da infecção pelo HIV quando utilizado de forma consistente (MMWR, 1993). No entanto, no que diz respeito à sua efetividade na prevenção da transmissão do HSV-2, persistem dúvidas acerca da real efetividade deste método, sendo possivelmente limitada e parcial, tendo em vista que lesões

causadas pelo HSV-2 podem ocorrer em áreas do corpo não protegidas pelo preservativo (Singh et al., 2005; Wald et al., 2001; MMWR, 1993; Oberle et al., 1989).

Por outro lado, o conhecimento da infecção pelo HSV-2, a partir da sua detecção por triagem sorológica, pode facilitar a prevenção da transmissão do herpes, ainda que parcial, alertando o indivíduo sobre os riscos associados à infecção assintomática e estimulando o uso sistemático dos preservativos (Gottlieb et al., 2002). Em virtude da maior cobertura proporcionada pelos preservativos femininos (se comparados aos masculinos), recomenda-se especialmente a utilização destes, ressaltando-se seu custo relativamente elevado enquanto insumo de saúde pública no contexto de países em desenvolvimento.

Vários estudos evidenciaram que a história de outra DST (hipoteticamente anterior) constitui um preditor independentemente associado à soropositividade para a infecção pelo HSV-2 (Martinez et al., 2005; Singh et al., 2005; Gottlieb et al., 2002; Roest et al., 2001; Austin et al., 1999; Hashido, 1998; Laar et al., 1998; Rosa-Santos et al., 1996). Especificamente, em relação à sífilis, no estudo de Mihret et al. (2002) observou-se ser o resultado de TPHA positivo um fator independentemente associado à aquisição do HSV-2.

No presente estudo, a sorologia positiva para sífilis, fosse ela mensurada pelo TPHA ou pelo VDRL, e a sorologia positiva para hepatite B (anti-HBc) se mostraram associadas à infecção pelo HSV-2 na análise bivariada. No entanto, no modelo multivariado, apenas a sorologia positiva para sífilis mensurada pelo TPHA permaneceu como correlato independente da infecção pelo HSV-2.

A associação com sífilis pode sugerir um fator de confusão residual referente a comportamentos sexuais subjacentes e/ou o papel da infecção pelo HSV-2 como um cofator para a transmissão da sífilis (associação inversa). Apesar da associação entre a infecção pelo HSV-2 e o histórico de outras DST provavelmente reflitam fatores comportamentais, isso não exclui a possibilidade de interações biológicas entre as diferentes infecções. É possível que a presença de sífilis seja um cofator associado a uma maior excreção do HSV-2, ou maior susceptibilidade a esta infecção, assim como documentado quanto à infecção pelo HIV (Fleming et al., 1999).

Entretanto, cabe aqui reiterar, que, no quadro do presente estudo, a mensuração simultânea de possíveis covariáveis e desfechos impede estabelecer qualquer inferência acerca da direcionalidade e possível seqüência temporal das associações observadas.

7.7 Limitações do estudo

Trata-se de um estudo transversal, sendo, portanto, impossível estabelecer relações causais, uma vez que a causalidade reversa das associações observadas não pode ser descartada, a não ser nos casos em que a associação reversa se mostrar física ou biologicamente impossível (por exemplo, o adoecimento de um paciente adulto com escolarização completa não pode alterar, em hipótese alguma, seu nível educacional, adquirido quando o mesmo era criança ou jovem). Entretanto, cabe observar que as questões centrais deste estudo se beneficiam sobremaneira da análise criteriosa das associações estatísticas, desde que interpretadas à luz da literatura pertinente.

Outra limitação diz respeito a serem as informações auto-referidas. É possível que fatores sociais e psicológicos influenciem as respostas às questões sensíveis, como o uso de preservativos. Evidências sugerem, entretanto, que questionários bem desenhados podem fornecer dados aceitáveis quando administrados de forma apropriada (Weinhardt, 1998).

A população estudada, de 403 voluntários, corresponde a 62,3% do total dos voluntários elegíveis, efetivamente incluídos no estudo, portanto, estes achados podem não ser generalizáveis para o conjunto de homens que fazem sexo com homens que atenderam aos critérios de inclusão no Projeto Rio.

Em se tratando de uma análise de dados secundários examinados de forma retrospectiva, isto é, por ser o estudo original desenhado com outros propósitos, não foi possível explorar em maior detalhe fatores de risco específicos para a infecção pelo herpes vírus, como por exemplo, saber se o parceiro do participante tinha ou não sinais ou sintomas de herpes, o número de parceiros que o participante teve ao longo da vida e há quanto tempo apresentava infecção herpética.

Isto posto, trata-se de um estudo que aporta, de forma original, dados relevantes para a prevenção e controle do HSV-2 nesta população.

8 CONCLUSÕES

Este estudo foi realizado com o propósito de contribuir para a avaliação da prevalência e fatores de risco potenciais associados à infecção pelo vírus *Herpes simplex* do tipo 2 (HSV-2) na população de homens que fazem sexo com homens. Na literatura consultada no banco de dados do PubMed, não havia, até a data consultada, estudos nacionais que tenham avaliado esta questão anteriormente.

Nossas análises indicam uma prevalência elevada da infecção pelo HSV-2 entre homens que fazem sexo com homens, considerada de risco elevado para a aquisição de outras DST, inclusive para a infecção pelo HIV.

Esta prevalência elevada, semelhante à encontrada em estudos internacionais desenvolvidos junto a esta população, constitui motivo de preocupação de clínicos e profissionais de saúde em geral e representa um desafio às medidas que visam à prevenção e controle da infecção pelo HSV-2.

Após análise multivariada, foram identificados como fatores de risco independentemente associados à infecção pelo HSV-2: idade mais elevada, pertencer à raça ‘não branca’, apresentar sorologia positiva para sífilis (mensurada pelo TPHA – sífilis em atividade ou passada), ter feito sexo sem preservativos com parceria sexual fixa masculina e ter feito sexo sem preservativos com parceria sexual feminina nos seis meses anteriores à entrevista.

Estes dados são relevantes em saúde pública, tendo em vista que a infecção pelo HSV-2 é um fator importante na aquisição e transmissão de outras DST, incluindo o HIV e que a sua elevada prevalência nesta população pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias de prevenção para a infecção pelo HSV-2. Tal achado aponta para a necessidade e a premência da implantação de programas integrados de prevenção do HSV-2 e outras DST, especificamente direcionados a esta população.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Advisory Committee of HIV and STD Prevention. HIV prevention through early detection and treatment of other sexually transmitted diseases – United States. Recommendations of advisory Committee of HIV and STD prevention 47, Morbidity and Mortality Weekly Report, no. RR-12, 1998.

Ashley-Morrow R, Krantz E, Wald A. Time course of seroconversion by HerpeSelect ELISA after acquisition of genital herpes simplex virus type 1(HSV-1) or HSV-2. SexTransm Dis 2003;30:310-314.

Ashley-Morrow R, Nollkamper J, Robinson NJ, Bishop N, Smith J. Performance of focus ELISA tests for herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and HSV-2 antibodies among women in ten diverse geographical locations. Clin Microbiol Infect. 2004 Jun;10(6):530-6.

Augenbraun M, Corey L, Reichelderfer P, Wright DJ, Burns D, Koelle DM et al. Herpes simplex virus shedding and plasma human immunodeficiency virus RNA levels in coinfecting women. Clin Infect Dis 2001 Sep;33(6):885-890.

Austin H, Macaluso M, Nahmias A, Lee FK, Kelaghan J, Fleenor M et al. Correlates of herpes simplex virus seroprevalence among women attending a sexually transmitted disease clinic. Sex Transm Dis 1999 Jul;26:329-334.

Auvert B, Ballard R, Campbell C, Carael M, Carton M, Fehler et al. HIV infection among youth in South African mining town is associated with herpes simplex virus-2 seropositivity and sexual behaviour. AIDS 2001 May;15(7):885-98.

Ballard R, Htun Y, Dangor Y et al. HIV and genital ulcer disease – determinants of HIV shedding from lesions and consequences of therapy. Program and abstracts from the International Society for Sexually Transmitted Diseases Research. 1999 Abstract 055.

- Ballard RC, Fehler HG, Htun Y, Radebe F, Jensen JS, Taylor-Robinson D. Coexistence of urethritis with genital ulcer disease in South Africa: influence on provision of syndromic management. *Sex Transm Infect* 2002;78:274-277.
- Barros AJ, Hirakata VN. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. *BMC Med Res Methodol*. 2003 Oct 20;3:21.
- Beauman JG, Mai MC. Genital Herpes: A Review. *American Family Physician* 2005; volume 72, Number 8.
- Benedetti J, Corey L, Ashley R. Recurrence rates in genital herpes after symptomatic first-episode infection. *Ann Int Med* 1994;121:847-54.
- Breining MK, Kingsley LA, Armstrong JA, et al. Epidemiology of genital herpes in Pittsburg: serologic, sexual, and racial correlates of apparent and inapparent herpes simplex infection. *J Infect Dis* 1990;162:299-305.
- Brugha R, Keersmaekers K, Renton A, Meheus. Genital Herpes: A Review. *International Journal of Epidemiology* 1997; 26:698-709
- Buchacz K, McFarland W, Hernandez M, Klausner JD, Page-Shafer K, Padian N et al. Prevalence and correlates of herpes simplex virus type 2 infection in a population-based survey of young women in low-income neighborhoods of Northern California. The Young Women's Survey Team. *Sex Transm Dis* 2000;27:393-400.
- Buve A, Carael M, Hayes RJ, Auvert B, Ferry B, Robinson NJ et al. Multicentre study on factors determining differences in rate of spread of HIV in Sub-Saharan Africa: methods and prevalence of HIV infection. *AIDS* 2001; 15(Suppl 4):S5-14.

- Carneiro M, Cardoso FA, Greco M, Oliveira E, Andrade J, Greco DB, Antunes CMF and Project Horizonte team, Determinants of Human Immunodeficiency Virus (HIV) and prevalence in homosexual and bisexual men screened for admission to a cohort study of HIV negatives in Belo Horizonte, Brazil: Project Horizonte. Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol 98 no.3 Rio de Janeiro Apr. 2003.
- Carvalho M, de Carvalho S, Pannuti CS, Sumita LM, de Souza VA. Prevalence of herpes simplex type 2 antibodies and clinical history of herpes in three different populations in Campinas City, Brazil. Int J Infect Dis 1998;3:94-98.
- CDC. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. MMWR Recomm Rep 2002;51:1-80.
- Celum C, Levine R, Weaver M, Wald A. Genital herpes and human immunodeficiency virus: double trouble. Bull World Health Organization. 2004;82(6):447-53.
- Celum CL. The interaction between herpes simplex virus and human immunodeficiency virus. Herpes 11 suppl 1 2004.
- Chakraborty H, Sen PK, Helms RW, Vernazza PL, Fiscus SA, Eron JJ, Patterson BK, Coombs RW, Krieger JN, Cohen MS. Viral burden in genital secretions determines male-to-female sexual transmission of HIV-1: a probabilistic empiric model. AIDS 2001;15(5):621-7.
- Chen CY, Ballard RC, Beck-Sague CM, Dangor Y, Radebe F, Schmid S, Weiss JB, Tshabalala V, Fehler G, Htun Y, Morse SA. Human immunodeficiency virus infection and genital ulcer disease in South Africa: the herpetic connection. Sex Transm Dis. 2000 Jan;27(1):21-9.
- Conde-Glez CJ, Juarez-Figueroa L, Uribe-Salas F, Hernandez-Nevarez P, Schmid DS, Calderon E et al. Analysis of herpes simplex virus 1 and 2 infection in women with high risk sexual behaviour in Mexico. Int J Epidemiol 1999;28:571-576.

- Cohen MS, Hoffman IF, Royce RA, et al. Reduction of concentration of HIV-1 after treatment of urethritis: implications for prevention of sexual transmission of HIV-1. *Lancet* 1997;349:1868-73.
- Cohen MS. HIV and sexually transmitted diseases: lethal synergy. *Top HIV Med.* 2004 Oct-Nov;12(4):104-7.
- Condoms protect man and woman against herpes type 2 (HSV-2) acquisition [Abstract 274]. In: Program and abstracts of the 2002 National STD Prevention Conference (San Diego), Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 2002.
- Corey L & Wald A. Genital herpes In: Holmes K, Mardh P-A, Sparling PF, Mardh PA, Wiesner PJ (eds). *Sex Transm Dis* New York: McGraw Hill Information Services Company, 1990, ch35.
- Corey L. Herpes simplex virus infections during the decade since the licensure of acyclovir. *J Med Virol* 1993; (Suppl. 1):7-12.
- Corey L. The current trend in genital herpes: progress in prevention. *Sex Transm Dis* 1994; 21(Suppl) S38-S44.
- Corey L & Wald A. Genital herpes. In: Holmes KK, Sparling P, PA M et al., eds. *Sex Transm Dis* 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 1999.
- Corey L, Handsfield HH. Genital herpes and public health – addressing a global problem. *JAMA* 2000;283:791-4.
- Corey L. Challenges in Genital Herpes Simplex Virus Management. *The Journal of Infectious Diseases* 2002;186(suppl1):S29-33
- Corey L, Wald A, Celum CL, Quinn TC. The effects of herpes simplex virus-2 on HIV-1 acquisition and transmission: a review of two overlapping epidemics. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004 Apr 15; 35(5):435-45.

- Corey L, Wald A, Patel R, Sacks SL, Tyring SK, Warren T et al. Once-daily valacyclovir to reduce the risk of transmission of genital herpes. *N Engl J Med* 2004; 3509:11-20.
- Corey L. Clinical tools for preventing sexual transmission of genital herpes. *Medscape Infectious Diseases* 6(1), 2004.
- Cowan FM, French RS, Mayaud P, Gopal R, Robinson NJ, de Oliveira SA, Faillace T, Uuskula A, Nygard-Kibur M, Ramalingam S, Sridharan G, El Aouad R, Alami K, Rbai M, Sunil-Chandra NP, Brown DW. Seroepidemiological study of herpes simplex virus types 1 and 2 in Brazil, Estonia, India, Morocco, and Sri Lanka. *Sex Transm Infect* 2003 Aug;79(4):286-90.
- Cowan FM, Johnson AM, Ashley R, Corey L, Mindel A. Antibody to herpes simplex virus type 2 as serological marker of sexual lifestyle in populations. *Br Med J* 1994;309:1325-29.
- Cusini M, Cusan M, Parolin C, Scioccati L, Decleva I, Mengoli C, Suligo B, Palu G. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 infection among attendees of a sexually transmitted disease clinic in Italy. *Italian Herpes Forum. Sex Transm Dis* 2000 May;27(5):292-5.
- Da Rosa-Santos OL, Gonçalves da Silva A, Pereira AC Jr. Herpes simplex virus type 2 in Brazil: Seroepidemiologic survey. *Int J Dermatol.* 1996 Nov; 35(11):794-6.
- Da Rosa-Santos OL, Silva AG, Pereira AC Jr. Herpes simplex genital, uma doença sexualmente transmissível. *F Med (BR)* 1995;110:77-98.
- Davidivici BB, Green M, Marouni MJ, Bassal R, Pimenta JM, Cohen D. Seroprevalence of herpes simplex virus 1 and 2 and correlates of infection in Israel. *J Infect.* 2006 May;52(5):367-73.
- Davies N, Tang J, Ward KN. Herpes simplex virus type 2 and recurrent meningitis. *Lancet* 2004 Aug 7-13;364(9433):501-2.

De Souza CTV, Bastos FU, Lowndes CM, Szwarcwald CL, Santos EM, De Castilho EA & Sutmoller, on behalf of the Oswaldo Cruz Foundation STD/HIV Prevention Group. Perception of vulnerability to HIV infection in a cohort of homosexual/bisexual men in Rio de Janeiro, Brazil. AIDS CARE (1999), VOL.11, no.5, pp.567-579.

De Souza CTV, Diaz T, Sutmoller F and Bastos FI. The association of socioeconomic status and use of crack/cocaine with unprotected anal sex in a cohort of men who hgate sex with men in Rio de Janeiro, Brazil. JAIDS 2002. 29:95-100.

De Souza CTV, Lowndes CM, Szwarcwald, Sutmoller && Bas FI. Willingness to participate in HIV vaccine trials among a sample of men who have sex with men, with and without a history of commercial sex, Rio de Janeiro, Brazil. AIDS Care. 2003 Aug;15(4):539-48.

Del Mar Pujades Rodriguez M, Obasi A, Mosha F, Todd J, Brown D, Changalucha J et al. Herpes simplex virus type 2 infection increases HIV incidence: a prospective study in rural Tanzania. AIDS 2002;16:451-62.

Dylewski JS, Bekhor S. Mollaret's meningitis caused by herpes simplex virus type 2: case report and literature review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004 Jul;23(7):560-2.

FIELDS VIROLOGY - Immunology and Cell Biology , 4TH EDITION.

Fleming DT, McQuillan GM, Johnson RE, Nahmias AJ, Aral SO, Lee FK. Herpes simplex virus type 2 in the United States, 1976 to 1994. N Eng J Med 1997 Oct 16;337(16):1158-9.

Fleming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. Sex Transm Infect. 1999 Feb;75(1):3-17.

- Freeman EE, Weiss HA, Glynn JR, Cross PL, Whitworth JA, Hayes RJ. Herpes simplex virus 2 infection increases HIV acquisition in men and women: systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *AIDS* 2006 Jan 2;20(1):73-83. In press.
- Gadkari DA, Quinn TC, Gangakhedkar RR, Mehendale SM, Divekar AD, Risbud AR et al. HIV-1 DNA shedding in genital ulcers and its associated risk factors in Pune, India. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998;18:277-281.
- Gibson JJ, Hornung CA, Alexandra GR, Lee FK, Potts WA, Nahmias AJ. A cross-sectional study of herpes simplex virus type 1 and 2 in college students: Occurrence and determinants of infection. *J Infect Dis* 1990;162:306-1.
- Gonzales TT, Sabino EC, Murphy, Chen S, Chamone DAF et McFarland W. Human immunodeficiency virus testing motivation in blood donors, São Paulo, Brazil. *Vox Sanguinis* (2006) 90,170-176.
- Gottlieb SL, Douglas Jr. JM, Schmid DS, Bolan G, Iatesta M, Malotte CK et al. Seroprevalence and correlates of herpes simplex virus type 2 infection in five sexually transmitted-disease clinics. *J Infect Dis* 2002 Nov 15;186(10):1381-9.
- Gottlieb SL, Douglas Jr. JM, Foster M, Schmid DS, Newman DR, Baron AE, Golan G, Iatesta M, Malotte CK, Zenilman J, Fishbein M, Peterman TA, Kamb ML. Incidence of Herpes Simplex Virus Type 2 Infection in 5 Sexually Transmitted Disease (STD) Clinics and Effect of HIV/STD Risk-Reduction Counseling. *J Infect Dis* 2004;190:1059-67.
- Gray R, Chen M, Serwadda D, Sewankambo NK, Wabwire-Mangen, Chen MZ et al. Human Immunodeficiency Virus acquisition associated with genital ulcer disease and herpes simplex virus type 2 infection : a nested case control study in Rakai, Uganda. Paper presented at: International Conference on Sexually Transmitted Disease Research; Ottawa, Canada; 2003:178.

- Gray RH, Wawer MJ, Brookmayer R, Sewankambo NK, Serwadda D, Wabwire-Mangen et al. Probability of HIV-1 transmission per coital act in monogamous, heterosexual, HIV-1-discordant couples in Rakai, Uganda. *Lancet* 2001;357:1149-1153.
- Grosskurth H, Gray R, Hayes R, Mabey D, Wawer M. Control of sexually transmitted diseases for HIV-1 prevention: understanding the implications of the Mwanza and Rakai trials. *Lancet* 2000 Jun 3;355(9219):1981-7.
- Grosskurth H, Mosha F, Todd J, Mwijarubi E, Klokke A, Senkoro K, Mayaud P, Changalucha J, Nicoll A, ka-Gina G et al. Impact of improved treatment of sexually transmitted diseases on HIV infection in rural Tanzania: randomized controlled trial. *Lancet* 1995 Aug 26;346(8974):530-6.
- Guidelines for the management of sexually transmitted infections. Geneva: World Health Organization; 2003.
- Gwanzura L, McFarland W, Alexander D, Burke RL, Katzenstein D. Association between human immunodeficiency virus and herpes simplex virus type 2 seropositivity among male factory workers in Zimbabwe. *J Infect Dis* 1998;177:481-4.
- Halioua B, Malkin JE. Epidemiology of genital herpes - recent advances. *Eur J Dermatol*. 1999 Apr-May;9 (3):177-84.
- Hashido M, Lee FK, Nahmias AJ, Tsugami H, Isomura S, Nagata Y, Sonoda S, Kawana T. An epidemiologic study of herpes simplex virus type 1 and 2 infection in Japan based on type-specific serological assays. *Epidemiol Infect*. 1998 Mar; 120(2):179-86.
- Heng MC, Heng SY, Allen SG. Co-infection and synergy of human immunodeficiency virus-1 and herpes simplex virus-1. *Lancet* 1994; 343:255-258.

- Ho DW, Field PR, Irving WL, Packham DR, Cunningham AL. Detection of immunoglobulin M antibodies to glycoprotein G-2 by western blot (immunoblot) for diagnosis of initial herpes simplex virus type 2 genital infections. *J Clin Microbiol.* 1993 Dec;31(12):3157-64.
- Ho DW, Field PR, Sjogren-Jansson E, Jeansson S, Cunningham AL. Indirect ELISA for the detection of HSV-2 specific IgG and IgM antibodies with glycoprotein G (gG-2). *J Virol Methods.* 1992 Mar;36(3):249-64.
- Holmes KK, Sparling PF, Mardh PA, Lemon SM, Stamm WE, Piot P, Wasserheit JN. *Sexually Transmitted Diseases.* Third Edition, 1999; 20: 269-284.
- Holmes KK, Levine R & Weaver M. Effectiveness of condoms in preventing sexually transmitted infections. *Bulletin of World Health Organization* June 2004,82(6).
- Hook EW 3rd, Cannon RO, Nahmias AJ, Lee FF, Campbell CH Jr, Glasser D et al. Herpes simplex virus infection as a risk factor for human immunodeficiency virus infection in heterosexuals. *J Infect Dis* 1992;165:251-255.
- Ioannidis JPA, Collier AC, Cooper DA, Corey L, Fiddian AP, Gazzard BG et al. Clinical efficacy of high-dose acyclovir in patients with human immunodeficiency virus infection: a meta-analysis of randomized individual patient data. *J Infect Dis* 1998;178:349-359.
- Isada CM, Kasten BL, Goldman MP, Gray LD, Aberg JA. *Infectious Diseases Handbook.* Third edition. Copyright 1999 by Lexi-Comp, Inc.
- Johnson RE, Lee F, Hadgu A. US genital herpes trends during the first decade of AIDS: prevalence increased in young whites and elevated in blacks. *Sex Transm Dis* 1994 21 (Suppl): S109.

- Kamali A, Quigley M, Nakiyingi J, Kinsman J, Kengeya-Kayondo J, Gopal R, Ojwiya A, Hughes P, Carpenter LM, Whitworth J. Syndromic management of sexually-transmitted infections and behaviour change interventions on transmission of HIV-1 in rural Uganda: a community randomised trial. *Lancet* 2003 Feb 22;361(9358):645-52.
- Kerr-Pontes LR, Gondin R, Mota RS, Martins TA, Wypij D. Self-reported sexual behaviour and HIV risk taking among men who have sex with men in Fortaleza, Brazil. *AIDS* 1999;13:709-717).
- Kinghorn GR. Epidemiology of genital herpes. *J Int Med Res* 1994; 22(Suppl 1):14A-23A.
- Koelle DM, Benedetti J, A, Corey L. Asymptomatic reactivation of herpes simplex virus in women after the first episode of genital herpes. *Ann Int Med* 1992;116:433-37.
- Konda KA, Klausner JD, Lescano AG, Leon S, Jones FR, Pajuelo J, Caceres CF, Coates TJ; NIMH Collaborative HIV/STI Prevention Trial Group. The epidemiology of herpes simplex virus type 2 infection in low-income urban populations in coastal Peru. *Sex Transm Dis* 2005 Sep;32(9):534-41.
- Koutsky LA, Ashley RL, Holmes KK, Stevens CE, Chritchlow CW, Kiviat NB et al. The frequency of unrecognized type 2 herpes simplex virus infection among women. *Sex Transm Dis* 1990;17:90-94.
- Koutsky LA, Stevens CE, Holmes KK, Ashley RL, Kiviat NB, Chritchlow CW et al. Underdiagnosis of genital herpes by current clinical and viral-isolation procedures. *N Engl J Med* 1992;326:1533-9.
- Kucera LS, Leake E, Iyer N, Raben D, Myrvik QN. Human immunodeficiency virus type 1(HIV-1) and herpes simplex virus type 2 (HSV-2) can coinfect and simultaneously replicate in the same human CD4+ cell: effect of coinfection on infectious HSV-2 and HIV-1 replication. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1990;6:641-647.

- Kunst AE & Mackenbach JP. The size of mortality differences associated with educational level in nine industrialized countries. *American Journal of Public Health* 1994; 84:932-937.
- Laar MJW van de, Termorshuizen F, Slomka MJ, van Doornum GJ, Ossewaarde JM, Brown DW et al. Prevalence and correlates of genital herpes simplex virus type 2 infection: evaluation of behavioural risk factors. *Int J Epidemiol* 1998;27:127-134.
- Laeyendecker O, Henson C, Gray RH, Nguyen RHN, Horne BJ, Wawer MJ, Serwadda D, Kiwanuka N, Morrow RA, Hogrefe W, and Quinn TC. Performance of commercial, tupe-specific inzyme-linked immunosorbent assay for detection of herpes simplex virus type 2- specific antibodies in ugandans. *JCM* Apr 2004, p.1794-1796, vol.42, no 4.
- Langenberg A, Benedetti J, Jenkins J, Ashley R, Winter C, Corey L. Development of clinically recognizable genital lesions among women previously identified as having “asymptomatic” herpes simplex virus type 2 infection. *Ann Intern Med* 1989;110:882-7.
- Langenberg AG, Corey L, Ashley RL, Leong WP, Straus SE. A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. Chiron HSV Vaccine Study Group. *N Engl J Med* 1999;341:1432-8.
- Leone P. Asymptomatic shedding in the transmission, prevention and treatment of genital herpes. *Medscape Infectious Diseases* 6 (1), 2004.
- Lignani L Jr, Oliveira EI, Carneiro M, Greco M, Andrade J, Antunes CM, Greco DB. Sexually transmitted diseases in homosexual and bisexual males from a cohort of human immunodeficiency virus negative volunteers (Project Horizonte), Belo Horizonte, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2000 Nov-Dec; 95 (6):783-5.
- Liljeqvist JA, Svennerholm B, Bergstrom T. Typing of clinical Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2 Isolates with Monoclonal Antibodies. *J Clin Micro* 1999;37:2727-2718.

Löwhagen GB, Jansen E, Nordenfelt E, Lycke E. Epidemiology of genital herpes infections in Sweden. *Acta Derm Venerol* 1990;70:330-334.

Löwhagen GB, Berntsson M, Bonde E, Tunbäck P, Krantz I. Acceptance and outcome of herpes simplex virus type 2 antibody testing in patients attending an STD clinic-- recognized and unrecognized infections. *Acta Derm Venereol.* 2005;85(3):248-52.

Mandell GL, Douglas R and JE Bennett. *Principles and Practice of Infectious Diseases.* Fourth edition 1995.

Margolis D, Ostrove J, Straus S. HSV-1 activation of HIV-1 transcription is augmented by a cellular protein that binds near the initiator element. *Virology* 1993;192:370-374.

Mark HD, Sifakis F, Hylton JB, Celentano DD, Mackellar DA, Valleroy LA, Zenilman J. Sex with women as a risk factor for herpes simplex virus type 2 among young men who have sex with men in Baltimore. *Sex Transm Dis* 2005, Nov;32 (11): 691-695.

Marques AR & Straus SE. Herpes simplex type 2 infections - an update. *Dis Mon.* 2000 May;46(5):325-59.

Martinez MJ, Navarrete N, Santander E, Garmendia ML, Gubelin W. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 (HSV-2) infection in two clinics for sexually transmitted diseases in Santiago, Chile. *Rev Med Chil.* 2005 Mar;133(3): 302-6. Epub 2005 May 5.

Mbopi Keou FX, Gresenguet G, Mayaud P, Weiss HA, Gopal R, Matta M et al. Interactions between herpes simplex virus type 2 and immunodeficiency virus type 1 infection in African women: opportunities for intervention. *J Infect Dis* 2000;182:1090-6.

Mertz KJ, Voigt RA, Hutchins K, Levine WC; Jail STD Prevalence Monitoring Group. Findings from STD screening of adolescents and adults entering corrections facilities: implications for STD control strategies. *Sex Trnsm Dis.* 2002 Dec;29(12):834-9.

Mertz KJ, Trees D, Levine WC, Lewis JS, Litchfield B, Pettus KS et al. Etiology of genital ulcers and prevalence of immunodeficiency virus coinfection in ten US cities. The genital Ulcer Disease Surveillance Group. *J Infect Dis* 1998;178:1795-1798.

Mertz GJ. Epidemiology of herpes simplex infections. *Infect Dis Clin N Am* 1993;7:825-39.

Mertz GJ, Benedetti J, Ashley R, Selkes SA, Corey L. Risk and factors for sexual transmission of genital herpes. *Ann Intern Med* 1992;116:197-202.

Mertz GJ, Schmidt O, Jourden JL, Guinan ME, Remington ML, Fahnlander A et al. Frequency of acquisition of first-episode genital infection with herpes simplex virus from symptomatic and asymptomatic source contacts. *Sex Transm Dis* 1985;12:33-39.

Mihret W, Rinke de Wit TF, Petros B, Mekonnen Y, Tsegaye A, Wolday D, Beyene A, Aklilu M, Sanders E, Fontanet AL. Herpes simplex virus type 2 seropositivity among urban adults in Africa: results from two cross-sectional surveys in Addis Ababa, Ethiopia. *Sex Transm Dis* 2002 Mar; 29(3):175-81.

Monsalve F, Estevez J, Costa L, Salas M, Hernandez M, Olaya et al. Seroepidemiology of herpes simplex virus type 2 in the Amerindian Yukpa population of Zulia state, Venezuela. *Rev Med Chil* 2001;129:247-252.

Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, May 10, 2002 – Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

Morrow RA, Friedrich D. Inaccuracy of certain commercial enzyme immunoassays in diagnosing genital infections with herpes simplex virus types 1 or 2. *Am J Clin Pathol*. 2003 Dec; 120(6):839-44.

- Morrow RA. Importance of testing and diagnosis in genital herpes. *Medscape Infectious Diseases* 6(2), 2004.
- Mwansasu A, Mwakagile D, Haarr L, Langeland N. Detection of HSV-2 in genital ulcers from STD patients in Dar es Salaam, Tanzania. *J Clin Virol.* 2002 Apr;24(3):183-92.
- National Institutes of Health (NIH). Workshop summary: scientific evidence on condom effectiveness for sexually transmitted disease (STD) prevention. Washington, DC: NIH, 2000.
- Nilsen A, Mwakagile D, Marsden H, Langeland N, Matre R, Haarr L. Prevalence of, and risk factors for, HSV-2 antibodies in sexually transmitted disease patients, healthy pregnant females, blood donors and medical students in Tanzania and Norway. *Epidemiol Infect.* 2005 Oct;133(5):915-25.
- O'Farrell N. Targeted interventions required against genital ulcers in African countries worst affected by HIV infection. *Bull World Health Organ* 2001;79:569-577.
- Obasi A, Mosha F, Quigley M, Sekirassa Z, Gibbs T, Munguti K et al. Antibodies to herpes simplex virus type 2 as a marker of sexual risk behaviour in rural Tanzania. *J Infect Dis* 1999;179:16-24.
- Oberle MW, Rosero-Bixby L, Lee FK, Sanchez-Braverman M, Nahmias AJ, Guinan ME. Herpes simplex virus type 2 antibodies: high prevalence in monogamous women in Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg* 1989;41:224-9.
- Orroth KK, Korenromp EL, White RG, Chagalucha J, de Vlas SJ, Gray RH et al. Comparison of STD prevalence in the Mwanza, Rakes, and Masaka trial populations: the role of selection bias and diagnostic errors. *Sex Transm Infect.* 2003 Apr;79(2):98-105.

- Passos SRL, Camacho LAB. Factors associated with immediate dropout of outpatient treatment for drug abuse in Rio de Janeiro. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 2000; 35:513-517.
- Posavad CM, Wald A, Kuntz S, Huang ML, Selke S, Krantz E et al. Frequent reactivation of herpes simplex virus among HIV-1-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2004; 190(4):693-6.
- Pereira FA. Herpes simplex: evolving concepts. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35:503-20.
- Ping LH, Cohen MS, Hoffman I, Vernazza P, Seillier-Moiseiwitsch F, Chakraborty H, Kazembe P, Zimba D, Maida M, Fiscus SA, Eron JJ, Swanstrom R, Nelson JA. Effects of genital tract inflammation on human immunodeficiency virus type 1 V3 populations in blood and semen. *J Virol* 2000 Oct;74(19):8946-52.
- Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, Serwadda D, Li C, Wabwire-Mangen F et al. Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med* 2000;342:921-929.
- Ramaswamy M, McDonald C, Smith M, Thomas D, Maxwell S, Tenant-Flowers M, Geretti AM. Diagnosis of genital herpes by real time PCR in routine clinical practice. *Sex Transm Infect* 2004;80(5):406-10.
- Renzi C, Douglas JM Jr, Foster M, Critchlow CW, Ashley-Morrow R, Buchbinder SP, Koblin BA, McKirnan DJ, Mayer KH, Celum CL. Herpes simplex virus type 2 infection as a risk factor for human immunodeficiency virus acquisition in men who have sex with men. *J Infect Dis* 2003 Jan 1;187(1):19-25.
- Reynolds SJ, Risbud AR, Shepherd ME, Zenilman JM, Brookmeyer RS, Paranjape RS et al. Recent herpes simplex virus type 2 infection and risk of human immunodeficiency virus type 1 acquisition in India. *J Infect Dis* 2003;187:1513-1521.

- Risbud A, Chan-Tack K, Gadkari D, Gangakhedkar RR, Shepherd ME, Bollinger R et al. The etiology of genital ulcer disease by multiplex polymerase chain reaction and relationship to HIV infection among patients attending sexually transmitted disease clinics in Pune, India. *Sex Transm Dis* 1999;26:55-62.
- Rodriguez AC, Castle PE, Smith JS, Bratti C, Hildesheim A, Schiffman M, Viscidi R, Burk RD, Ashley RL, Castellsaguè X, Herrero R. A population based study of herpes simplex virus 2 seroprevalence in rural Costa Rica. *Sex Transm Infect.* 2003 Dec;79(6):460-5.
- Roest RW, Van der Meijden WI, van Dijk G, Groen J, Mulder PG, Verjans GM et al. Prevalence and association between herpes simplex virus types 1 and 2-specific antibodies in attendees at a sexually transmitted disease clinic. *Int J Epidemiol.* 2001 Jun; 30(3):580-8.
- Romero MLP. Doenças Sexualmente Transmissíveis. Quarta Edição, 1995. 12:162-169.
- Rompalo AM, Shepherd M, Lawlor JP, Rand S, Fox R, Brookmeyer R, et al. Definitions of genital ulcer disease and variation in risk for prevalent human immunodeficiency virus infection. *Sex Transm Dis* 1997;24:436-442.
- Rouse BT, Gierynska M. Immunity to Herpes Simplex Virus: a Hypotesis. *Herpes* 8: Supplement 1 2001.
- Safrin S, Arvin A, Mills J, Ashley R. Comparison of the Western immunoblot assay and glycoprotein G enzyme immunoassay for detection of serum antibodies to herpes simplex virus type 2 in patients with AIDS *J Clin Microbiol* 1992; 30:1312-4.
- Sanchez JL, Volquez C, Totten PA, Campos PE, Ryan C, Catlin M et al. The etiology and management of genital ulcers in the Dominican Republic and Peru. *Sex Transm Dis* 2002;29:559-567.

- Sanchez JL, Whittington WLH, Zuckerman RA. Bacterial STD and HSV-2 acquisition among MSM HIV seroconverters in Peru. Paper presented at: Conf HIV Pathog Treatment; Buenos Aires, Argentina; February 4-8, 2001:187.
- Sanchez-Alemán MA, Conde Glez CJ, Gayet C, Garcia Cisneros S, Uribe-Salas F. Sesual Behavior and Herpes Simplex Virus 2 Infection in College Students. Archives of Medical Research 36 (2005) 574-580.
- Schacker TW, Zeh JE, Hu HL, Hill E, Corey L. Frequency of symptomatic and asymptomatic herpes simplex virus type 2 reactivations among human immunodeficiency virus-infected men. J Infect Dis 1998; 178:1616-1622.
- Schacker T. The role of HSV in transmission and progression of HIV. Herpes 2001;8:46-49.
- Schacker T, Zeh J, Hu H, Shaughnessy M, Corey L. Changes in plasma human immunodeficiency virus type 1 RNA associated with herpes simplex virus reactivation and suppression. J Infect Dis 2002;186:1718-1725.
- Schechter M, Marangoni DV. Doenças Infeciosas: Conduta diagnóstica e terapêutica. Segunda Edição, 1998. 17: 484-486.
- Serwadda D, Gray RH, Scwankambo NK, Wabwire-Mangen, Chen MZ, QuinnTC et al. Human immunodeficiency virus acquisition associated with genital ulcer disease and herpes simplex virus type 2 infection: a nested case-control study in Rakai, Uganda. J Infect Dis 2003 Nov 15;188(10):1492-7.
- Siegal FP, Lopes C, Hammer GS, Brown AR, Kornfeld SJ, Gold J et al. Severe acquired immunodeficiency in male homosexuals manifested by chronic perianal ulcerative herpes simplex lesions. N Engl J Med 1981;305:1439.

Siegel D, Golden E, Washington AE, et al. Prevalence and correlates of herpes simplex infections. The population-based AIDS in Multiethnic Neighborhoods Study. JAMA 1992; 268:1702-8.

Simões-Barbosa A, Coutinho Feijó G, da Silva JX, Rama Leal II, Wanderley Paes Barbosa T. Six-year follow-up survey of sexually transmitted diseases in Brasilia, the Capital of Brazil. Braz J Infect Dis 2002 Jun;6(3):110-8.

Singh AE, Romanowski B, Wong T, Gourishankar S, Myziuk L, Fenton J, Preiksaitis JK. Herpes simplex virus seroprevalence and risk factors in 2 Canadian sexually transmitted disease clinics. Sex Transm Dis. 2005 Feb;32(2):95-100.

Smith JS, Herrero R, Muñoz N, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Bosch FX et al. Prevalence and risk factors for herpes simplex virus type 2 infection among middle-aged women in Brazil and Philippines. Sex Transm Dis 2001; 28:187-94.

Smith JS, Robinson NJ. Age-specific Prevalence of Infection with Herpes Simplex Virus Types 2 and 1: A Global Review. The Journal of Infectious Diseases 2002;186:S3-S28.

Spear PG. Biology of herpesviruses. In: Holmes KK, Mardh P-A, Saprling FP, Wiesner PJ (eds). Sex Transm Dis New York: McGraw Hill Information Services Company, 1990.

Sutmoller F, Souza CTV, Monteiro JC, Penna T. The Rio de Janeiro HIV vaccine site – I. Recruitment strategies and socio-demographic data of HIV negative Homosexual and bisexual male cohort in Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol.92(1): 39-46, Jan./Feb. 1997.

Sutmoller F, Penna TL, de Souza CT, Lambert J; Oswaldo Cruz Foundation STD/HIV Prevention Group. Human immunodeficiency virus incidence and risk behavior in the 'Projeto Rio': results of the first 5 years of the Rio de Janeiro open cohort of homosexual and bisexual men, 1994-98. Int J Infect Dis 2002 Dec;6(4):259-65.

- Totten PA, Kuypers JM, Chen CY, Alfa MJ, Parsons LM, Dutro SM et al. Etiology of genital ulcer disease in Dakar, Senegal, and comparison of PCR and serologic assays for detection of *Haemophilus ducreyi*. *J Clin Microbiol*. 2000 Jan;38(1):268-73.
- Turner KR, McFarland W, Kellogg TA, Wong E, Page-Shafer K, Louie B, Dilley J, Kent CK, Klausner J. Incidence and prevalence of herpes simplex virus type 2 infection in persons seeking repeat HIV counseling and testing. *Sex Transm Dis* 2003 Apr;30(4):331-4.
- UNAIDS. Repots on the Global HIV/AIDS Epidemic, June 2000, Geneva, Switzerland: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) 2000.
- Varela JA, Garcia-Corbeira P, Aguanell MV, Boceta R, Ballesteros J, Aguilar et al. Herpes simplex virus type 2 seroepidemiology in Spain: prevalence and seroconversion rate among sexually transmitted disease clinic attendees. *Sex Transm Dis* 2001 Jan; 28(1):47-50.
- Veronesi R, Focaccia R. *Tratado de Infectologia*. 1997; 25:85-399.
- Wade AS, Kane CT, Diallo PA, Diop AK, Gueye K, Mboup S, Ndoeye I, Lagarde E. HIV infection and sexually transmitted infections among men who have sex with men in Senegal. *AIDS* 2005 Dec 2;19(18):2133-40.
- Wald A, Zeh J, Selke S, Ashley RL, Corey L. Virologic characteristics of subclinical and symptomatic genital herpes infections. *N Engl J Med* 1995 Sep 21;333(12):770-5.
- Wald A, Corey L, Cone R, Hobson A, Davis G, Zeh J. Frequent genital herpes simplex virus 2 shedding in immunocompetent women. Effect of acyclovir treatment. *J Clin Invest* 1997; 99:1092.
- Wald A, Koutsky L, Ashley RL, Corey L. Genital herpes in a primary care clinic: demographic and sexual correlates of herpes simplex type 2 infections. *Sex Transm Dis* 1997;24:149-155.

- Wald A, Baseman J, Selke S. Sexual transmission of genital herpes simplex virus (HSV): a time-to-event analysis of risk factors associated with rapid acquisition [Abstract A6]. In: Program and abstracts of the 2000 National STD Prevention Conference (Milwaukee). Washington, DC: US Department of Health and Human Services, 2000. National Institutes of Health (NIH). Workshop summary: scientific evidence on condom effectiveness for sexually transmitted disease (STD) prevention. Washington, DC: NIH, 2001.
- Wald A, Langenberg AG, Link K, Izu AE, Ashley R, Warren T et al. Effect of condoms on reducing the transmission of herpes simplex virus type 2 from men to women. *JAMA*. 2001 Jun 27;285(24):3100-6.
- Wald A, Ashley-Morrow R. Serological testing for herpes simplex virus (HSV)-1 and HSV-2 infection. *Clin Infect Dis* 2002;35(Suppl. 2):S173-182.
- Wald A & Link K. Risk of human immunodeficiency virus infection in herpes simplex virus type 2-seropositive persons: a meta-analysis. *J Infect Dis* 2002;185:45-52.
- Wald A & Corey L. How does herpes simplex virus type 2 influence human immunodeficiency virus infection and pathogenesis? *J Infect Dis* 2003;187:1509-1512.
- Wald A. Herpes simplex virus type 2 transmission: risk factors and virus shedding. *Herpes* 11 Suppl 3 2004.
- Wasserheit JN. Epidemiological synergy: interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases. *Sex Trans Dis* 1992;19:61-77.
- Wawer MJ, Sewadda D, Li X. HIV transmission per coital act, by stage of HIV index partner, in discordant couples. Rakai, Uganda [Abstract 40]. 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Feb 10-14, 2003;Boston, MA.

- Wawer MJ, Sewankambo NK, Serwadda D, Quinn TC, Paxton LA, Kiwanuka N et al. Control of sexually transmitted diseases for AIDS prevention in Uganda: randomized community trial. Rakai Project Study Group. *Lancet* 1999;353:525-535.
- Weiss HA, Buvé N, Robinson NJ, Van Dick E, Kahindo M, Anagonou S et al. The epidemiology of HSV-2 infection and its association with HIV infection in four urban African populations. *AIDS* 2001;15(Suppl 4):S97-108.
- Weiss H. Epidemiology of herpes simplex type 2 infection in the developing world. *Herpes*. 2004 Apr;11 Suppl 1:24A-35A.
- Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B. Herpes simplex viruses. *Clin Infect Dis* 1998;26:541-553.
- Wu JJ, Huang DB, Pang KR, Tyring SK. Selected sexually transmitted diseases and their relationship to HIV. *J Clin Dermatol*. 2004.07.008.

ANEXO I

Termo de Confidencialidade

Instituto de Pesquisa Evandro Chagas – Fiocruz

Coordenador da Pesquisa: Junia Rodrigues

Endereço: Av. Brasil, 4365 – Manguinhos – R.J. CEP 21040-900

Tel: (0XX21) 3865-9540

Nome do Projeto de Pesquisa: “Prevalência e fatores de risco para a infecção pelo vírus herpes simples tipo-2 em uma coorte de homens que fazem sexo com homens no Rio de Janeiro”

Nome do paciente: _____

Eu, Junia Rodrigues, CRM 52.56.961-0, coordenadora do projeto de pesquisa acima, comprometo manter a confidencialidade, assim como a privacidade dos participantes. Sua identidade, assim como os resultados obtidos com este projeto serão mantidos em um banco de dados sob minha responsabilidade.

Os resultados obtidos com esta pesquisa serão divulgados em comunicações científicas, mantendo o anonimato dos participantes e o material utilizado não poderá ser empregado em outras pesquisas, a não ser quando abertos novos protocolos.

Assinatura _____

Data: __/__/__