



**ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA**  
**CURSO DE MEDICINA**

**GIULIA BOTELHO LAGO**

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE FUNCIONAL DA REPOSTA CELULAR  
CONTRA O VÍRUS DA CHIKUNGUNYA (CHIKV) EM PESSOAS QUE VIVEM  
COM HIV/AIDS (PVHA)**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**SALVADOR - BA**  
**2023**

**GIULIA BOTELHO LAGO**

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE FUNCIONAL DA REPOSTA CELULAR  
CONTRA O VÍRUS DA CHIKUNGUNYA (CHIKV) EM PESSOAS QUE VIVEM  
COM HIV/AIDS (PVHA)**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)  
apresentado ao curso de graduação em  
Medicina da Escola Bahiana de Medicina e  
Saúde Pública para aprovação parcial no 4º  
ano de Medicina.

Orientador: Antônio Ricardo Khouri Cunha

Coorientador: Luciane Amorim Santos

**SALVADOR - BA**

**2023**

## RESUMO

**Introdução:** O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um retrovírus de RNA classificado na subfamília dos *Lentiviridae*, sendo o causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Ele possui um mecanismo fisiopatológico que, a partir da cronificação, desencadeia uma limitação na capacidade do sistema imune em organizar uma resposta eficiente a agressores. Uma das infecções possíveis em pessoas que vivem com HIV/AIDS (PVHA), são através dos arbovírus, como o Vírus do Chikungunya (CHIKV), pertencente à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*, isolado pela primeira vez em humanos em 1952 na Tanzânia. Observou-se que pacientes HIV<sup>+</sup>/CHIKV<sup>+</sup> do Centro de Referência DST/HIV/AIDS de Feira de Santana, em uso de TARV. **Objetivo:** Avaliar a resposta imune adaptativa celular contra o vírus da Chikungunya em PVHA. **Metodologia:** Trata-se de um estudo observacional do tipo corte transversal que está associado ao projeto de pesquisa intitulado “Avaliação do impacto da infecção por HIV na apresentação clínica da doença causada pela infecção por Chikungunya”, aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (UFBA), protocolo CAE 94176818.6.0000.5577, sob parecer nº 2.824.63 e segue conformidade com regulamentação da bioética no Brasil e com a Declaração de Helsinque. O estudo foi desenvolvido com 634 pacientes cadastrados no Centro de Referência DST/HIV/AIDS em Feira de Santana - BA, que possuíam diagnóstico de HIV, sendo 109 pacientes com sorologia positiva para anti-IgG de CHIKV. **Resultados:** Com relação à caracterização demográfica, a maioria era do sexo masculino, heterossexuais, auto declarantes pardos, solteiros, católicos e possuíam ensino médio completo. Foi encontrado uma associação significativa entre as seguintes citocinas e quimiocinas: EGF, IFN- $\gamma$ , IFN $\alpha$ , IL-12, IL-1RA, IL-1A, IL-2, IL-4, IL-8, IP-10, MIP-1A, MIP1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ . Em relação aos receptores, o único que possuiu uma diferença significativa foi a forma solúvel do receptor de IL-1 tipo II (sIL-1RII). **Conclusão:** Através da análise dos resultados apresentados, foi possível observar que mesmo com uma imunossupressão de células TCD4<sup>+</sup> causada pelo HIV, os indivíduos soropositivos com sorologia IgG anti CHIKV conseguem desencadear a produção de citocinas e quimiocinas, atenuando os sintomas de artralgia, através da produção do sIL1-RII. Além disso, sexo masculino e o estado civil “solteiro” se revelaram como possíveis fatores de risco, já as populações preta e parda mostraram-se associadas ao baixo nível escolar, em comparação com a população branca participante do estudo.

**Palavras-chave:** Sorodiagnóstico de HIV. Infecções por arbovírus. Fatores Imunológicos

## ABSTRACT

**Introduction:** The Human Immunodeficiency Virus (HIV) is an RNA retrovirus classified in the *Lentiviridae* subfamily, causing Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). It has a pathophysiological mechanism that, following chronicity, triggers a limitation in the immune system's ability to organize an efficient response to aggressors. One of the possible infections in people living with HIV/AIDS (PLHA) is through arboviruses, such as the Chikungunya Virus (CHIKV), belonging to the *Togaviridae* family, genus Alphavirus, isolated for the first time in humans in 1952 in Tanzania. It was observed that HIV<sup>+</sup>/CHIKV<sup>+</sup> patients at the STD/HIV/AIDS Reference Center in Feira de Santana, using ART.

**Objective:** To evaluate the cellular adaptive immune response against the Chikungunya virus in PLHA. **Methodology:** This is an observational cross-sectional study that is associated with the research project entitled "Assessment of the impact of HIV infection on the clinical presentation of the disease caused by Chikungunya infection", approved by the Faculty's Research Ethics Committee of Medicine at the Federal University of Bahia (UFBA), CAE protocol 94176818.6.0000.5577, under opinion no. 2.824.63 and complies with bioethics regulations in Brazil and the Declaration of Helsinki. The study was developed with 634 patients registered at the STD/HIV/AIDS Reference Center in Feira de Santana - BA, who were diagnosed with HIV, those, 109 patients were with positive serology for CHIKV anti-IgG. **Results:** Regarding demographic characterization, the majority were male, heterosexual, self-declared mixed race, single, Catholic and had completed high school. A significant association was found between the following cytokines and chemokines: EGF, IFN- $\gamma$ , IFN $\alpha$ , IL-12, IL-1RA, IL-1A, IL-2, IL-4, IL-8, IP-10, MIP- 1A, MIP1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ . Regarding the receptors, the only one that has a significant difference was the soluble form of the IL-1 type II receptor (sIL-1RII). **Conclusion:** Through the analysis of the results presented, it was possible to observe that even with immunosuppression of CD4<sup>+</sup> T cells caused by HIV, seropositive individuals with IgG anti CHIKV serology provoke the production of cytokines and chemokines, attenuating the symptoms of arthralgia, through the production of sIL1-RII. Furthermore, the male sex and the "single" marital status were revealed as possible risk factors, with black and mixed-race populations shown to be associated with low educational level, compared to the white population participating in the study.

**Keywords:** HIV Serodiagnosis. Arbovirus Infections. Immunologic Factors.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>8</b>
2.1	Objetivo Primário.....	8
2.2	Objetivo Secundário.....	8
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>9</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>15</b>
4.1	Desenho de estudo e aspectos éticos .....	15
4.2	População de estudo .....	15
4.3	Coleta de dados .....	15
4.4	Diagnóstico de CHIKV .....	16
4.5	Manutenção da cultura celular .....	16
4.6	Titulação do vírus da Chikungunya.....	16
4.7	Infecção viral .....	17
4.8	LUMINEX® .....	17
4.9	Imunoensaio.....	18
4.10	Análise de dados.....	18
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>20</b>
5.1	Características sociodemográficas .....	20
5.2	Avaliação da resposta imune celular adaptativa.....	22
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>24</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>28</b>
<b>9</b>	<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE</b> .....	<b>34</b>
<b>10</b>	<b>APÊNDICE B – ROTEIRO PARA COLETA DE DADOS</b> .....	<b>36</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um retrovírus de RNA classificado na subfamília dos *Lentiviridae*, sendo o causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)<sup>1</sup>. Ele possui um mecanismo fisiopatológico que, a partir da cronificação, desencadeia uma limitação na capacidade do sistema imune em organizar uma resposta eficiente a agressores, devido ao efeito citopático do vírus que causa uma redução na contagem de células TCD4<sup>+</sup>, resultando em uma imunossenescência<sup>2</sup>.

Durante os primeiros surtos da doença, iniciaram-se estudos para desenvolver uma terapia, a Terapia Antirretroviral (TARV), que impediria a disseminação viral e combateria essa regressão do sistema imune, ampliando a qualidade de vida dos infectados<sup>3</sup>, através de mecanismos que visam controlar sua replicação pela inibição de alguns estágios do ciclo viral, prevenindo o efeito citopático do vírus na resposta imunológica. Porém, o HIV possui uma capacidade de mutação exacerbada, o que favorece para que ocorra resistência e coinfeções, infecções secundárias por patógenos oportunistas e até mesmo, nefropatias<sup>4</sup>.

De acordo com os dados estatísticos das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (UNAID), no ano de 2021, foram estimadas que 38,4 milhões de no mundo viviam com HIV. No final de dezembro do mesmo ano, 28,7 milhões de pessoas estavam acessando a TARV, ou seja, pessoas, 75% da população infectada. Em 2010, esse número era de apenas de 7,8 milhões<sup>5</sup>.

Uma das infecções possíveis em pessoas que vivem com HIV/AIDS (PVHA), são através dos arbovírus, como o Vírus do Chikungunya (CHIKV), pertencente à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*, isolado pela primeira vez em humanos em 1952 na Tanzânia<sup>6</sup>. No Brasil, os primeiros relatos autóctones foram confirmados no Oiapoque (AP) e em Feira de Santana (BA) em setembro de 2014<sup>7,8</sup>. Atualmente, até a semana epidemiológica (SE) 52 de 2022, foram registrados 174.517 casos prováveis de Chikungunya (taxa de incidência de 81,8 casos por 100 mil hab.) no Brasil, em comparação com o ano de 2021, ocorreu um aumento de 78,9% casos até a respectiva semana<sup>9</sup>. Contudo, ainda há

poucos estudos que avaliam a soroprevalência do CHIKV em populações das Américas, principalmente em PVHA<sup>10</sup>.

Diferentemente de outros arbovírus, Dengue e Zika, a Chikungunya, na maioria das vezes apresenta-se com manifestações articulares e musculares persistentes, além de expressar febre de início agudo, cefaleia, náusea, fadiga e exantema como principais sintomas, podendo, ainda, evoluir para a fase subaguda e crônica. A infecção pelo CHIKV provoca consequências para os indivíduos em relação à produtividade e qualidade de vida, por conta da sintomatologia que permanece cronificada por longos anos, e por consequência, uma sobrecarga nos serviços de saúde<sup>11</sup>.

Observou-se que pacientes HIV<sup>+</sup>/CHIKV<sup>+</sup> do Centro de Referência DST/HIV/AIDS de Feira de Santana, em uso de TARV, apresentavam uma sintomatologia mais serena que os infectados somente pelo CHIKV, em comparação aos indivíduos HIV<sup>+</sup> sem uso de TARV. Devido a isso, os pacientes coinfectados foram selecionados para analisar a capacidade de neutralização do anticorpo IgG<sup>+</sup> através do Teste de Neutralização por Placas de Lise (PRNT), que constatou a presença de uma resposta imunocompetente quanto à neutralização do CHIKV pelo anticorpo IgG<sup>+</sup><sup>12</sup>.

Contudo, ainda é necessário investigar as propriedades da resposta imune desencadeada pelos pacientes HIV<sup>+</sup>/CHIKV<sup>+</sup> e compreender que tipo de elementos estão envolvidos nesse processo de resposta e combate ao CHIKV mesmo com a imunossupressão causada pelo HIV.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Primário**

Avaliar a resposta imune adaptativa celular contra o vírus da Chikungunya em PVHA.

### **2.2 Objetivo Secundário**

Descrever as características sociodemográficas e clínicas dos pacientes infectados por HIV-1 com sorologia positiva ou negativa para anti-IgG de CHIKV.

Avaliar a capacidade celular efetora através da quantificação de citocinas pro/anti-inflamatórias contra o CHIKV.



### 3 REVISÃO DE LITERATURA

O retrovírus HIV, causador da AIDS, apresenta a capacidade de induzir, lenta e progressivamente a resposta imune, infectando as células do organismo vivo, tendo como alvo principal, o GALT (*Gut-Associated Lymphoid Tissue*) rico em células T CD4<sup>+</sup> <sup>13</sup>, que possuem uma função auxiliar (*helper*) e indutora, sendo responsáveis por organizar e comandar a resposta diante de microrganismos invasores<sup>2</sup>. A resposta imune antiviral inicia-se através do reconhecimento do patógeno por meio das células dendríticas (DC's), especialmente do tipo plasmacitoide, que irão dar início à produção de interferons (IFNs) do tipo I, por meio de vias bioquímicas<sup>14</sup>.

Os IFN I são essenciais para o controle da infecção viral e sua produção é desencadeada por receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), que detectam os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Os receptores medeiam o recrutamento de um adaptador que estimula o promotor de IFN I (IFN- $\alpha/\beta$ ), para induzir a sua produção através dos fatores reguladores de interferon 3 e 7 (IRF3 e IRF7)<sup>15</sup>. Consequentemente, a ação antiviral de IFN I depende dos seus receptores para ativar a via de sinalização JAK/STAT, a qual é essencial para sua regulação por um *loop* de *feedback* positivo amplificando a produção desse interferon que é produzido pela maioria dos tipos de células e constituem a primeira linha de defesa contra infecções virais<sup>16</sup>.

A segunda linha de defesa é marcada pela presença da resposta imune adaptativa, na qual prevalece a resposta das células T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup>. As células T CD4<sup>+</sup> *náive* são ativadas e diferenciadas a partir das células apresentadoras de antígenos (APCs)<sup>17</sup>, por meio do complexo de histocompatibilidade de classe II (MHC classe II)<sup>15</sup>. As células B, também, apresentam esse imunocomplexo e a interação antígeno proteico via MHC classe II com a célula T CD4<sup>+</sup> contribui com a expansão clonal das células B através da diferenciação para células de memória e produção de anticorpos<sup>18</sup>.

O HIV-1 possui tropismo às células T CD4<sup>+</sup> <sup>19</sup>. Com isso, esse grupo de células acaba não desempenhando sua função na resposta imune celular e humoral por conta do efeito citopático do vírus<sup>20</sup> responsável por alterações

degenerativas e gera, conseqüentemente, a imunossenescência. Conforme a História Natural da Infecção pelo HIV, os indivíduos apresentam três fases: aguda (retroviral aguda), crônica de latência clínica e AIDS<sup>21</sup>.

Os indivíduos portadores do HIV-1 na Fase Retroviral Aguda, apresentam uma multiplicação do vírus extremamente rápida, elevando significativamente os níveis de viremia plasmática e a carga viral no sangue<sup>22</sup>, tendo seu pico associado a um lento declínio, porém progressivo da contagem células T CD4<sup>+</sup>. As concentrações evidenciadas diminuem até um ponto de equilíbrio (*set point*) entre a replicação viral e a resposta imune do hospedeiro, depois de 2-4 semanas, associado a expansão da resposta celular da T CD8<sup>+</sup> citotóxicas<sup>21</sup>.

A fase crônica de latência clínica é caracterizada por uma forte interação entre as células de defesa e as constantes e rápidas mutações virais, desencadeando a ativação da resposta imune humoral e celular. A ativação dessa resposta favorece o aumento da contagem de células T CD4<sup>+</sup>, mas para níveis inferiores aos existentes antes da infecção<sup>21</sup>, visto que, a morte celular dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> induzida permanece<sup>4</sup>.

Na AIDS, o crescente aumento da carga viral resulta diretamente na depleção das células T CD4<sup>+</sup>, concomitando na ausência de uma resposta imune celular eficaz contra o HIV-1. A resposta celular e humoral se encontra em exaustão, o que reflete na vulnerabilidade crônica associada a infecções oportunistas, neoplasias secundárias e manifestações neurológicas<sup>23</sup>.

Os primeiros casos de AIDS foram relatados entre os anos de 1977 e 1978, nos Estados Unidos, Haiti e África Central<sup>24</sup>, enquanto, no Brasil, os primeiros surgiram no início da década de 80. Os estudos acerca desse agente, iniciou-se, somente, após a revelação de vários casos de sarcoma de Kaposi e pneumonia pelo *Pneumocistis carinii*, em pacientes homossexuais masculinos<sup>25</sup>.

A partir de 1982, iniciou-se a adoção temporária do termo Doença dos 5 H - Homossexuais, Hemofílicos, Haitianos, Heroinômanos (usuários de heroína injetável), *Hookers* (profissionais do sexo em inglês) -, sendo conhecida como "Peste Gay" no Brasil. Diante desse cenário de ignorância, que se alastrava em um aspecto mundial, o Centro para o Controle e Prevenção de Doenças (CDC -

"*Center for Disease Control and Prevention*"), órgão norte-americano de vigilância epidemiológica, passou a estudar a doença e definir seu perfil clínico e epidemiológico<sup>23</sup>.

Os primeiros medicamentos que combateriam a carga viral o HIV, os antirretrovirais (ARV), surgiram em 1980. Porém foi somente em 1996 que a Lei Federal nº 9.313, de 13 de novembro, foi aprovada, a qual dispõe sobre a distribuição e gratuidade dos medicamentos, mediante as recomendações terapêuticas vigentes no Brasil. Em 2013, houve um novo marco para o combate contra a AIDS, adultos com testes positivos de HIV, mesmo sem comprometimento do sistema imunológico, passaram a ter acesso, também, aos ARVs pelo Sistema Único de Saúde (SUS)<sup>26</sup>.

O preceito inicial da TARV tem como meta de impedir a multiplicação viral, a partir da inibição da fusão, a entrada, a transcrição e as enzimas virais<sup>27</sup> de maneira mais completa e durável, para, assim, evitar a citotoxicidade viral. Existem alguns fatores imprescindíveis a serem avaliados para que haja a eficácia do TARV, como: compreensão da replicação viral, potência antiviral, farmacocinética e toxicidade dos fármacos antirretrovirais e interações das drogas usadas nas associações<sup>28</sup>.

Inicialmente havia poucos medicamentos disponíveis para o combate à infecção viral, mas com o passar dos anos, tornou-se possível analisar a interação do fármaco com as etapas de replicação viral para aprimorar o tratamento em vigor<sup>29</sup>. A partir das associações feitas, houve um grande avanço no uso da TARV levando à reconstituição do sistema imune, ou seja, um combate contra o estado imunossupressor, e redução de infecções oportunistas e até mesmo as taxas de mortalidade, trazendo, por consequência, um prolongamento e melhora na qualidade de vida das pessoas que vivem com HIV/AIDS (PVHA)<sup>30</sup>.

Para o mecanismo de inibição da replicação viral, três classes de fármacos foram elaboradas: (1) os inibidores de protease<sup>31</sup>, que atuam na enzima protease, bloqueando sua ação e impedindo a produção de novas cópias de células infectadas com HIV<sup>32</sup>; (2) os inibidores de transcriptase reversa

nucleosídeos<sup>31</sup>, os quais atuam sobre a enzima em questão, tornando defeituosa a cadeia de DNA que o vírus HIV cria dentro das células de defesa do organismo, impedindo a reprodução viral<sup>32</sup>; e (3) os não-nucleosídeos<sup>31</sup>, que bloqueiam diretamente a ação da enzima e a multiplicação viral<sup>32</sup>.

Em um estudo publicado na Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas (2004), feito por Jacqueline de Souza e Sílvia Storpirtis, foram analisados a atividade antirretroviral e propriedades farmacocinéticas da associação entre Lamivudina e Zidovudina, ARVs indicados para o tratamento de infecção pelo HIV, nucleosídeos análogos, que passam por reações intracelulares de fosforilação e atuam inibindo a enzima transcriptase reversa<sup>33</sup>.

Em março de 1987, o FDA (*Food and Drug Administration*), órgão norte-americano de controles dos produtos farmacêuticos, aprovou para comercialização do primeiro ARV: a Azidotimidina ou Zidovudina<sup>33</sup>, responsável por inibir os vírus HIV-1, HIV-2, o vírus-1 da leucemia T/linfoma em humanos e outros retrovírus de mamíferos<sup>34</sup>. Já a Lamivudina teve seu uso aprovado pelo FDA em 1995<sup>33</sup>. Ela atua inibindo a replicação do vírus HIV e alguns trabalhos chamam a atenção para a atividade contra o vírus da hepatite B<sup>35</sup>. Atualmente, eles são utilizados na TARV combinada com o objetivo de aumentar a supressão viral, prevenir a resistência aos fármacos e simplificar a posologia<sup>36</sup>.

Como conclusão, as autoras identificaram que a administração conjunta dos fármacos supracitados e mais um inibidor de protease ocasionou aumento de 3,5% no sucesso terapêutico<sup>33</sup>, ou seja, na recuperação do desgaste imunológico do paciente, em comparação ao uso dos mesmos fármacos em comprimidos separados.

Perante o exposto, é possível inferir que a TARV reduziu drasticamente a mortalidade e morbidade relacionadas ao HIV e aumentou a expectativa de vida entre os que vivem com HIV<sup>37</sup>. Contudo, ainda se observa uma dificuldade em manter o tratamento contra esse vírus de forma contínua e intermitente, devido a dificuldades da própria terapia por interferir na vida cotidiana do paciente, falta de informação e até mesmo efeitos colaterais relacionados à resistência viral aos medicamentos<sup>38</sup>.

Diante desse contexto de deficiência na imunidade, evidencia-se que os indivíduos portadores do HIV-1 estão passíveis a um risco de contaminação por outros patógenos devido à disfunção das células TCD4<sup>+</sup>, inflamação persistente e anormalidades epiteliais de mucosas<sup>39</sup>, ou seja, a vigilância imunológica, mesmo controlada pelo TARV, ainda se encontra prejudicada, dificultando a detecção clínica de fenótipos variados<sup>40</sup>.

O avanço da AIDS, e a redução da contagem de linfócitos TCD4<sup>+</sup>, favorece para que outras doenças infecciosas possam ser adquiridas ou reativadas<sup>41</sup>, ou seja, quanto mais baixa a contagem, maior a susceptibilidade para o desenvolvimento de infecções oportunistas e coinfeções<sup>42</sup>. Dentre as doenças e infecções que podem ocorrer, as mais comuns são a tuberculose, pneumonia, hepatite, toxoplasmose, entre outros<sup>10,41</sup>.

Uma coinfeção muito comum é pelo citomegalovírus humano (CMV), outra infecção viral crônica, que ocorre em conjunto com o HIV, frequentemente, e ocupa uma proporção superdimensionada das respostas das células T de memória, em virtude de estratégias complexas desenvolvidas por esse grupo viral para manipular o sistema imunológico, como sequestro da sinalização de citocinas e quimiocinas, manipulação das vias de desenvolvimento celular e a transativação da expressão do HIV pelo CMV<sup>39,43</sup>, favorecendo, assim, a expansão e resistência do HIV.

Outro tipo de coinfeção existente é pelos arbovírus, por exemplo, o vírus da Chikungunya (CHIKV), transmitido pelo mosquito *Aedes*, responsável por surtos periódicos e explosivos de uma doença febril caracterizada por uma poliartrite severa e, muitas vezes, persistente<sup>44</sup>. A doença causada pelo CHIKV é, muitas vezes, autolimitada com baixa taxa de mortalidade, mas apresenta manifestações da infecção que levam à incapacidade aguda e crônica, por conseguinte, implicações na qualidade de vida dos pacientes infectados, bem como consequências econômicas e comunitárias<sup>6</sup>.

Em 2015, foi realizado um estudo transversal nas ilhas caribenhas francesas de Martinica e Guadalupe em que avaliaram a soro prevalência da infecção pelo CHIKV entre PVHA, nos quais 61% se mostraram positivos para a doença da

Chikungunya e somente 1/3 sintomática, propondo, então, que o HIV em tratamento com TARVs poderia uma fornecer imunoproteção contra o CHIKV<sup>45</sup>.

Esse fenômeno também foi observado em outros estudos de coinfeção do HIV com o vírus da hepatite B (VHB), como pelo estudo realizado na Universidade de *Melbourn* em conjunto com o hospital *The Royal Melbourn*, no qual evidenciou-se que a aceitação generalizada e o início precoce da TARV ativa para VHB melhoraram substancialmente a história natural da doença, através da supressão efetiva da replicação de ambos os vírus<sup>37</sup>.

Diante do exposto, esse estudo propõe analisar compreender os mecanismos moleculares e imunológicos e identificar se o reservatório latente será funcional para combate às infecções contra o CHIKV, e por fim, identificar a efetividade da resposta imune celular com o intuito de fomentar estratégias de erradicação do HIV.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Desenho de estudo e aspectos éticos**

Trata-se de um estudo observacional do tipo corte transversal que está associado ao projeto de pesquisa intitulado “Avaliação do impacto da infecção por HIV na apresentação clínica da doença causada pela infecção por Chikungunya”, aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (UFBA), protocolo CAE 94176818.6.0000.5577, sob parecer nº 2.824.63 e segue conformidade com regulamentação da bioética no Brasil e com a Declaração de Helsinque.

### **4.2 População de estudo**

O estudo foi desenvolvido com pacientes cadastrados no Centro de Referência DST/HIV/AIDS, serviço público de referência localizado em Feira de Santana - BA, que possuíam diagnóstico de HIV, na faixa etária entre 18 e 59 anos, submetidos à assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Apêndice A). A coleta foi realizada no momento que os indivíduos realizavam a quantificação de carga viral para HIV e/ou de linfócitos CD4<sup>+</sup>, com periodicidade definida pelo Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para manejo do HIV em adultos, em vigência na instituição.

### **4.3 Coleta de dados**

Foram coletadas 634 amostras HIV<sup>+</sup>, desse grupo 109 amostras de indivíduos infectados por HIV-1 possuíam sorologia positiva para anti-IgG de CHIKV.

Foi consultado, ainda, o prontuário para coleta de informações sobre sinais e sintomas da CHIKV, fase aguda e crônica, assim como dados sobre a dosagem de linfócitos TCD4<sup>+</sup>, carga viral de HIV e testes confirmatório para HIV. Este estudo foi realizado por meio de um roteiro de entrevista estruturada (Apêndice B), aplicação de escalas específicas, além da busca de dados nos prontuários, incluindo informações como o uso da TARV, Carga Viral (CV) e do Sistema de Controle de Exames Laboratoriais da Rede Nacional de Contagem de Linfócitos CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> e Carga Viral do HIV (SISCEL).

Foi realizado a coleta de 10 ml de sangue através da punção venosa em membro superior, respeitando a assepsia e a técnica adequada. Para o transporte, as amostras foram colocadas em um tubo com heparina de 8,5ml e mantido sob refrigeração (T: 2-8°C) até a chegada ao laboratório.

#### **4.4 Diagnóstico de CHIKV**

A avaliação da infecção por CHIKV, assim como, a distinção entre fase aguda e crônica em PVHA, foi realizado o ensaio imunoenzimático ELISA (ELISA-*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) para IgM e IgG contra CHIKV (*Euroimmun*, Alemanha), seguindo instruções do fabricante<sup>46</sup>.

#### **4.5 Manutenção da cultura celular**

As células da Vero utilizadas no ensaio são derivadas do rim do macaco verde africano. As células foram cultivadas a 37°C a 5% de CO<sub>2</sub>, em *Dulbecco Modified Eagle Medium* (DMEM-Gibco®) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e antibióticos penicilina e estreptomicina (P.S.) a 1%<sup>47</sup>.

As células Vero foram plaqueadas em placas de 24 poços, no volume final de 0,5 ml/poço, na concentração de 2,0 x 10<sup>5</sup> células/ml. Em seguida, as placas foram incubadas *overnight* em 37°C a 5% de CO<sub>2</sub><sup>47</sup>.

#### **4.6 Titulação do vírus da Chikungunya**

A titulação viral se deu por ensaio de formação de placa (PFU – *plaque forming unit*), em que uma placa de 24 poços foi plaqueada com células Vero, após a formação do tapete celular foi realizado a infecção. Esta foi realizada em triplicatas, a partir de diluições decimais utilizando meio DMEM contendo 1% de PS. Em sete tubos foram acrescentados 900µL de meio e 100 µL de vírus no primeiro ponto. Com isso, foi realizada a diluição seriada passando 100 µL para os demais tubos, sendo esta a diluição decimal. No poço controle foi utilizado meio<sup>48</sup>.

A adsorção viral ocorreu em 1h a 37°C na estufa e após esse tempo a solução de agarose a 0,3% foi adicionado, juntamente, com o meio DMEM e incubado na estufa. Após 36 horas as células foram fixadas com formaldeído a 10% e coradas com *Naphthol Blue Black* a 2%. Cada placa de lise corresponde a uma partícula viral e elas são contadas a partir da diluição no volume de 1 mL, determinando as unidades formadoras de plaque (PFU/mL)<sup>48</sup>.

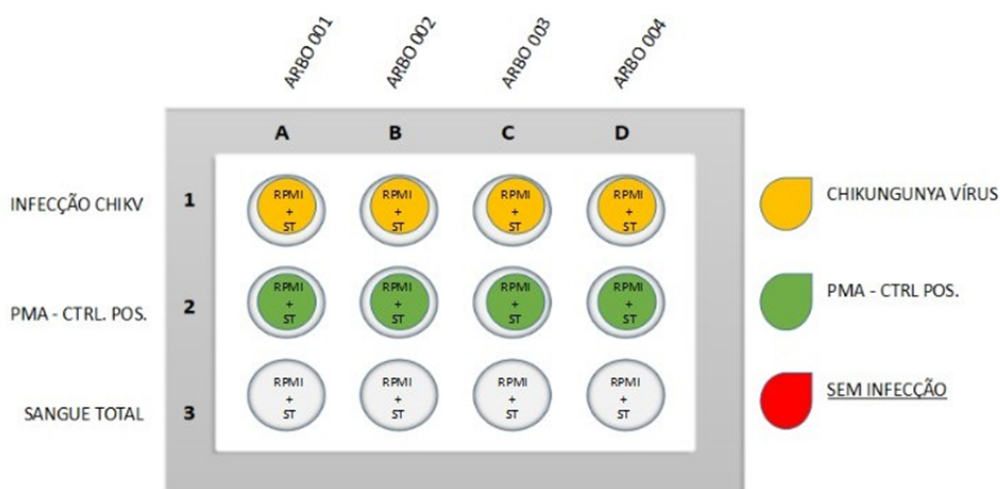


## 4.7 Infecção viral

Em uma placa de cultivo celular com 06 poços, foram pipetados 1000 $\mu$ L do meio de cultura RPMI em todos os poços que já contém 1000 $\mu$ l de sangue total. A infecção do CHIKV com 4  $\mu$ L no primeiro poço, enquanto no segundo poço da placa, o controle será preparado pipetando 20ul da solução com PMA diluído (controle positivo) no segundo poço de cada paciente. Por fim, o terceiro poço de cada paciente permaneceu sem infecção e sem controle positivo. Todos os passos estão demonstrados na figura esquemática 01<sup>49</sup>.

As placas foram incubadas e levadas à estufa de CO<sub>2</sub> por 48 horas. Retirado e centrifugado na microcentrifuga à 1500rpm, a 4°C por 10 minutos. Após a centrifugação, todo sobrenadante de cada microtubo foi pipetado para novos criotubos, congelados imediatamente e o restante do sobrenadante, descartado.<sup>49</sup>

**Figura esquemática 01** – Poço de 21 placas demonstrando a disposição sorológica utilizada.



Fonte: própria autora.

Após a retirada do sobrenadante, devemos dividir o conteúdo celular em dois novos criotubos que foram identificados com DMSO e APL (Tampão de lise celular - QIAGEN). O microtubo com células-DMSO, recebeu 1ml do meio de cultura para células em seguida congelado à -80°C. Enquanto o microtubo com células-APL, recebeu 200uL de APL e incubado por 5 min em temperatura ambiente, em seguida congelado à -80°C<sup>49</sup>.

## 4.8 LUMINEX®

O Luminex® utilizou para codificar, através de cores, microesferas com dois corantes fluorescentes, com o objetivo de quantificar as citocinas inflamatórias, quimiocinas e biomarcadores. Foi utilizado o kit *Human Soluble Cytokine Receptor Magnetic Bead Panel*<sup>50</sup> e *Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel* (MERCK)<sup>51</sup>.

As amostras de soro foram inativadas, purificadas e diluídas na proporção 1: 100 no Tampão de Ensaio. Já as amostras de plasma, foram coletadas utilizando o EDTA como anticoagulante, purificadas e diluídas na mesma proporção e diluente que as amostras de soro<sup>50,51</sup>.

#### **4.9 Imunoensaio**

Os reagentes foram mantidos em temperatura ambiente até que atingissem o marco de 20-25°C, então, 200 µL de tampão de lavagem foram adicionados e selados a cada poço da placa, para posteriormente remover a quantidade residual do poço. Depois foi adicionado 25 µL de amostra (junto com 25µL do Tampão de Ensaio) e controles nos poços, sendo adicionado 25 µL da solução de matriz apropriada aos padrões e controle<sup>50,51</sup>.

As amostras de soro/ plasma foram adicionadas nos poços apropriados, tendo as placas embrulhadas com papel alumínio e incubadas após serem levadas ao agitador durante a noite (16-18 horas), já que melhora a sensibilidade do ensaio, 4°C ou 2 horas à temperatura ambiente (20-25°C). Esse procedimento foi repetido após a lavagem de placa e adição dos anticorpos de detecção e Estreptavidina-Ficoeritrina<sup>50,51</sup>.

O fluido invólucro foi adicionado a todos os poços para que a placa fosse executada no Luminex® 200™.

#### **4.10 Análise de dados**

Os dados deste estudo foram apresentados em tabelas e gráficos utilizando, respectivamente, Excel 2016 e *Graph Pad Prism* 10.03.

Variáveis contínuas de distribuição normal (idade e marcador de CD4<sup>+</sup>) foram descritas por meio da média. Já as variáveis categóricas foram expressas como porcentagem.

Para comparar variáveis categóricas em dois grupos independentes, o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) foi utilizado. O resultado foi considerado estatisticamente significativo se valor de  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Características sociodemográficas

A Tabela 1 é referente à caracterização sociodemográfica e comparação entre os grupos de indivíduos infectados por HIV-1 com sorologia positiva ou negativa para IgG anti-CHIKV. Dos 634 indivíduos avaliados (109 HIV<sup>+</sup>/CHIKV<sup>+</sup>, 525 HIV<sup>+</sup>/CHIKV<sup>-</sup>), 366 eram do sexo masculino (58,2%) e 439 se declaravam heterossexuais (69,9%). Em relação à cor da pele, a maioria, 309 pessoas, se declarou parda (49,2%), sendo a cor da pele preta a segunda mais prevalente (38,7%). Já a análise do estado civil, revelou que a maioria dos participantes eram solteiros (50,4%) seguido de pessoas casadas e em união estável (20,7% e 18,4%, respectivamente). Com relação à religião, a maioria afirmou ser praticante da religião católica (39,3%). Por fim, com relação à escolaridade, observa-se que a maioria, 202 participantes (32,8%), possui ensino médio completo.

Com relação aos dados clínicos, observa-se que grande parte dos participantes fazem o uso de TARV, representando 92,1% do total. Na avaliação estatística das variáveis, não houve diferença significativa, evidenciando que o pareamento dos dois grupos foi feito de forma adequada.

**Tabela 01** - Dados sociodemográficos de indivíduos infectados por HIV e indivíduos infectados por HIV coinfectados por CHIKV em Feira de Santana, na BA, em 2018.

	<b>IgG anti-CHIKV</b>				Teste X <sup>2</sup> p-valor
	Positivo (n=109)		Negativo (n=525)		
	Total	(%)	Total	(%)	
<b>Sexo</b>					
Masculino	63/107	58,9	303/522	58,0	p = 0,914
Feminino	44/107	41,1	219/522	42,0	

<b>IgG anti-CHIKV (continuação)</b>					
	Positivo (N=109)		Negativo (N=525)		Teste X <sup>2</sup> p-valor
	Total	(%)	Total	(%)	
<b>Orientação sexual</b>					
Bissexual	11/107	10,2	26/521	5,1	p < 0,001
Heterossexual	75/107	70,1	364/521	69,2	
Homossexual	19/107	17,8	131/521	25,7	
Transexual	5/107	1,9	0/521	0	
<b>Cor da pele</b>					
Branca	12/107	11,2	64/521	12,3	p = 0,952
Parda	53/107	49,5	256/521	49,1	
Preta	42/107	39,3	201/521	38,6	
<b>Escolaridade</b>					
Analfabeto	3/107	2,8	16/519	3,0	p = 0,508
<sup>1</sup> Ens. Fund. Incom.	36/107	33,6	123/519	23,8	
<sup>2</sup> Ens. Fund. Compl.	8/107	7,5	40/519	7,3	
<sup>3</sup> Ens. Méd. Incom.	7/107	6,5	41/519	8,1	
<sup>4</sup> Ens. Méd. Compl.	33/107	30,8	169/519	32,7	
<sup>5</sup> Ens. Sup. Incom.	8/107	7,5	51/519	9,9	
<sup>6</sup> Ens. Sup. Compl.	12/107	11,2	79/519	15,2	
<b>Estado Civil</b>					
Casado	21/107	19,7	109/522	20,7	p = 0,911
União estável	20/107	17,8	96/522	18,6	
Divorciado	4/107	2,6	30/522	6,1	
Solteiro	57/107	55,6	260/522	49,3	
Viúvo	5/107	4,3	27/522	5,3	
<b>Religião</b>					
Candomblé	5/107	4,7	16/522	2,9	p = 0,944
Católico	39/107	36,4	208/522	40,3	
Espiritismo	2/107	1,9	9/522	1,8	
Protestante	30/107	28,0	148/522	28,4	
Sem religião	29/107	27,1	134/522	25,2	
Outras	2/107	1,9	7/522	1,4	

IgG anti-CHIKV (continuação)					
	Positivo (n=109)		Negativo (n=525)		Teste X <sup>2</sup>
	Total	(%)	Total	(%)	p-valor
<b>Uso de TARV</b>					
Sim	99/106	93,4	468/510	91,8	p = 0,695
Não	7/106	6,6	42/510	8,2	

Fonte: Própria autora.

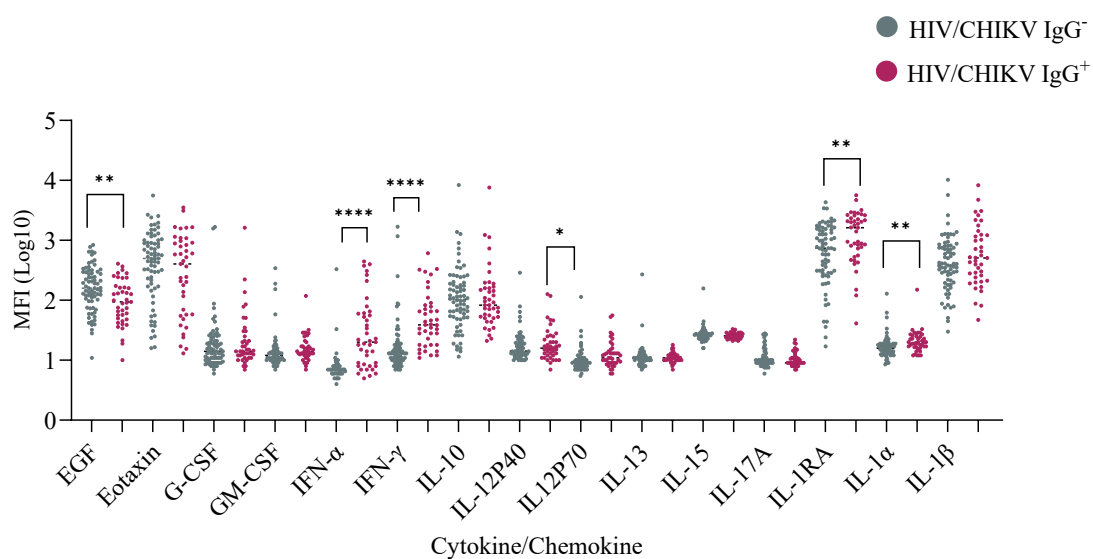
<sup>1</sup>Ensino Fundamental Incompleto; <sup>2</sup>Ensino Fundamental Completo; <sup>3</sup>Ensino Médio Incompleto;

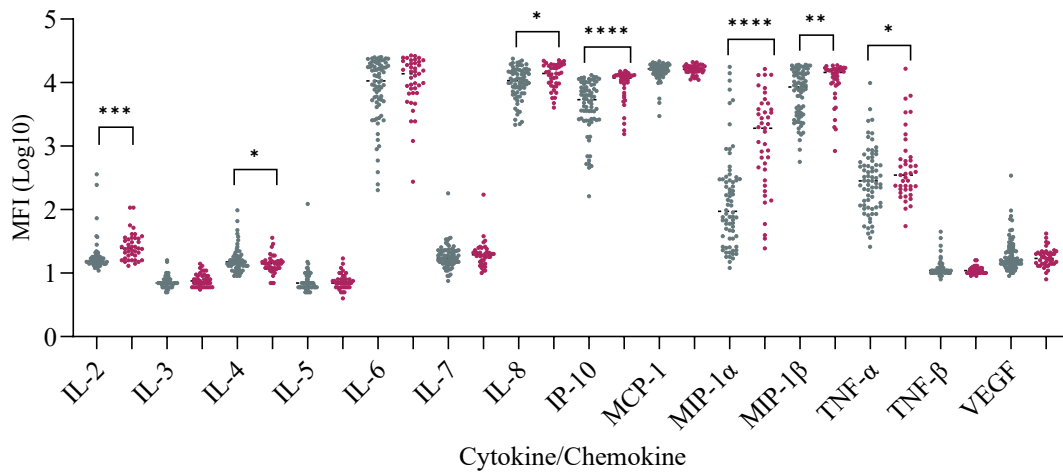
<sup>4</sup>Ensino Médio Completo; <sup>5</sup>Ensino Superior Incompleto; <sup>6</sup>Ensino Superior Completo.

## 5.2 Avaliação da resposta imune celular adaptativa.

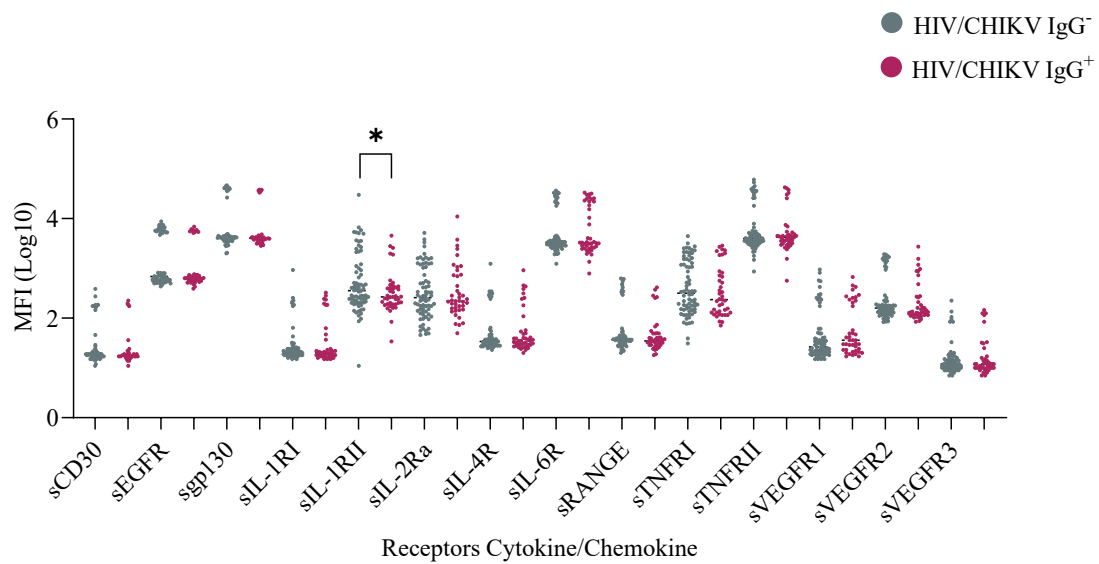
Foi encontrado uma associação significativa entre as seguintes citocinas e quimiocinas: EGF, IFN- $\gamma$ , IFN $\alpha$ , IL-12, IL-1RA, IL-1A, IL-2, IL-4, IL-8, IP-10, MIP-1A, MIP1 $\beta$ , TNF-A como demonstrado na Figura 01. Em relação aos receptores (Figura 02), o único que possuiu uma diferença significativa foi a forma solúvel do receptor de IL-1 tipo II (sIL-1RII).

**Figura 01** - Análise quantitativa de citocinas e quimiocinas obtidas do cultivo celular do sangue total de PVHA estimulado com o CHIKV *in vitro*.





Fonte: Própria autora.



**Figura 02** - Análise quantitativa de receptores solúveis de citocinas obtidas do cultivo celular do sangue total de PVHA estimulado com o CHIKV *in vitro*.

Fonte: Própria autora.

## 6 DISCUSSÃO

Esse trabalho é uma linha de pesquisa referente ao projeto intitulado “*Seroepidemiology of chikungunya virus infection in people living with HIV/AIDS*” o qual foi o primeiro estudo sobre a seroepidemiologia do CHIKV em PVHA no Brasil e o maior estudo nesta população do mundo, até o momento. Foi demonstrado que 17% das PVHA foram expostas ao CHIKV, percentual semelhante ao inquérito sorológico realizado em 2017, que constatou que 20% da população estava exposta ao CHIKV. Apesar do valor ser proporcionalmente semelhante em relação população geral, é importante analisar esses indivíduos com maior cautela, já que, a resposta imunológica pode estar alterada pela infecção do HIV.

Mudanças ambientais e altas taxas de mobilidade da população, nas últimas décadas, têm levado à introdução sucessiva de doenças infecciosas transmitidas por vetores, como o CHIKV, que chegou ao Brasil em 2014 e causou surtos persistentes. No entanto, ao contrário dos vírus da Dengue e Zika, o CHIKV resulta em uma condição clínica mais debilitante, com sequelas crônicas graves, mas recebe menos atenção da saúde pública. A subestimação das mortes associadas ao CHIKV na América do Sul entre 2013 e 2019 destaca a necessidade urgente de entender melhor como esse vírus responde às pressões da sociedade e de investigar suas causas e efeitos.<sup>52,53</sup> A utilização da TARV como medicação para controle da evolução da doença em PVHA, favoreceu para a mudança de cenário da morbimortalidade, através dos seus mecanismos para impedir a replicação viral. Entretanto, esses indivíduos permanecem com o vírus ativo em seu organismo, o que colabora para uma imunossenescência precoce do sistema imune e abre brecha para novas infecções<sup>31</sup>.

Compreendendo os objetivos do estudo, foi identificado que, no contexto da infecção pelo CHIKV, há um aumento na produção e secreção da forma solúvel do receptor da sIL-1RII, que possui uma ação anti-inflamatória, estando relacionado, dessa forma, à proteção da destruição óssea e cartilaginosa e da dor por inibirem a ação de IL-1<sup>54</sup>. Além disso, nota-se um aumento de IL-12 e consequente ativação de células Natural Killer inatas durante a fase aguda, que, por sua vez, irá produzir citocinas como IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , além de fornecer, também,



IL-12<sup>55</sup>. Conforme a infecção progride, ocorre uma mudança do perfil das TCD4<sup>+</sup> para Th2, com aumento da expressão de IL-4 e eotaxina, e um aumento exacerbado de várias citocinas associado a uma carga viral mais alta e manifestações clínicas mais graves. Além disso, também ocorre uma elevação de citocinas como: IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12, IL-18, IL-18R, que são correlacionados, especificamente, a uma maior carga viral, persistência do vírus em tecidos e manifestações clínicas mais severas<sup>56</sup>. Esses achados sugerem uma correlação entre os perfis de resposta imunológica e o desenvolvimento da infecção, desenvolvidos por pacientes infectados, da mesma forma que observado no estudo em questão.

Resultados semelhantes foram encontrados por de Moraes L et. al.<sup>57</sup> em um estudo no qual foi investigado a soroprevalência de *Leishmania infantum* em PVHA sem TARV, no estado da Bahia, para identificar fatores virológicos e imunológicos associados à coinfeção. Como descoberta, foi relatado uma alta soroprevalência nesses indivíduos associada a um estado mais intensificado de ativação imunológica em comparação com indivíduos monoinfectados pelo HIV.

Esse perfil de resposta também foi observado por Christensen-Quick A et. al.<sup>58</sup> em seu estudo com o HIV persistente e o CMV. É relatado que durante a infecção pelos dois vírus, de maneira simultânea, o CMV é responsável por alterar o desenvolvimento, o tráfico, a proliferação, a apoptose e o ambiente transcricional das células-alvo do HIV, promovendo um retardo na degradação dos seus reservatórios em pacientes durante a TARV. Dessa forma, a atuação sinérgica dos vírus no organismo humano favorece para uma ativação imunológica eficiente, devido a redução da degradação celular das TCD4<sup>+</sup> pelo HIV.

Contudo, o modo de investigação para produção dessas citocinas ainda é incerto e inespecífico. Como pontuado acima, observa-se um padrão de resposta imunológica contra o CHIKV esperado, mesmo com uma imunodeficiência de células TCD4<sup>+</sup> provocada pelo HIV, mas essa cadeia de resposta pode estar sendo coordenada pelas NK, que também participam da secreção de citocinas como IFN- $\gamma$  e IFN- $\alpha$ , TNF e interleucinas (IL-12), que participam da resposta imune e podem, ainda, influenciar na polarização das células T para seus perfis

específicos<sup>59</sup>, o que implica a necessidade de mais estudos para compreender de maneira mais assertiva quais mecanismos estão realmente envolvidos nessa resposta imune.

Esse trabalho traz uma preocupação social relevante e multidimensional, especialmente para a população já vulnerável devido à imunossupressão associada ao HIV/AIDS, visto que a infecção pelo CHIKV representa uma ameaça adicional à saúde. A capacidade do sistema imunológico das PVHA de montar uma resposta eficaz contra o CHIKV é fundamental para evitar complicações graves dessa infecção. Portanto, entender como a resposta imunológica desses indivíduos é afetada pela coinfeção e como isso pode impactar seu bem-estar é uma questão crucial, sendo necessário ampliar estudos em torno do tema para expandir variáveis e dúvidas acerca do projeto. Além disso, essa avaliação também tem implicações na saúde pública, uma vez que pode orientar estratégias de prevenção e tratamento específicas para as PVHA, contribuindo para a proteção da comunidade como um todo contra doenças emergentes como a Chikungunya.

## 7 CONCLUSÃO

Os indivíduos soropositivos com sorologia IgG anti CHIKV conseguem desencadear a produção de citocinas e quimiocinas, atenuando os sintomas de artralgia, através da produção do sIL1-RII. Esses agentes irão atuar como mediadores da comunicação intercelular, regulando a resposta imunológica celular adaptativa, por meio da maturação, proliferação e diferenciação de diferentes células do sistema imunológico, realizando assim, uma resposta imunocompetente contra o CHIKV.

Além disso, sexo masculino e o estado civil “solteiro” se revelaram como possíveis fatores de risco, já as populações preta e parda mostraram-se associadas ao baixo nível escolar, em comparação com a população branca participante do estudo. Diante disso, a escolaridade também pode ser considerada um perigo, visto que a grande maioria do abandono escolar poderia estar relacionado com a falta de informação acerca dos métodos de prevenção tanto contra o HIV quanto às arboviroses.

## REFERÊNCIAS

1. Jaimipak; Thitigun, Yoksan; Sutee, Ubol; Sukathida, Pulmanusahakul; Rojjanaporn. Small plaque size variant of chikungunya primary isolate showed reduced virulence in mice. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2018;36.
2. Oliveira; Ana-Carolina, Gomes-Neto; João Francisco, Barbosa; Carlos-Henrique Dantas, Granato; Alessandra, Reis; Bernardo S, Santos; Bruno Maia, et al. Crucial role for T cell-intrinsic IL-18R-MyD88 signaling in cognate immune response to intracellular parasite infection. *Elife*. 2017;6.
3. Pimentel GS, Ceccato M das GB, Costa J de O, Mendes JC, Bonolo P de F, Silveira MR. Qualidade de vida em indivíduos iniciando a terapia antirretroviral: um estudo de coorte. *Rev Saude Publica*. 2020 Dec 12;54:146.
4. Pantaleo; Giuseppe, Graziosi; Cecilia, Demarest; James F., Butini; Luca, Montroni; Maria, Fox; Cecil H., et al. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature*. 1993;362.
5. Ministério da saúde. Estatísticas. <https://un aids.org.br/estatisticas/>. 2022.
6. Marques CDL, Duarte ALBP, Ranzolin A, Dantas AT, Cavalcanti NG, Gonçalves RSG, et al. Recommendations of the Brazilian Society of Rheumatology for diagnosis and treatment of Chikungunya fever. Part 1 – Diagnosis and special situations. *Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)*. 2017;57:421–37.
7. Rodrigues Faria N, Lourenço J, Marques de Cerqueira E, Maia de Lima M, Pybus O, Carlos Junior Alcantara L. Epidemiology of Chikungunya Virus in Bahia, Brazil, 2014-2015. *PLoS Curr*. 2016 Feb 1;8.
8. Nunes MRT, Faria NR, de Vasconcelos JM, Golding N, Kraemer MU, de Oliveira LF, et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Med*. 2015 Dec 30;13(1):102.
9. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente | Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico 2023. 2023. p. 1–14.

10. Bates I, Fenton C, Gruber J, Lalloo D, Lara AM, Squire SB, et al. Vulnerability to malaria, tuberculosis, and HIV/AIDS infection and disease. Part II: determinants operating at environmental and institutional level. *Lancet Infect Dis*. 2004 Jun;4(6):368–75.
11. UFPEL. Chikungunya [Internet]. [cited 2023 May 11]. Available from: <https://dms.ufpel.edu.br/aedes/doencas.html>
12. Carvalho IP, Khouri R, Moraes LEP, Orge CTDM, Boaventura V, Santos LA. CAPACIDADE DE NEUTRALIZAÇÃO DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS PARA O CHIKUNGUNYA VÍRUS (CHIKV) EM PESSOAS QUE VIVEM COM HIV/AIDS (PVHA). [TCC]. [Salvador]: EBMSP; 2019.
13. Thompson; Corbin G., Gay; Cynthia L., Kashuba; Angela D.M. HIV Persistence in Gut-Associated Lymphoid Tissues: Pharmacological Challenges and Opportunities. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2017;33.
14. Charles Janeway. *Imunobiologia*. 8th ed. 2014.
15. Cruvinel W de M, Mesquita Júnior D, Araújo JAP, Catelan TTT, Souza AWS de, Silva NP da, et al. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Rev Bras Reumatol*. 2010 Aug;50(4):434–47.
16. Moizeis RNC. Avaliação do perfil da resposta imune inata em pacientes infectados pelo vírus Chikungunya. PPGCB - Mestrado em Ciências Biológicas. 2018;
17. Murphy; Kenneth, Janeway; Charles A, Travers; Jr P, Walport; Mark, Shlomchik; Mark J. *Immunobiology, The Immune System in Health and Disease*. 5th ed. 2001.
18. Júnior; Danilo Mesquita, Araújo; Júlio Antônio Pereira, Catelan; Tânia Tieko Takao, Souza; Alexandre Wagner Silva de, Cruvinel; Wilson de Melo, Andrade; Luís Eduardo Coelho, et al. Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. *Sociedade Brasileira de Reumatologia*. 2010;5.

19. CAETANO; J.A. MACHADO. ASPECTOS IMUNOLÓGICOS PERTINENTES DA INFECÇÃO POR HIV. ACTA MÉDICA PORTUGUESA . 1991;4.
20. Das; Kalyan, Martinez; Sergio E, DeStefano; Jeffrey J, Arnold; Eddy. Structure of HIV-1 RT/dsRNA initiation complex prior to nucleotide incorporation. PNAS. 2019;15.
21. Sabin; Caroline A., Lundgren; Jens D. The natural history of HIV infection. National Library of Medicine. 2013;8.
22. Weber; Jonathan. The pathogenesis of HIV-1 infection. Br Med Bull. 2001;58.
23. Amato Neto V, Eduardo Alexandrino Servolo de; Kallas, Esper Georges; Levi, Guido; Carlos, Baldy JL da S, Medeiros RSS de. AIDS na prática médica. Sarvier. 1996;153.
24. Programa Nacional de DST/Aids do Ministério da Saúde. A EPIDEMIA DA AIDS ATRAVÉS DO TEMPO. Fundação Oswaldo Cruz.
25. Barry M, Mulcahy F, Merry C, Gibbons S, Back D. Pharmacokinetics and potential interactions amongst antiretroviral agents used to treat patients with HIV infection. Europe PMC. 1999;36.
26. Lima FF, Lima MG, Ceccato M das GB. Tratamento para o HIV: a importância da Carga Viral. <https://www.farmacia.ufmg.br/pensandonisso/tratamento-para-o-hiv-a-importancia-da-carga-viral/>. 2021.
27. Peçanha; Emerson Poley, Antunes; Octavio A. C., Tanuri; Amilcar. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. Quim Nova. 2002;25.
28. Silva; Penildon. Farmacologia. 6th ed. 2010.
29. Vinay Kumar, Abul Abbas, Jon Aster. Bases Patológicas das Doenças. 7th ed. 2005.
30. Zenaide Neto Aguiar, Maria Celeste Soares Ribeiro. Vigilância e Controle das Doenças Transmissíveis. 2009.

31. Cunico; Wilson, Gomes; Claudia R. B., Junior; Walcimar T. Vellasco. HIV – recentes avanços na pesquisa de fármacos. *Quim Nova* . 2008;31.
32. Ministério da Saúde; Departamento de DST A e HV. Medicamentos Anti-HIV. <http://giv.org.br/HIV-e-AIDS/Medicamentos/index.html>.
33. Souza J de, Storpirtis S. Atividade anti-retroviral e propriedades farmacocinéticas da associação entre lamivudina e zidovudina. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2004 Mar;40(1):9–19.
34. AOKI FY, CURTIS MJ, SUTTER MC, WALKER MJA, HOFFMAN BB. Infecções virais. *Farmacologia Integrada*. 1999;
35. ZHOU XL, SOMMADOSSI JP. Rapid quantitation of (-)-2'-deoxy-3'-thiacytidine in human serum by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr B*. 691;691.
36. HAVLIR D v., LANGE JMA. New antivirals and new combintions. *AIDS*. 1998;12.
37. Singh KP, Crane M, Audsley J, Avihingsanon A, Sasadeusz J, Lewin SR. HIV-hepatitis B virus coinfection. *AIDS*. 2017 Sep 24;31(15):2035–52.
38. Grupo de incentivo à vida. Tratamento Contra o HIV [Internet]. [cited 2023 May 10]. Available from: <http://giv.org.br/HIV-e-AIDS/Tratamento-Contra-o-HIV/index.html>
39. Lacey CJN. HPV vaccination in HIV infection. *Papillomavirus Research*. 2019 Dec;8:100174.
40. Ministério da saúde. Guia de vigilância em saúde. Vol Único [Internet]. 2017 [cited 2023 May 7];(2). Available from: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_volume\\_2.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_volume_2.pdf)
41. Silva JLG, Rezer JFP, Barcellos CF, Battist V. PREVALÊNCIA DE CO-INFECÇÕES EM PACIENTES HIV/AIDS NA REGIÃO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL. Rio Grande do Sul;

42. Canini SRM da S, Reis RB dos, Pereira LA, Gir E, Pelá NTR. Qualidade de vida de indivíduos com HIV/AIDS: uma revisão de literatura. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2004 Dec;12(6):940–5.
43. Christensen-Quick A, Vanpouille C, Lisco A, Gianella S. Cytomegalovirus and HIV Persistence: Pouring Gas on the Fire. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2017 Nov;33(S1):S23–30.
44. Silva LA, Dermody TS. Chikungunya virus: epidemiology, replication, disease mechanisms, and prospective intervention strategies. *Journal of Clinical Investigation*. 2017 Mar 1;127(3):737–49.
45. Curlier E, Fagour L, Herrmann-Storck C, Staelen A, Vingadassalom I, Breurec S, et al. Seroprevalence of chikungunya virus infection among HIV-infected adults in French Caribbean Islands of Martinique and Guadeloupe in 2015: A cross-sectional study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021 Apr;15(4):e0009267.
46. UFRGS. Teste de ELISA [Internet]. [cited 2023 May 7]. Available from: <https://www.ufrgs.br/labvir/material/aulap10.pdf>
47. Laboratório de Enfermidades Infecciosas Transmitidas por Vetores (LEITV). PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - Manutenção de célula Vero. Salvador;
48. Laboratório de Enfermidades Infecciosas Transmitidas por Vetores (LEITV). PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - Titulação Viral. Salvador;
49. Laboratório de Enfermidades Infecciosas Transmitidas por Vetores (LEITV). PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - Expansão viral. Salvador ;
50. Merckgroup. MILLIPLEX MAP Human Soluble Cytokine Receptor Panel, HSCRMAG-32K- Immunology Multiplex Assay SDS [Internet]. 2015 [cited 2023 May 10]. Available from: [https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/MILLIPLEX-MAP-Human-Soluble-Cytokine-Receptor-Panel-HSCRMAG-32K-Immunology-Multiplex-Assay,MM\\_NF-HSCRMAG32KPX14](https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/MILLIPLEX-MAP-Human-Soluble-Cytokine-Receptor-Panel-HSCRMAG-32K-Immunology-Multiplex-Assay,MM_NF-HSCRMAG32KPX14)



51. Merckgroup. Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel. 2017.
52. Lima-Camara TN. Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. *Rev Saude Publica*. 2016;50(0).
53. Honório NA, Câmara DCP, Calvet GA, Brasil P. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. *Cad Saude Publica*. 2015 May;31(5):906–8.
54. Rodrigues AA, Hellíada S, Chaves V, Bezerra MM, De Lima V. PROCESSOS INFLAMATÓRIOS DO SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO.
55. Tanabe ISB, Tanabe ELL, Santos EC, Martins W V., Araújo IMTC, Cavalcante MCA, et al. Cellular and Molecular Immune Response to Chikungunya Virus Infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018 Oct 10;8.
56. Moizeis RNC. Avaliação do perfil da resposta imune inata em pacientes infectados pelo vírus Chikungunya. UFRN. 2018;
57. de Moraes L, Santos LA, Arruda LB, Silva M da PP da, Silva M de O, Silva JAG, et al. High seroprevalence of *Leishmania infantum* is linked to immune activation in people with HIV: a two-stage cross-sectional study in Bahia, Brazil. *Front Microbiol*. 2023;14.
58. Christensen-Quick A, Vanpouille C, Lisco A, Gianella S. Cytomegalovirus and HIV Persistence: Pouring Gas on the Fire. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2017 Nov;33(S1):S-23-S-30.
59. Machado PRL, Araújo MIAS, Carvalho L, Carvalho EM. Mecanismos de resposta imune às infecções. *An Bras Dermatol*. 2004 Dec;79(6):647–62.

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde



Você está sendo convidado a participar deste estudo intitulado: **Avaliação do impacto da infecção por HIV na apresentação clínica da doença causada pela infecção por Chikungunya** que tem como objetivo compreender os impactos da infecção pelo HIV na apresentação aguda e na progressão para fase tardia da doença causada pelo vírus Chikungunya (CHIKV). A realização desta pesquisa se justifica, pois ainda não existe nenhum estudo que buscase compreender como a infecção entre o CHIKV e o HIV pode alterar a forma como a doença causada pelo CHIKV aparece e como ela evolui.

Se o(a) senhor(a) aceitar participar deste estudo, iremos realizar a coleta de uma amostra de 10 ml de sangue venoso que utilizaremos para realização de exames laboratoriais que irão comprovar ou descartar se o(a) senhor(a) foi infectado pelo CHIKV. Realizaremos ainda sorologia para outros arbovírus, como o da Dengue, Zica, Febre Amarela e Oeste do Nilo. As amostras ficarão sob responsabilidade no Laboratório de Enfermidades Infecciosas Transmitidas por Vetores (LEITV) da FIOCRUZ para realização de estudos com células através de testes imunológicos, que fará parte da segunda etapa deste estudo, ao final deste estudo iremos realizar o descarte do material respeitando as normas de biossegurança. Você responderá ainda a um questionário, algumas escalas e colheremos alguns dados do seu prontuário com objetivo de avaliar o seu contexto clínico. Alguns participantes serão selecionados para realização de exame físico detalhado com objetivo de avaliar alterações do sistema nervoso e articular e alguns marcadores séricos poderão ser analisados. Os dados obtidos com este estudo serão tratados como confidenciais e divulgados na forma de comunicação científica, não permitindo a sua identificação individual.

Os riscos que o(a) senhor(a) será submetido são aqueles associados ao processo de coleta de sangue, que incluem pequeno hematoma no local da coleta ou algum mal-estar, caso presente, será acolhido e se necessário será encaminhado para um serviço de saúde do Sistema Único de Saúde (SUS). Esse estudo terá como benefício principal a compreensão dos impactos da infecção entre o CHIKV e o HIV, gerando dados que poderão contribuir para uma assistência em saúde mais adequada a essa população.

Ressalto que o senhor poderá em qualquer momento, antes, durante ou após a sua participação neste estudo solicitar esclarecimentos sobre qualquer ponto que tiver dúvida.

Será garantido ao senhor(a) o (s) resultado (s) do (s) exame (s), o qual estará disponível no Centro de Referência Municipal (CRM) DST/HIV/Aids de Feira de Santana para que possam auxiliar no diagnóstico e tratamento, bem como a garantia do encaminhamento para outras especialidades e serviços do SUS que forem necessários para a sua assistência.

A sua participação neste estudo é voluntária e não remunerada já que este estudo não gerará nenhum tipo de custo para o(a) senhor(a), sendo realizado dentro da rotina do serviço do qual segue tratamento clínico. Caso o(a) senhor(a) não queira participar, não haverá qualquer prejuízo no seu acompanhamento ou tratamento. Se o(a) senhor(a)

apresentar algum prejuízo relacionado a este estudo, receberá indenização ou ressarcimento, conforme estabelece a Resolução 466/2012.

Caso tenha alguma dúvida, o(a) senhor(a) poderá entrar em contato com a Dra. Viviane Sampaio Boaventura ou com Raphael de Souza Borges através do telefone (71) 3176-2351 ou pelo endereço: Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal, CEP: 40.296-710, Salvador-Bahia, ou pelo endereço eletrônico [viviane.boaventura@bahia.fiocruz.br](mailto:viviane.boaventura@bahia.fiocruz.br) ou [raphaels.borges@hotmail.com](mailto:raphaels.borges@hotmail.com).

Se o(a) senhor(a) quiser fazer alguma denúncia ou reclamação que envolva aspectos éticos referentes a este estudo, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia, através do telefone: (71) 3283-5564 ou pelo endereço: Largo do Terreiro de Jesus, s/n, Centro Histórico, CEP 40.026-010, Salvador-Bahia ou ainda através do e-mail: [cepfmb@ufba.br](mailto:cepfmb@ufba.br).

#### **Ciência e de acordo do participante**

Ciente e de acordo com o que fui anteriormente exposto pelo (a) pesquisador (a), eu \_\_\_\_\_, estou de acordo em participar desta pesquisa, assinando este termo de consentimento em duas vias, ficando com a posse de uma delas.

Feira de Santana (BA), \_\_ / \_\_ / \_\_



Impressão

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante de pesquisa ou representante legal dactiloscópica.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pelo projeto

\_\_\_\_\_  
Assinatura da testemunha

**0 APÊNDICE B – ROTEIRO PARA COLETA DE DADOS**

**Identificação (iniciais):**

**Registro (número):**

**Sexo:** Feminino ( ) e Masculino ( )

**Orientação sexual:** Bissexual ( ), Heterossexual ( ), Homossexual ( ),  
Transsexual ( )

**Cor da pele:** Branca ( ), Parda ( ), Preta ( )

**Escolaridade:** Analfabeto ( ), Ens. Fund. Incompl. ( ), Ens. Fund. Compl. ( ),  
Ens. Méd. Incompl. ( ), Ens. Méd Compl. ( ), Ens. Sup Incompl. ( ), Ens.  
Sup Compl. ( ).

**Estado civil:** Casado ( ), União estável ( ), Divorciado ( ), Solteiro ( ),  
Viúvo ( ).

**Religião:** Candomblé ( ), Católico ( ), Outras ( ), Protestante ( ), Sem  
religião ( ).

**Uso de TARV:** Sim ( ), Não ( ).