



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIAGNÓSTICO
GENÉTICO E MOLECULAR

Análise de marcadores laboratoriais utilizados no
diagnóstico do vírus da hepatite C (HCV) em
pacientes hemodialisados de Porto Alegre - RS

André Costa de Souza Buriol

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Diagnóstico
Genético e Molecular da
Universidade Luterana do
Brasil para obtenção do Grau de
Mestre em Diagnóstico
Genético e Molecular

Orientador: Prof. Dr. Vagner Ricardo Lunge

CANOAS

Março, 2007

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, pelo amparo e compreensão durante o desenvolver deste trabalho.

Agradeço em especial à minha namorada por todo esforço, amor e determinação que me passou.

Ao meu orientador, Dr. Vagner Ricardo Lunge, pela paciência e dedicação prestada na realização da pesquisa e ao Dr. Bruno Galperim por dar incentivo e grande respaldo para que este fosse desenvolvido.

Enfim, a todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram, na forma de incentivo ou trabalho, para a realização do mesmo.

INDICE

| | |
|---|----|
| RESUMO | 04 |
| ABSTRACT | 05 |
| CAPÍTULO 1 | |
| INTRODUÇÃO | 06 |
| 1 Insuficiência Renal Crônica e Hemodiálise | 06 |
| 2 Hepatite C | 07 |
| 2.1 Virologia | 07 |
| 2.2 Transmissão e Grupos de Risco | 09 |
| 2.3 Epidemiologia..... | 11 |
| 2.4 História Natural da Hepatite C..... | 17 |
| 2.5 Diagnóstico..... | 19 |
| 2.5.1 Clínico | 19 |
| 2.5.2 Laboratorial | 19 |
| 2.5.2.1 Dosagem das Transaminases | 19 |
| 2.5.2.2 Sorológicos | 22 |
| 2.5.2.3 Moleculares..... | 24 |
| 3 Diagnóstico do HCV em unidades de Hemodiálise | 27 |
| JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS..... | 28 |
| CAPÍTULO 2 | |
| ARTIGO CIENTÍFICO: “Determination of the alanine aminotransferase cut-off value to identify Hepatitis C Virus infection in hemodialysis patients ” | 29 |
| CAPÍTULO 3 | |
| DISCUSSÃO | 41 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 45 |
| ANEXOS | 56 |

Resumo

Os pacientes em processo de hemodiálise freqüentemente estão expostos às infecções bacterianas e virais. Entre as infecções virais, as hepatites são as mais freqüentes, sendo que a grande maioria é causada pelo vírus C (HCV, do inglês *Hepatitis C Virus*). O controle do HCV em pacientes de unidades de hemodiálise é realizado pelo monitoramento mensal do marcador bioquímico de lesão hepática (enzima alanina aminotransferase - ALT) e semestral pelo uso de ensaio sorológico mais específico (anti-HCV). O presente estudo teve como objetivo avaliar o uso da ALT para identificação da infecção pelo HCV em comparação com a detecção direta pela técnica RT-PCR (Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction) em pacientes com insuficiência renal crônica. A população alvo foi constituída de 324 pacientes de 4 unidades de hemodiálise de Porto Alegre (Rio Grande do Sul – Brasil). Os resultados encontrados revelaram um total de 107 (33,0%) pacientes anti-HCV positivos, sendo que 66 (20,4%) com HCV RNA positivo. Não foi encontrado nenhum paciente com anti-HCV negativo e HCV RNA positivo. Os valores médios de ALT foram significativamente mais elevados nos pacientes com HCV RNA positivos (42.9 U/L para homens e 36.0 U/L para mulheres) do que HCV RNA negativos (24.6 U/L para homens e 29.0 U/L para mulheres). No entanto, somente 5 pacientes (3 homens e 2 mulheres) do total de 66 pacientes HCV RNA positivos apresentaram valores acima do limite superior da faixa de normalidade estabelecidos pelo fabricante do teste de ALT utilizado (72 U/L para homens e 52 U/L para mulheres), demonstrando uma sensibilidade clínica muito baixa deste teste (7,3% para homens e 8,0% para mulheres). A redução gradativa do limite superior da faixa de normalidade representou ganhos significativos de sensibilidade na detecção de pacientes portadores de HCV pelo teste de ALT. Os pontos de corte que permitiram maximizar a sensibilidade e especificidade do teste foram 28.8 U/L para os homens (75,6% de sensibilidade e 78,9% de especificidade) e 26.0 U/L para as mulheres (92,0% de sensibilidade e 69,4% de especificidade). A simples utilização destes valores permitirá um aprimoramento no rastreamento de casos de infecção pelo HCV na população de hemodialisados.

Palavras chave: hemodiálise, hepatite C, alanina aminotransferase, ALT

Abstract

Hemodialysis (HD) patients are frequently exposed to bacterial and viral infections. The most prevalent infections in these patients are viral hepatitis caused by hepatitis virus C (HCV). The HCV control in hemodialysis centers in Brazil is carried through the monthly evaluation of the alanine aminotransferase enzyme (ALT) levels and each semester testing of the anti-HCV. The present study aimed to evaluate the use de marker ALT to identification HCV infection comparison with the detection of HCV RNA by RT-PCR (Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction) in patients with chronic renal insufficiency. A total of 324 hemodialysis patients from 4 units in Porto Alegre (Rio Grande Do Sul - Brazil) were submitted to ALT, anti-HCV and HCV RNA analysis. The results demonstrated a total of 107 (33.0%) anti-HCV positive patients, 66 (20.4%) of them with positive HCV RNA. There was not found any patient with positive HCV-RNA and negative anti-HCV. The mean values of ALT were significantly increased in the positive HCV RNA patients (42.9 IU/L for male and 36.0 IU/L for female patients) in comparison with the negative HCV-RNA ones (24.6 IU/L for male and 29.0 IU/L for female patients). However, only 5 (3 men and 2 women) of the 66 HCV-RNA positive patients presented ALT values upper of the limit of normality established by the manufacturer (72 IU/L for male and 52 IU/L for female patients), demonstrating a very low clinical sensitivity (7.3% and 8.0%, respectively). The gradual reduction of the upper limit of normality value represented a significant increase in the sensitivity of the ALT test. The cut-off value that maximized the sensitivity and specificity of the test was 28.8 U/L for men (75.6% of sensitivity and 78.9% of specificity) and 26.0 U/L for women (92.0% of sensitivity and 69.4% of specificity). The use of these reduced values will allow an improvement for the screening of HCV in hemodialysis centers.

Key words: hemodialysis, Hepatitis C virus, alanine aminotransferase, ALT

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1 Insuficiência Renal Crônica e Hemodiálise

A Insuficiência Renal Crônica (IRC) é a perda progressiva e irreversível da função renal, sendo que o organismo não mantém o equilíbrio metabólico e hidroeletrólítico, fatalmente resultando em uremia (Daugirdas *et al.*, 2003; Marques *et al.*, 2005).

No Registro Americano de todos os pacientes com IRC, a principal causa apontada é o Diabetes Mellitus (DM), seguido pela hipertensão arterial sistêmica (HAS) e as glomerulonefrites (Marques *et al.*, 2005).

Os pacientes que perderam a função dos rins têm diferentes opções de tratamento, que podem ser genericamente classificados em não dialítico (ou conservador) e dialítico (ou de substituição). O tratamento não dialítico envolve restrição dietética e medicação. Por sua vez, o tratamento dialítico consiste de utilização de outros tecidos ou mesmo equipamentos (rins artificiais) para filtrar o sangue pelo processo de diálise, substituindo assim a principal função dos rins (Daugirdas *et al.*, 2003; Marques *et al.*, 2005).

Existem dois principais tipos de diálise: peritoneal e hemodiálise. A diálise peritoneal consiste do aproveitamento da membrana peritoneal (tecido que reveste toda a cavidade abdominal do corpo) para filtrar o sangue. Essa membrana teria uma superfície de dois metros quadrados se fosse totalmente estendida, área de filtração suficiente para cumprir a função renal. A hemodiálise utiliza uma membrana dialisadora artificial formada por um conjunto de tubos finos, chamados de filtros capilares. Na hemodiálise o fluxo do sangue é desviado para passar pelo filtro capilar durante 4 horas (Daugirdas *et al.*, 2003). Segundo o último censo brasileiro referente a pacientes em tratamento dialítico em 2005, constatou-se uma população de 54.311 pacientes em tratamento, sendo que 48.362 (89%) em hemodiálise (Marques *et al.*, 2005).

Os pacientes em processo de hemodiálise freqüentemente estão expostos às infecções bacterianas e virais. Entre as infecções virais, as hepatites são as mais freqüentes, sendo que a grande maioria é causada pelo

vírus C (HCV, do inglês *Hepatitis C Virus*) (Naghettini *et al.*, 1997; Lazzarini *et al.*, 2000; Yen *et al.*, 2003).

2 Hepatite C

A hepatite C é uma doença infecciosa que se tornou um dos grandes problemas de saúde pública por apresentar uma alta morbidade e mortalidade. Segundo a Organização Mundial da Saúde, estima-se que cerca de 3% (170 milhões de pessoas) da população mundial esteja infectada pelo HCV (agente etiológico da doença) (WHO, 2003). Devido ao desenvolvimento da infecção ser usualmente assintomático na fase aguda e assim persistir por vários anos, a prevalência dos infectados em nível mundial é provavelmente subestimada (Strauss, 2001). Entre os infectados, cerca de 80% desenvolvem infecção crônica podendo evoluir para cirrose e/ou hepatocarcinoma (WHO, 2000; Strauss, 2001; Sy & Jamal, 2006).

A descoberta do vírus da hepatite C (HCV) em 1989 constituiu um marco na história da virologia. A decodificação do genoma do HCV, a partir de um clone derivado de um paciente infectado por um vírus causador da então denominada hepatite não A não B, facilitou a compreensão da biologia viral e permitiu o desenvolvimento de todos os testes laboratoriais para detecção, identificação e caracterização deste vírus. Testes sorológicos (como os ensaios imunoenzimáticos de ELISA (do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*) e RIBA (do inglês *recombinant immunoblot assay*) foram elaborados com o uso de antígenos e peptídeos recombinantes ou sintéticos. Testes de biologia molecular de hibridização e amplificação de ácidos nucléicos foram desenvolvidos para as detecções qualitativas e quantitativas dos infectados crônicos pelo HCV. Estes avanços tecnológicos auxiliaram para o melhor entendimento da virologia, epidemiologia, transmissão, diagnóstico e história natural da infecção pelo HCV (Cotter, 2003; Brandão *et al.*, 2001).

2.1 Virologia

Em termos taxonômicos, o HCV é classificado no gênero *Hepacivirus*, família *Flaviviridae*. A estrutura do vírus atualmente é bem conhecida: trata-se de uma partícula esférica com diâmetro aproximado de 50 nm e que possui um

genoma de RNA, um capsídio e o envelope viral (Figura 1) (Conte, 2000; Lyra *et al.*, 2004).

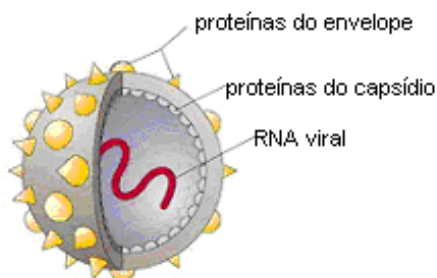


Figura 1. Ilustração da estrutura do vírus da hepatite C (HCV) – adaptado de Strauss, 2001.

O genoma do HCV é constituído de uma molécula de RNA fita simples, de polaridade positiva, com aproximadamente 9.500 nucleotídeos e que codifica para a síntese de uma poliproteína com cerca de 3.000 aminoácidos. Quando clivado, o polipetídeo gera dez proteínas específicas classificadas em: (1) estruturais (*core*, envelope E1, envelope E2 e p7) que constituem o capsídio e o envelope viral, e (2) não estruturais (*non structural* NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) que são responsáveis pela replicação viral (Strauss, 2001; Lyra *et al.*, 2004; Simmonds, 2004). Além dos genes destas proteínas, o genoma do HCV também é constituído por duas regiões não-codificadoras, a região 5'UTR (*Untranslated Region*) de aproximadamente 340 bases e a região 3'UTR de aproximadamente 200 bases. A seqüência nucleotídica da região 5' UTR é a mais conservada do genoma do HCV, apresentando um sítio de iniciação, que controla a tradução da poliproteína viral nos ribossomos (Bukh *et al.*, 1995; Duffy *et al.*, 2002). A extremidade 3' da região não traduzida (3'UTR) apresenta elementos estruturais de RNA essenciais para a replicação viral e a tradução (Hoofnagle, 2002). A mais elevada taxa de mutação é observada nas regiões E1 e E2, sugerindo que estas regiões encontram-se sob pressão seletiva pelo sistema imune do hospedeiro (Bukh *et al.*, 1995; Duffy *et al.*, 2002; Zein, 2000). As funções específicas das proteínas NS não estão completamente elucidadas, tendo sido observadas atividades enzimáticas de helicase e protease na proteína NS3 enquanto que a proteína NS5 contém uma região com atividade de RNA polimerase dependente de RNA, essencial para a replicação viral (Hoofnagle, 2002). Existem ainda dois fragmentos peptídicos menores, p7 e

cofator NS3, ainda sem função definida (Figura 2) (Strauss, 2001; Lyra *et al.*, 2004; Simmonds, 2004).

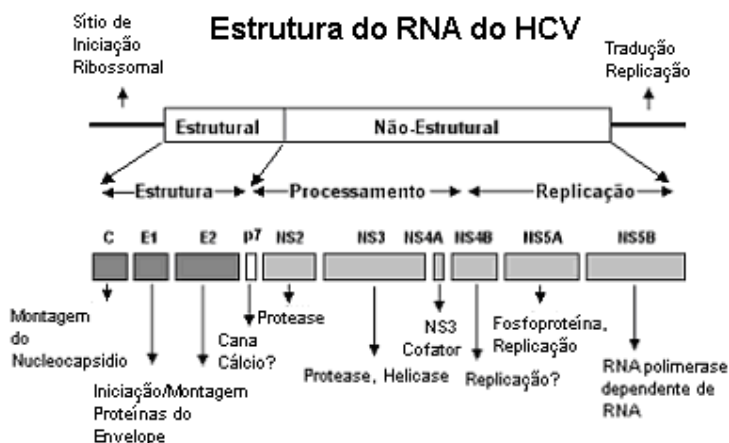


Figura 2. Estrutura do genoma do HCV. As regiões funcionais do genoma são mostradas abaixo da organização do RNA viral. Os 10 polipeptídeos clivados a partir da poliproteína são mostrados, assim como suas prováveis funções. Adaptado de Hoofnagle, 2002.

Devido às diferenças encontradas nas seqüências nucleotídicas dos vírus caracterizados de diversos indivíduos, o HCV é classificado em 6 genótipos principais, identificados pelos números arábicos de 1 a 6. Os genótipos diferem em média entre 30 e 35% na seqüência nucleotídica. Cada genótipo pode ser subdividido em subtipos (mais de 80 já foram identificados), designados por uma letra (a, b, c, etc) após o número. São considerados subtipos do mesmo genótipo aqueles que diferem entre 15 e 20% na seqüência nucleotídica. Existem ainda populações de vírus com pequenas diferenças na sua seqüência genômica (menor que 10%) que são designados *quasispecies*. Esta grande diversidade viral (genótipos, subtipos ou quasispécies) ocorre pelas taxas de erros durante a replicação do vírus. Em um mesmo paciente pode ocorrer um grupo heterogêneo de vírus de mesmo genótipo devido a mutações múltiplas (Strauss, 2001; Lyra *et al.*, 2004; Simmonds, 2004).

2.2 Transmissão e Grupos de Risco

A transmissão do HCV ocorre basicamente pela exposição ao sangue contaminado de um indivíduo portador. Embora a maior parte dos casos de contaminação seja evidente, diversos estudos reportam a transmissão parenteral inaparente por exposição percutânea ou das mucosas ao sangue

contaminado. Outras formas de transmissão nunca foram documentadas, muito embora o RNA do HCV já tenha sido detectado em vários líquidos corporais (saliva, urina, lágrima, fluído seminal e líquido ascítico) (Liou *et al.*, 1992; Henderson, 2003; Ferreira e Silveira, 2004). Devido a forma de contaminação ser basicamente pela exposição ao sangue contaminado, os grupos com maior risco incluem pacientes que recebem transfusão de sangue ou transplante de órgãos, usuários de drogas injetáveis, hemofílicos, hemodialisados e profissionais da área médica (WHO, 2003; Henderson, 2003).

A transmissão do HCV tem sido consistentemente associada com o uso de drogas intravenosas em diversos estudos. Em estudo realizado em Baltimore (Maryland – Estados Unidos) foi demonstrado que 30,3% de usuários eram anti-HCV positivos (Villano *et al.*, 1997). Entre 310 usuários de drogas de duas cidades belgas, 46% e 71% tinham anticorpos anti-HCV (Mathei *et al.*, 2005). Em recente estudo em Londres, com 428 usuários de drogas com idade abaixo dos 30 anos, 44% apresentavam anticorpos anti-HCV (Judd *et al.*, 2005).

A análise retrospectiva das hepatites pós-transfusionais ocorridas nos bancos de sangue mostrou que, em sua grande maioria, foram causadas pelo HCV (Yen *et al.*, 2003). O risco de infecção viral associada à transfusão sangüínea diminuiu drasticamente após o uso sistemático dos testes de HCV em doadores e bolsas de sangue no início da década de 90. No entanto ainda existe um risco maior de contaminação do que na população normal. Em um estudo realizado em Santa Catarina o risco foi estimado em 1:13.721 (Bolsas), bem acima do relatado em outros estudos (Kupek, 2004; Chen e Morgan, 2006). Este risco está provavelmente relacionado com o período da janela imunológica, quando o vírus não é detectado pelos métodos padronizados nos bancos de sangue que são baseados na pesquisa de anticorpos contra o HCV (anti-HCV) (Silva e Rossetti, 2001; Chen e Morgan, 2006).

Os profissionais da saúde apresentam risco ocupacional de infecção pelo HCV. A forma de exposição ocupacional mais freqüente é o acidente de punção com agulha, sendo que o risco de transmissão apresenta relação direta com o tipo e tamanho do inóculo, profundidade da punção e carga viral, com

um risco médio de soro-conversão de 1,8% considerando-se amostras anti-HCV positivas (Beltrami *et al.*, 2000; Henderson, 2003).

Outro grupo com altos índices de portadores de HCV é o de hemofílicos. Neste grupo, muitos indivíduos foram infectados pelo uso de concentrados de fatores de coagulação ou pela transfusão de sangue contaminados. Em estudo realizado na Bahia a soroprevalência relatada foi de 42,2% (Silva *et al.*, 2005).

Os pacientes que sofrem processo de hemodiálise também apresentam uma alta prevalência de HCV. A chance de transmissão deste vírus nesta população aumenta com o número de sessões e período dedicado à hemodiálise, sendo que estudos apontam uma média de 12% de pacientes infectados em tratamento dialítico por menos de 5 anos para 37% de pacientes infectados em tratamento por mais de 5 anos (Lazzarini *et al.*, 2000). A transmissão nosocomial do HCV em hemodialisados ocorre principalmente quando as técnicas de controle de infecções ou processos de desinfecção forem inadequados e os equipamentos sejam compartilhados entre pacientes (CDC, 2001). A realização de testes de genotipagem em populações de hemodialisados tem possibilitado a detecção de casos de transmissão nosocomial de HCV e auxiliado a identificação dos fatores de risco para transmissão deste vírus nas unidades de hemodiálise de diferentes locais do mundo (Pogam *et al.*, 1998; Bracho *et al.*, 2005). A exata causa de transmissão entre pacientes de HD ainda não está esclarecida. No entanto alguns estudos enfatizam que a transmissão ocorre tanto através dos profissionais de saúde das unidades de hemodiálise (médicos, enfermeiros, assistentes) como pelos equipamentos (Mizuno *et al.*, 1998). Um estudo demonstrou a presença de HCV RNA nas mãos de enfermeiras que haviam entrado em contato com pacientes infectados pelo HCV, destacando a possibilidade desta ser a forma de contaminação (Alfurayah *et al.*, 2000). Por outro lado, significativa diminuição na incidência de transmissão do HCV em unidades de HD foi conseguida com a separação de máquinas para infectados pelo HCV e máquinas para não infectados (Saxena *et al.*, 2003; Shamshirsaz *et al.*, 2004).

2.3 Epidemiologia

Aproximadamente 3% da população mundial está infectada pelo HCV, no entanto as prevalências variam quando são comparados continentes, países

e cidades. Estima-se que no continente Africano a prevalência esteja próxima aos 6,3% (Conte, 2000). Nas Américas este valor é menor (em torno de 1,7%) e na Europa aproxima-se de 1% (Bélgica 0,87% e França 1,3%) (Touzet *et al.*, 2000; Pradat *et al.*, 2001; Van Damme *et al.*, 2002). Já no México e Chile, por exemplo, os valores são de 1,2% e 0,3% respectivamente (Munoz *et al.*, 1998; Uribe e Mendez-Sanchez, 2002). Na Austrália, dados indicam uma prevalência de 2,3% (Amin *et al.*, 2004), na Rússia de 1,5%, no Paquistão de 1,8% e no Japão entre 0,4 e 3,3% (Aktar *et al.*, 2004; Ogarkov *et al.*, 2004; Sy e Jamal, 2006). Prevalências mais altas são observadas em alguns locais específicos, sendo um destes, o Egito, onde os valores podem chegar a 28% (Saeed *et al.*, 1991).

A prevalência na população brasileira mostra-se entre 2,5 a 4,9%, de acordo com o informe epidemiológico da Organização Mundial da Saúde de 2003 (WHO, 2003). Porém outros estudos realizados na população em geral e em doadores de sangue relatam resultados inferiores a estes: 1,5% e 1,14% (Vasconcelos *et al.*, 1994; Lyra *et al.*, 2004). Campiotto *et al.* (2005) apresentaram diferentes valores da prevalência nas diversas regiões do Brasil: 0,9% a 2,4% no norte, 1,7% a 3,4% no nordeste, 1,0% a 1,4% no centro-oeste, 0,8% a 2,8% no sudeste, e 1,1% a 2,1% no sul; semelhantes aos citados por Paltanin e Reiche. (2002).

Devido à maior possibilidade de contaminação, a prevalência do HCV em populações de risco (hemodialisados, hemofílicos, usuários de drogas, etc) geralmente está bem acima da população em geral. É o caso dos pacientes que estão sob processo de hemodiálise, que possuem uma maior vulnerabilidade frente aos fatores de risco para aquisição deste tipo de infecção (Moreira *et al.*, 2005). Estudos em unidades de hemodíalises de diferentes locais do mundo mostram prevalências entre 10 e 60%, mas existem relatos de valores acima de 70% em unidades de hemodiálise na Indonésia e Venezuela (Naghattini *et al.*, 1997; Carneiro *et al.*, 2001; Busek *et al.*, 2002; Moreira *et al.*, 2005).

No Brasil, os valores de prevalência observados variam amplamente, sendo encontradas desde unidades sem a presença de infectados pelo HCV até unidades com prevalências superiores a 65% (Santana *et al.*, 2001; Carneiro *et al.*, 2001). Mas em um aspecto todos os estudos são categóricos:

os índices são bem superiores aos encontrados na população em geral. Em um estudo com unidades de hemodiálise de diferentes locais no país, foi demonstrado que no Norte do país a média é de 45,5%, no Centro-Oeste de 30,5%, no Nordeste de 23,8%, no Sudeste de 35,3% e no Sul de 43,6%, com uma média nacional de 38,3% (Ferreira & Silveira, 2004).

Estudos comparando diferentes centros de hemodiálise em uma mesma cidade ou estado do Brasil já foram realizados e são vastamente encontrados na bibliografia. Santana *et al.* (2001) encontraram prevalências variáveis nas unidades de HD (0% a 44,8%) na cidade de Salvador, com uma média de 23,8%. Já Medeiros *et al.* (2004) obtiveram uma média de 52% em Fortaleza, onde esta se apresentou com variação de 6% a 72% entre as 12 unidades analisadas. Naghettini *et al.* (1997) obtiveram resultados de 35,3% na cidade de Goiânia, e Carneiro *et al.* (2001) relataram valor médio de 46,7% (20,7% a 90,4%) também na cidade de Goiânia. A taxa de anti-HCV reagente em unidades de hemodíalises de Porto Alegre oscilam entre 29,8% e 39% (Karoehl *et al.*, 1995; Dotta *et al.*, 2003). Estudo recente, onde foram analisados 1.261 pacientes de 16 unidades de diálise de Porto Alegre, confirmou que o percentual de infectados é próximo ao limite inferior relatado acima, ou seja 29% (Gomes *et al.*, 2006).

Embora a prevalência entre hemodialisados seja maior que na população, esta tem diminuído gradualmente após a década de 90, com o melhor conhecimento da doença e do HCV e da adoção de uma série de medidas para a redução da transmissão do HCV nas unidades de hemodiálise. Normas legais exigiram a implementação de testes de identificação do HCV e procedimentos de biossegurança nos bancos de sangue e unidades de hemodiálise, reduzindo significativamente a transmissão deste vírus no decorrer dos anos (Valtuille *et al.*, 2002; Saxena *et al.*, 2003; Carneiro *et al.*, 2005; Albuquerque *et al.*, 2005). As taxas observadas hoje se apresentam, em geral, inferiores a de anos anteriores. Espinosa *et al.* (2003) mostraram uma diminuição de 24% para 9,2% em estudo realizado em Córdoba (Espanha) no período de 1992 a 2002. Carneiro *et al.* (2005) observaram uma população de hemodialisados na cidade de Goiânia, Goiás, por aproximadamente dez anos. Nesta população foi observada uma diminuição da prevalência de 28,2% em 1993 para 16,5% em 2002. Outras pesquisas demonstram valores de

prevalência próximos à 10% (8,4% em Recife – Pernambuco e 10,5% em Salvador - Bahia), onde a prevalência em anos anteriores foi relatada acima de 20% (Santana *et al.*, 2001; Albuquerque *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2006).

Uma limitação da maioria destes estudos de prevalência refere-se ao fato de avaliarem a prevalência do HCV com base em dados de anti-HCV (ou seja, da resposta imunológica à presença do vírus e não sua detecção direta) e portanto, não correspondem à prevalência de portadores crônicos do HCV. Alguns estudos relatam a detecção do vírus (avaliado pela detecção do RNA viral) em casos anti-HCV negativos, demonstrando valores de 1% a 10% (Pujol *et al.*, 1996; Fabrizi *et al.*, 1998; Schneeberger *et al.*, 1998; Salama *et al.*, 2000; Hinrichsen *et al.*, 2002; Hanuka *et al.*, 2002). No Brasil, os índices de casos HCV RNA positivos com anti-HCV negativo em unidades de hemodiálise foram de 3% e 10,3% em 2 estudos independentes (Carneiro *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2003). Por outro lado, devido aos casos de cura espontânea e/ou viremia baixa/intermitente que podem ocorrer em populações de hemodialisados, existe um grande número de casos anti-HCV positivos, mas nos quais o vírus não é detectado (Fabrizi *et al.*, 2000; Fabrizi *et al.*, 2003). Estudos demonstram que a prevalência de HCV RNA positivo pode variar de 51% até 96,5% em casos de anti-HCV positivo em hemodialisados (Carneiro *et al.*, 2001; Hinrichsen *et al.*, 2002).

Outra análise que tem contribuído para o conhecimento da disseminação e transmissão do HCV é a genotipagem. Entre os 6 genótipos principais, três (1, 2 e 3) estão disseminados globalmente, enquanto os outros três (4, 5 e 6) encontram-se restritos a algumas regiões (Figura 4). Mesmo entre os genótipos com ocorrência no mundo inteiro, as prevalências regionais e continentais são diversificadas. Os subtipos 1a e 1b são os mais comuns no Estados Unidos e Europa. No Japão o subtipo 1b é responsável por cerca de 73% dos casos de infecção pelo HCV. Os subtipos 2a e 2b também são muito comuns na América do Norte, Europa e Japão. O subtipo 2c é mais comum ao Norte da Itália. O genótipo 3a é prevalente em usuários de drogas nos Estados Unidos e na Europa. O genótipo 4 é prevalente no norte da África e os genótipos 5 e 6 são encontrados no sul da África e em Hong Kong, respectivamente (Zein, 2000; Busek *et al.*, 2003; Sy e Jamal, 2006).

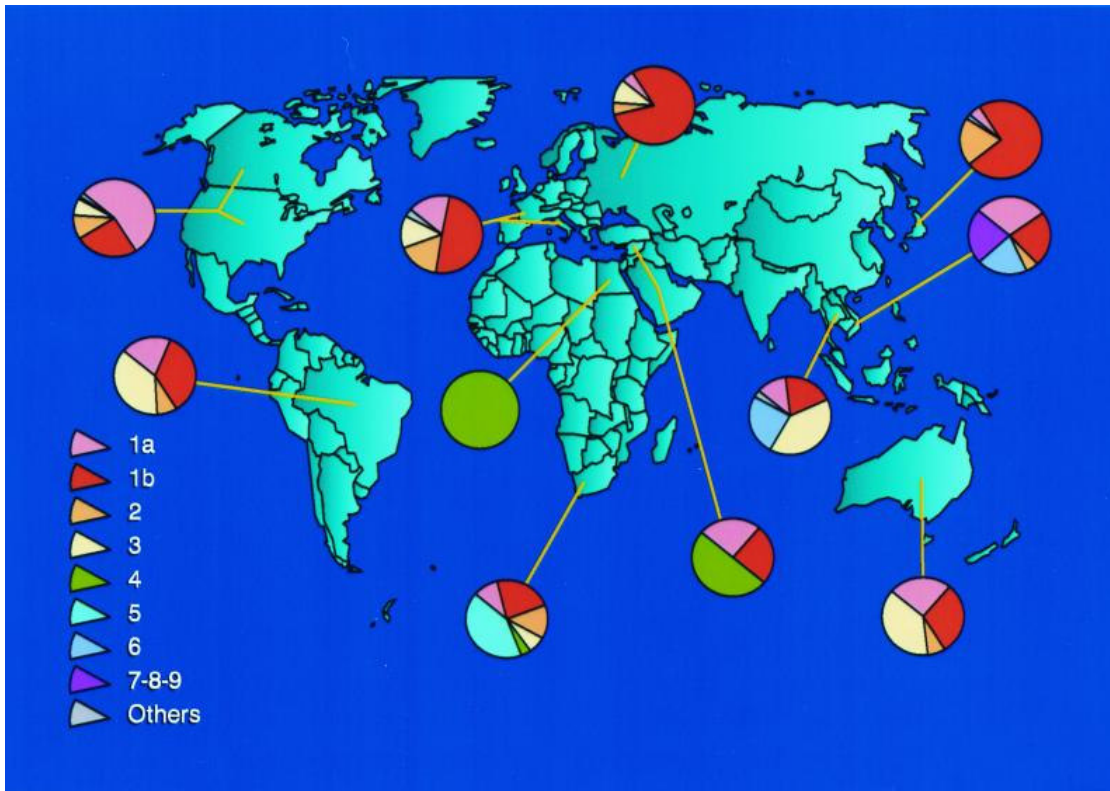


Figura 4. Distribuição Mundial dos Genótipos do HCV.

Adaptado de Zein (2000).

No Brasil, diversos estudos de prevalência de genótipos têm sido realizados. Oliveira *et al.* (1999) analisaram populações distintas (como doadores de sangue, pacientes cirróticos, hemofílicos, usuários de drogas injetáveis e hemodialisados) e verificaram que os genótipos encontrados no Brasil são: 1 (72%), 3 (25.3%), 2 (2.0%), 4 (0.7%) e 5 (<0,1%). Investigações realizadas em São Paulo e no Rio de Janeiro demonstraram prevalência maior dos genótipos 1, 3 e 2, nesta ordem (Bassit *et al.*, 1994; Stuyver *et al.*, 1995). Campiotto *et al.* (2005), em uma pesquisa com 1.688 amostras de pacientes de todo país, obtiveram uma prevalência geral de 64.9% do genótipo 1, 4.6% do genótipo 2, 30.2% do genótipo 3, 0.2% do genótipo 4 e 0.1% do genótipo 5. Neste mesmo estudo foi demonstrada que houve uma distribuição estatisticamente diferente entre as regiões do Brasil, sendo o genótipo 1 mais prevalente em todas as regiões mas com diferentes índices percentuais (frequências mais altas no norte de 74.1% e mais baixas no Sul de 51.7%), o genótipo 3 foi o segundo mais freqüente (situação inversa à anterior, com índices extremos de 43,2% no Sul e 24,7% no Norte) e o genótipo 2 com

menor frequência entre os 3 principais genótipos (índice máximo de 11,4% no Centro-oeste e mínimo de 1,2% no Norte) (Figura 5). A pequena diferença entre a prevalência dos genótipos 1 e 3 no sul do país, também foi mostrada por Busek e Oliveira (2003), no entanto, o genótipo 3 prevaleceu (Busek *et al.*, 2003; Campiotto *et al.*, 2005).

Estudos realizados em unidades de hemodiálise demonstram que a prevalência dos genótipos na sua grande parte mostra-se semelhante a da população em geral, no entanto, eventualmente presencia-se frequências diferenciadas devido ao aumentado risco de transmissão nosocomial que ocorre dentre esta população (Oliveira *et al.*, 1999; Busek *et al.*, 2002).

No Brasil, em estudo realizado em Belo Horizonte, o genótipo 2 foi o predominante em uma clínica, sendo este de frequência rara no local (Busek *et al.*, 2002; Campiotto *et al.*, 2005). Outro caso foi relatado no Ceará, onde houve uma prevalência elevada do genótipo 3 em uma cidade onde a população geral apresenta prevalência muito baixa deste genótipo (Forns *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 1999). A diferença de prevalência nas unidades de hemodiálise em relação à população local pode demonstrar indícios de transmissão nosocomial.

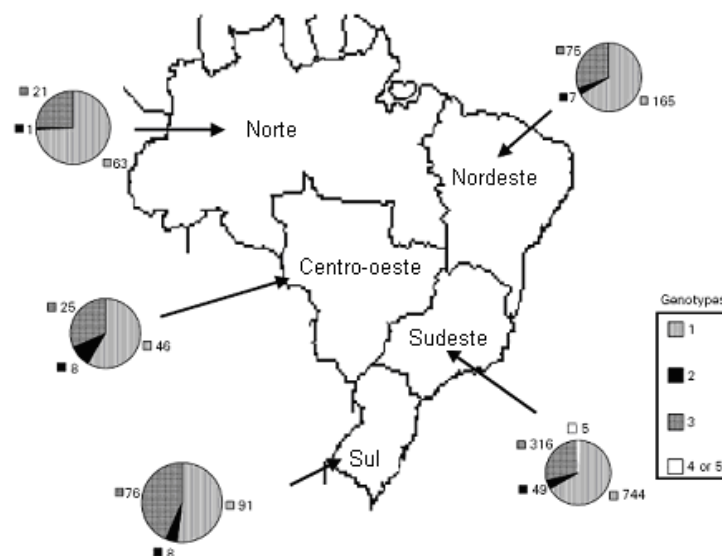


Figura 5. Distribuição dos Genótipos do HCV no Brasil
Adaptado de Campiotto *et al.* (2005).

2.4 História Natural da Hepatite C

A história natural da infecção pelo HCV foi difícil de estabelecer, devido ao início silencioso da infecção e à ausência de sintomas durante muitos anos na grande maioria dos casos. No entanto, vários estudos retrospectivos e prospectivos realizados até o momento permitiram determinar a evolução clínica nas fases aguda e crônica (Seeff *et al.*, 2000).

O quadro clínico dos pacientes com hepatite C na fase aguda é em geral longo e assintomático, sendo que apenas 20% a 30% dos adultos desenvolvem sintomas clínicos. Com base nestes sintomas, 4 períodos podem ser caracterizados: incubação, pré-icterícia, icterícia e convalescença (Ferreira e Silveira, 2004; Focaccia, 2006). O período de incubação é a fase que ocorre entre a exposição ao vírus e o início dos sintomas. Em média demora 7 a 8 semanas, podendo variar entre 2 a 26 semanas (Silva e Rossetti, 2001). Neste período as partículas virais podem ser detectadas depois de uma a duas semanas da exposição, tendo picos entre 100.000 e 10.000.000 UI/ml (unidades internacionais por mililitro), enquanto os anticorpos anti-HCV ainda não estão presentes (Chen e Morgan, 2006). Na fase pré-ictérica os sintomas são raros, inespecíficos e, quando ocorrem, incluem astenia, fadiga, sensação de mal-estar geral, anorexia, náuseas, por vezes vômitos, e desconforto no hipocôndrio direito. A icterícia pode ser caracterizada pelo amarelão da pele e colúria em alguns pacientes. Nesta fase, os anticorpos anti-HCV já estão sendo produzidos pelo organismo, sendo que 80% dos infectados apresentam anticorpos anti-HCV em 2 meses, 90% em cinco meses e 97% em até seis meses depois do contágio. A fase de coalescença é iniciada com a clarificação ou desaparecimento da icterícia e a não ocorrência de sintomas (Cotter, 2003; Focaccia, 2006; Chen e Morgan, 2006). Como as células hepáticas são o principal alvo de infecção e replicação do vírus, os níveis de enzimas hepáticas (principalmente as transaminases) na circulação sanguínea se elevam com a multiplicação do vírus e a destruição dos hepatócitos pelo sistema imune, atingindo valores dez vezes superiores aos normais. Existem registros de casos graves de hepatite C na fase aguda, mas casos fulminantes são muito raros (Chen e Morgan, 2006).

Após a fase aguda, em 15 a 25% dos casos a doença é auto-limitada e o paciente cura, definida pela eliminação do vírus no organismo e normalização

das transaminases. Os anticorpos anti-HCV podem permanecer detectáveis por muitos anos (Chen e Morgan, 2006). No entanto, a maioria dos portadores evoluem para infecção crônica, com persistência das partículas virais e dos anticorpos anti-HCV (Conry-Cantilena *et al.*, 1996). Nas primeiras décadas de infecção crônica os doentes não apresentam sintomas e a doença evolui de forma lenta e insidiosa. Cerca de 60 a 70% dos doentes cronicamente infectados têm transaminases elevadas, indicando doença hepática ativa. O restante, entre 30 e 40 %, têm transaminases normais (Conry-Cantilena *et al.*, 1996; Pereira *et al.*, 2005; Santana *et al.*, 2005). Muitas vezes é observado um padrão flutuante das transaminases, com períodos prolongados de valores normais e picos esporádicos. O acompanhamento apenas com a determinação das transaminases não permite definir a progressão da doença hepática, sendo necessário o seguimento clínico destes indivíduos para determinar a evolução da doença (Pereira *et al.*, 2005, Santana *et al.*, 2005).

A doença pode persistir por várias décadas e evoluir, em alguns casos, para doença hepática terminal e hepatocarcinoma, devido à cirrose hepática ou persistir até a morte do paciente por outras causas. O risco potencial de progressão para cirrose está entre 10 e 20%, com tempo médio de desenvolvimento de 21 anos, e carcinoma hepatocelular entre 1 e 5%, com um tempo médio de 29 anos (Strauss, 2001; Chen e Morgan, 2006).

Entre pacientes hemodialisados, a história natural da infecção pelo HCV é diferente da população em geral. A frequência de assintomáticos para Hepatite C é maior e permanece por períodos mais longos. Estudos demonstram que a hepatite C crônica nestes pacientes é uma doença menos severa, não se tornando progressiva, provavelmente devido às anormalidades encontradas no sistema imunológico destes pacientes (Okuda e Yokosuka, 2004). Outro fator que parece contribuir para esta evolução mais favorável é a flutuação nos níveis da carga viral nestes pacientes. Esta flutuação decorre provavelmente do próprio processo de hemodiálise, que pela filtração acaba retirando muitas partículas virais da circulação sanguínea (Umlauft *et al.*, 1997; Furuzyo *et al.*, 2000; Fabrizi *et al.*, 2000).

2.5 Diagnóstico

O diagnóstico de um portador do HCV pode ser decorrente de uma consulta a um médico especialista devido a sintomas clínicos ou da realização de exames laboratoriais para o HCV por outros motivos, como por exemplo doação de sangue. Em ambos os casos, o diagnóstico deve ser complementado por testes laboratoriais bioquímicos, sorológicos e moleculares.

2.5.1 Clínico

Conforme foi destacado anteriormente, a grande maioria das infecções agudas pelo HCV são assintomáticas ou apresentam sintomas inespecíficos, de maneira que a hepatite C raramente é diagnosticada clinicamente após a infecção. O diagnóstico nesta fase pode ocorrer apenas nas situações em que houve a suspeita da infecção (por transfusão de sangue contaminado, acidente com agulhas ou outros materiais, etc.) e/ou no pequeno percentual de casos (20 a 30%) que apresentam icterícia, mal estar e náusea (Cruz *et al.*, 2000; Chen e Morgan, 2006).

Na maioria dos casos, a doença só é clinicamente reconhecida na fase crônica, quando da ocorrência de complicações decorrentes da progressão para cirrose hepática ou hepatocarcinoma. Nesta fase, os primeiros sintomas são inespecíficos, como fadiga, mal estar, artralgias, perda de peso e anorexia. Pacientes com doença crônica mais avançada geralmente apresentam colúria, icterícia e edemas favorecendo o diagnóstico clínico (Conte, 2000; Cotter, 2003; Chen e Morgan, 2006).

2.5.2 Laboratorial

Entre os testes que permitem o diagnóstico de uma infecção ocasionada pelo HCV podemos destacar os bioquímicos (dosagem de transaminases), sorológicos e de biologia molecular, onde o primeiro é apenas um indicador de lesão hepatocelular, o segundo determina a presença de anticorpos contra o HCV, e o terceiro a presença do RNA viral no soro de pacientes infectados (Saab *et al.*, 2001; Silva e Rossetti, 2001). Todos estes testes são utilizados no manejo dos pacientes infectados pelo HCV.

2.5.2.1 Dosagem das transaminases

Para o diagnóstico e a avaliação de qualquer paciente suspeito de hepatite viral, normalmente é realizada a dosagem das transaminases, enzimas

encontradas em alta concentração nos hepatócitos. Níveis aumentados destas enzimas na circulação sanguínea normalmente estão relacionados com lesão hepatocelular. As principais enzimas de importância nesta categoria são: (1) aspartato aminotransferase (AST), também conhecida como transaminase oxalacética glutâmica (TGO), e (2) alanina aminotransferase (ALT), também denominada transaminase pirúvica glutâmica (TGP). A AST e ALT catalizam a conversão dos aminoácidos aspartato e alanina em oxaloacetato e piruvato, respectivamente. Além do fígado, a AST está distribuída em outros tecidos orgânicos, incluindo o coração e os músculos, enquanto que a ALT pode apresentar quantidades significativas apenas nos rins (Henry, 1999; Filippin *et al.*, 2004). Aproximadamente 80% da enzima AST presente nos hepatócitos está localizada na mitocôndria, enquanto a ALT predominantemente é não mitocondrial. Na lesão hepatocelular leve, quando o plasma do hepatócito é lesado e a membrana mitocondrial permanece íntegra, a AST e a ALT citoplasmáticas são liberadas no soro. Nas lesões hepatocelulares mais graves, a lesão mitocondrial pode resultar na liberação da AST mitocondrial, elevando a proporção AST/ALT. A meia vida da AST total na circulação é de 17 ± 5 horas, enquanto que da ALT é de 47 ± 10 horas. A AST mitocondrial possui meia-vida maior, chegando a 87 horas. Em adultos saudáveis, AST e ALT apresentam-se substancialmente mais elevadas em homens do que em mulheres (Henry, 1999; Gomes, 2004; Filippin *et al.*, 2004).

Os valores normais das enzimas hepáticas AST e ALT são bastante diversificados, podendo variar inclusive devido ao aparelho e método utilizado para sua dosagem. A interpretação dos resultados de análises destas enzimas também depende do conhecimento dos valores normais e intervalos de referência na população normal (indivíduos saudáveis) (Gomes, 2004). Os intervalos de referência para estas transaminases, sem distinguir gênero, são apontadas pela Organização Mundial da Saúde como sendo: 8-33 U/L para a AST e 5-40 U/L para a ALT (Henry, 1999; Filippin *et al.*, 2004). No entanto, não existe consenso com relação a estes valores. Em estudo realizado com 6.835 pacientes, os resultados obtidos determinaram que em homens o limite superior de normalidade deveria ser 30 U/L (e não 40) e para mulheres 19 U/L (e não 30) (Prati *et al.*, 2002). Na prática laboratorial, os valores utilizados normalmente são os estabelecidos pelo próprio fabricante do kit.

A elevação do nível de ALT no soro ajudou a identificar inúmeros tipos de doenças hepáticas em pacientes e foi amplamente utilizada na década de 1980 para identificação da então chamada hepatite não A não B (na época o HCV não tinha sido identificado, não havendo teste específico para a detecção). Existe uma boa correlação entre a elevação da ALT e a infecção pelo HCV, mas uma parcela substancial de pacientes com hepatite crônica apresentam valores séricos normais de ALT (Puoti, 2004). Em estudos realizados com doadores de sangue, por exemplo, foi demonstrado que os níveis de ALT estiveram aumentados em até duas vezes o valor do limite superior em 30% dos indivíduos, entre 1 e 2 vezes o valor do limite superior em 40% e normais em 30% dos casos de anti-HCV positivo (Conry-Cantilena *et al.*, 1996; Puoti, 2004). A evolução da doença nestes casos com valores normais de ALT são geralmente menos severas, embora alguns estudos demonstram uma significativa progressão para fibrose em 20-30% dos casos (Cividini *et al.*, 2001; Puoti, 2004).

O monitoramento continuado dos níveis de ALT em determinadas populações não infectadas tem auxiliado na detecção de casos novos de infecção pelo HCV. Em doadores de sangue, por exemplo, a determinação da ALT auxiliou na detecção da doença antes mesmo da identificação do HCV por métodos mais específicos como o anti-HCV e PCR (Lin *et al.*, 1992; Filippin *et al.*, 2004). Esta conduta tem sido proposta no acompanhamento de pacientes que apresentam maior risco e que são submetidos a exames laboratoriais periódicos (destaque para os hemodialisados), nos quais uma elevação súbita da ALT pode significar uma infecção hepática viral. No entanto, níveis significativamente alterados destas enzimas não são comuns em pacientes de hemodiálise com HCV, sugerindo que este não é um bom marcador para estes pacientes (Fabrizi *et al.*, 1997; Gouveia *et al.*, 2004; Lopes *et al.*, 2006). A alternativa tem sido o estabelecimento de valores de referência específicos para esta população. Gouveia *et al.* (2004) sugerem que os limites superiores de normalidade da ALT sejam reduzidos em 60% dos limites convencionais, quando se avaliam pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise. Por sua vez, Lopes *et al.* (2006) relatam que valores próximos a 50% do limite normal superior podem aperfeiçoar a sensibilidade e especificidade do teste de dosagem da ALT.

2.5.2.2 Sorológicos

Os testes sorológicos (ou imuno-ensaios) baseiam-se na detecção de anticorpos dirigidos contra antígenos virais (estruturais e não estruturais) no plasma do indivíduo infectado. Podem ser divididos em duas categorias: triagem e confirmatório. Os testes de triagem são imuno-ensaios que detectam anticorpos anti-HCV de forma genérica, sem a distinção dos antígenos que são reconhecidos. Conforme a forma de detecção, estes testes podem ser classificados em 2 grupos: (1) enzimático colorimétrico (conhecido como ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*) e (2) enzimático quimioluminescente (conhecido como CIA, do inglês *enhanced chemiluminescence immunoassay*). Os testes confirmatórios diferenciam os anticorpos presentes no soro/plasma do paciente. Atualmente existe apenas 1 teste comercialmente disponível: imunoblote recombinante, conhecido por RIBA (do inglês *recombinant immunoblot assay*) (Richter, 2002; Alter *et al.*, 2003).

ELISA

O teste de ELISA consiste na captura de anticorpos ou antígenos virais do soro ou do plasma nos poços de microplacas, pela utilização de anticorpos ou antígenos específicos. Os complexos antígeno-anticorpo são revelados, na seqüência, através de reação colorimétrica enzimática. Após leitura em espectrofotômetro, os resultados são expressos como a razão entre a densidade ótica do teste e a do controle (Henry, 1999; Chevaliez e Pawlotsky, 2006). Os testes são considerados positivos quando o índice for superior a 1,0, no entanto existe a recomendação de realizar testes suplementares quando o índice for menor do que 3,8 em muitos ELISAs, pois estes casos podem ser falso-positivos (Alter *et al.*, 2003).

O primeiro ensaio sorológico de ELISA tinha como alvo somente um antígeno, o polipeptídeo C100-3 e foi comercializado a partir de 1989. Este ensaio denominado de “primeira geração” foi extremamente útil na redução do risco por transfusão sangüínea, no entanto apresentava problemas de sensibilidade e especificidade (Brandão *et al.*, 2001). Em 1991, com a inserção de novos antígenos do capsídeo e da região não-estrutural (NS3 e NS4), surgiu o ensaio de “segunda geração”, com significativos ganhos de sensibilidade e especificidade. O longo período de janela imunológica do teste de primeira

geração foi reduzido para em média 5 semanas. A “terceira geração” começou a ser utilizada em 1993, com o uso de proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos para detecção de anticorpos contra proteínas do capsídeo e das regiões não-estruturais NS3, NS4 e NS5 (Ré *et al.*, 2005).

Atualmente, diversos são os testes comerciais de ELISA licenciados para detecção de anti-HCV e com uso disseminado nos laboratórios de análises clínicas. Nos EUA, os kits licenciados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) são da marca ABBOTT LABORATORIES e BAYER HEALTHCARE, LLC. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) é responsável pelo licenciamento destes testes, sendo que a gama de kits licenciados é maior, possuindo, além dos implementados nos EUA, kits como: Wiener Laboratórios S. A I. C - Argentina, Human GMBH - Alemanha, Heber Biotec – Cuba, entre outros.

CIA

O teste de CIA é um imuno-ensaio de “terceira geração” que utiliza 3 antígenos recombinantes (C-22-3, C-200 e NS5). Este teste apresenta grande semelhança com o ELISA, diferenciando-se apenas na etapa da revelação da presença dos complexos antígeno-anticorpo, onde a reação enzimática é quimioluminescente e a luz produzida é avaliada por um luminômetro. Os resultados são quantificados conforme a luz emitida e convertidos em valores que variam de 0 à 30. Na versão atual deste teste são considerados como negativas amostras que apresentem resultados com valores inferiores a 0,9, indeterminados entre 0,9 e 1,0, e positivos superiores a 1,0 (Vitros Immunodiagnostic Products Anti-HCV Reagent Pack).

Estudos posteriores realizados para avaliar a eficiência deste teste têm demonstrado a ocorrência de grande número de falso-positivos na população normal quando os índices são baixos, sendo necessária a realização de testes complementares (Dufour *et al.*, 2003; Oethinger *et al.*, 2005). O *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) recomenda testes complementares quando os índices são inferiores a 0,8 (Alter *et al.*, 2003). O único kit de CIA atualmente no mercado (Vitros Immunodiagnostic Products Anti-HCV Reagenst Pack) é produzido pela empresa Ortho-Clinical Diagnostics e foi lançado no início desta década.

RIBA

O ensaio de RIBA é um teste complementar, podendo ser utilizado na confirmação de resultados positivos ou inconclusivos por ELISA e CIA. Este ensaio detecta anticorpos específicos, utilizando-se tiras de nitrocelulose impregnadas de antígenos virais em locais pré-determinados. As reações positivas têm como característica o aparecimento de pontos coloridos em posições específicas das tiras e a interpretação pode ser visual ou automatizada. Um resultado é considerado positivo pelo RIBA quando duas ou mais bandas são detectadas na fita de nitrocelulose, representando uma reação antígeno-anticorpo específica, enquanto um resultado é considerado indeterminado, quando a reação gera somente uma banda na fita de diagnóstico. Neste último caso é aconselhada a realização de diagnóstico através de técnicas moleculares (Brandão *et al.*, 2001). O uso deste ensaio foi maior no início dos anos 90, mas com o advento dos testes moleculares houve uma queda na sua utilização na prática clínica (Pawlotski, 2002).

2.5.2.3 Moleculares

Os testes moleculares são utilizados para identificar a presença dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), sendo divididos entre qualitativos, quantitativos e de genotipagem.

Qualitativos

O RNA do HCV pode ser detectado no sangue utilizando-se técnicas de amplificação, como a reação em cadeia de polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) e a amplificação mediada pela transcrição (TMA, do inglês *Transcription-Mediated Amplification*) (Strader *et al.*, 2004). No caso do HCV, é necessário realizar inicialmente uma transcrição reversa (RT, do inglês *Reverse Transcription*) do RNA, com o auxílio da enzima transcriptase reversa, sintetizando o DNA complementar (cDNA). A seguir este cDNA pode então ser amplificado pelas técnicas de PCR e TMA.

O uso da RT-PCR na detecção do HCV RNA está bem estabelecido na literatura científica, sendo que os principais protocolos utilizam a região 5' não traduzida como alvo por ser a mais conservada (Bukh *et al.*, 1992; Marin *et al.*, 1994; Lunel *et al.*, 1995; Zein, 2000). Kits comerciais baseados nesta técnica

são produzidos exclusivamente pela empresa Roche Molecular Systems (Pleasanton, CA) e têm sido amplamente utilizados por laboratórios clínicos. As versões mais recentes são o Amplicor HCV v2.0 e Cobas Amplicor HCV v2.0, ambos com sensibilidade de 50 UI de HCV RNA por mililitro e especificidade de 98 a 99% (Pawlotsky, 2002).

A técnica de TMA é normalmente executada em duas etapas (1) síntese da molécula de DNA complementar (cDNA), pela transcrição reversa do RNA, e (2) transcrição *in vitro* (síntese de RNA), utilizando como molde as moléculas de cDNA (Lunge *et al.*, 2003). O kit comercial Versant HCV RNA Qualitative Assay (Bayer Corp. Tarrytown, NJ) é exemplo da utilização deste método. A sensibilidade analítica deste teste é de 10 UI/ml e sua especificidade de 98 a 99% (Sarrazin *et al.*, 2000).

Quantitativos

A determinação da carga viral na infecção pelo HCV é importante para definição do tratamento e monitoramento da resposta durante e após a terapia. Desde 1991, diversas técnicas de diagnóstico molecular têm sido propostas para a quantificação viral, incluindo variações do RT-PCR (como diluição limitante, competitivo e *Real Time*), TMA quantitativo e DNA ramificado (bDNA, do inglês *branched DNA*) (Simmonds *et al.*, 1990; Brillanti *et al.*, 1991; Hagiwara *et al.*, 1993; Lau *et al.*, 1993; Manzin *et al.*, 1994; Martell *et al.*, 1999; Sarrazin *et al.*, 2000). Os testes quantitativos mais utilizados são o RT-PCR competitivo e o bDNA, pois estão disponíveis no formato de kits comerciais (empresas Roche e Bayer, respectivamente).

Genotipagem

A taxa de resposta ao tratamento preconizado é diretamente influenciada pelo genótipo do HCV infectante (Hoofnagle, 2002). No tratamento da hepatite crônica pelo HCV o conhecimento do genótipo viral é fundamental para predição da resposta sustentada e para a determinação da duração da terapia antiviral (Nolte, 2001).

A genotipagem do HCV pode ser realizada por diferentes metodologias, sendo as mais utilizadas: RT-PCR seguido da análise de polimorfismo de

tamanho dos fragmentos de restrição (ou simplesmente RFLP, do inglês *Restriction Fragment Length Polymorphism*), hibridização reversa e seqüenciamento direto. Característica comum a estas diferentes metodologias é a análise preferencial da região alvo 5'UTR que, devido ao alto grau de conservação, permite a detecção e discriminação dos 6 genótipos principais de HCV (Davidson *et al.*, 1995; Stuyver *et al.*, 1996).

A técnica de RFLP baseia-se na digestão de amplicons de RT-PCR com endonucleases de restrição que reconhecem sítios específicos para cada genótipo. Os fragmentos resultantes são separados por eletroforese em gel e cada genótipo é reconhecido pelo seu padrão de digestão exclusivo (Nolte, 2001). Esta técnica está bem estabelecida para genotipagem de HCV, tendo sido utilizada em diversos estudos epidemiológicos realizados no mundo e no Brasil (McOmish *et al.*, 1994; Davidson *et al.*, 1995; Krug *et al.*, 1996; Lunge *et al.*, 1999).

O seqüenciamento direto é considerado o padrão-ouro para a genotipagem do HCV (Nolte, 2001). Este método tornou-se mais acessível para os laboratórios com a automatização e o desenvolvimento da informática. Recentemente foi desenvolvido um kit comercial (Trugene HCV 5'NC Genotyping Kit, empresa Visible Genetics, Toronto, Canadá) que tem facilitado o uso mais intensivo desta técnica nos laboratórios clínicos (Ansaldi *et al.*, 2001; Strader *et al.*, 2004).

A hibridização reversa com sondas específicas para os genótipos tem sido utilizada na genotipagem do HCV devido à disponibilidade do kit comercial Inno LiPA HCV II (empresa Innogenetics, Ghent, Bélgica). Esta técnica baseia-se na hibridização de amplicons de RT-PCR com sondas de oligonucleotídeos específicas para cada genótipo distribuídas em uma tira de nitrocelulose (Nolte, 2001; Stuyver *et al.*, 1996). Tem como vantagens a relativa facilidade de realização e o reconhecimento de infecções por múltiplos genótipos e como desvantagens a falha no diagnóstico nos casos de carga viral baixa e a dificuldade de distinguir alguns subtipos do HCV (Nolte, 2001; Strader *et al.*, 2004).

3 Diagnóstico do HCV em unidades de Hemodiálise

Desde a descoberta da hepatite C em 1989 e da confirmação da alta prevalência do HCV entre hemodialisados, as unidades de hemodiálise de vários locais do mundo têm estabelecido uma conduta de diagnóstico contínuo do HCV entre os pacientes e adotado uma série de medidas de controle para evitar a transmissão do vírus de pacientes portadores para não portadores. Entre essas medidas valem destacar: (1) utilização de luvas quando houver manuseio de equipamentos e contato com os pacientes, (2) realização de procedimentos de desinfecção das áreas ocupadas pelos pacientes, (3) separação de pacientes conhecidamente portadores dos vírus da hepatite B (HBV) e C (HCV) dos demais não contaminados. Essas e outras recomendações estão consolidadas em um documento do CDC (CDC, 2001). Especificamente no Brasil, a primeira norma para este tipo de população foi elaborada e implementada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 1996 e a mais recente em 2004, todas com base nas principais recomendações do CDC.

A última resolução estabelece que os serviços de diálise devem realizar a dosagem mensal das transaminases e a pesquisa semestral de anticorpos anti-HCV em todos pacientes suscetíveis (negativos para HCV). Nos pacientes que apresentarem elevação das transaminases, descartadas outras causas, deve ser procedida a pesquisa para hepatites virais com a realização dos testes de anti-HBc IgM, HBsAg e anti-HCV. Confirmando-se a positividade para HBV ou HCV, a complementação diagnóstica é assegurada aos pacientes e realizada nos serviços especializados em hepatites virais. Os exames de rotina realizados, não excluem a necessidade de exames complementares, segundo indicação médica (Brasil, 2004).

Os testes que identificam o RNA viral não fazem parte da rotina de exames dos centros de diálise, no entanto estudos demonstram a importância e eficácia destes testes para detecção do HCV em pacientes sob procedimento de diálise e recomendam a sua implementação na rotina dos serviços de diálise (Fabrizi *et al.*, 1997; Carneiro *et al.*, 2001).

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Os hemodialisados são vulneráveis aos mais diversos tipos de doenças, sendo assim de extrema importância a utilização da pesquisa para melhorar a qualidade de vida e saúde desta população. Especificamente, a hepatite C é uma infecção de grande preocupação para os hemodialisados devido à alta prevalência nesta população e às várias possibilidades de transmissão nas unidades de hemodiálise. O objetivo principal deste estudo foi realizar uma avaliação do uso da ALT no rastreamento do vírus da hepatite C (HCV) nas unidades de hemodiálise.

A seguir, os dados do presente estudo são apresentados na forma de artigo a ser submetido à publicação.

CAPÍTULO 3

Discussão

O HCV é o principal agente de doenças crônicas hepáticas entre os hemodialisados. A alta prevalência deste vírus nesta população é decorrente do histórico de transfusões de sangue e sessões de hemodiálises dos pacientes, muitas das quais antes da identificação do HCV e da utilização sistemática dos testes de triagem e confirmatórios. Após a descoberta do vírus em 1989, os primeiros relatos de prevalência de HCV entre hemodialisados eram assustadores, sendo que índices de até 80% foram observados em alguns locais (WHO, 2000). Com o desenvolvimento e implementação de testes bastante específicos (sorológicos e moleculares) aliados à adoção de procedimentos para evitar a transmissão parenteral do HCV nas unidades de hemodiálise ocorreu uma queda significativa na prevalência deste vírus entre hemodialisados com o decorrer dos anos. Atualmente a legislação estabelece condutas clínicas e laboratoriais bastante específicas para o controle do HCV nestas populações. No entanto, índices bem superiores à população geral ainda são observados e o controle do HCV continua sendo um desafio às unidades de hemodiálises (Lazzarini *et al.*, 2000; ANVISA, 2004; Carneiro *et al.*, 2005).

Os resultados do presente estudo revelaram uma prevalência de 33% (107 dos 324 pacientes abrangidos) avaliada pelo anti-HCV, com variação de 24% a 39,3% conforme a unidade de hemodiálise (sem diferenças estatísticas significativas entre as unidades). Esta prevalência está de acordo com outros resultados obtidos de pacientes hemodialisados da região, onde foram relatados índices entre 29,1% e 39% (Karohl *et al.*, 1995; Dotta *et al.*, 2003; Gomes *et al.*, 2006), e com os valores encontrados nos diferentes estudos com pacientes de hemodiálise do Brasil, onde a prevalência variou de 23,8% a 45,5% (Santana *et al.*, 2004). Os resultados também foram bem superiores aos encontrados na população em geral do Sul do país, onde a prevalência do HCV oscila entre 1,1% e 2,1% (Campiotto *et al.*, 2005).

A proporção de pacientes que mantinham o vírus circulante (HCV-RNA positivos) foi de 20,4% (66 pacientes), ocorrendo variação de 17,3% a 26,8% entre as unidades de hemodiálise. Entre estes pacientes HCV-RNA positivos

não houve nenhum caso com anti-HCV negativo. Entretanto, houveram 41 pacientes com anti-HCV positivo e HCV-RNA negativo. Na avaliação da relação entre os pacientes positivos pelo HCV-RNA e anti-HCV foi observado um índice de 61,7%, com uma variação de 49,2% a 88,9%, conforme a unidade de hemodiálise. Variações na relação HCV-RNA positivo / anti-HCV positivo com pacientes hemodialisados no Brasil foram observadas em outros estudos também, sendo demonstrados índices de 63,5% até 94,3% (Carneiro *et al.*, 2001; Busek *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2006). Nesta comparação, apenas uma das unidades de hemodiálise apresentou um índice menor ao intervalo de valores esperado (49,2%). Esta relação tão baixa entre HCV-RNA e anti-HCV positivos pode ser decorrente tanto de falso-negativos do PCR, devido a casos de viremia intermitente que é uma característica intrínseca desta população, como de falso-positivos do anti-HCV devido a características da própria técnica de análise (Fabrizi *et al.*, 2000; Oethinger *et al.*, 2005). Com relação à possibilidade de falso-negativos pelo PCR, em uma nova avaliação de 23 dos 143 pacientes com HCV-RNA negativos desta unidade (realizada um ano depois), ocorreu 1 caso que apresentou resultado positivo por PCR (dados não mostrados). Por outro lado, na avaliação detalhada dos valores obtidos em cada caso no anti-HCV, observou-se um número significativo de resultados considerados positivos pelo anti-HCV, mas com índices baixos do mesmo (6 casos menores que 5,0 e 6 casos entre 5,0 e 10,0). Conforme demonstrado em trabalho previo, significativo número de casos com índices baixos são na realidade resultados negativos (Oethinger *et al.*, 2005). Considerando estes aspectos, a relação HCV-RNA e anti-HCV mostraria índices maiores, subindo acima dos 60%, conforme verificado em outros estudos.

A genotipagem do HCV nos casos positivos eventualmente pode ser utilizada para verificar a possibilidade de transmissão dentro da mesma unidade. A distribuição de genótipos encontrada no estudo demonstrou uma prevalência maior do genótipo 1 (63,6%) seguido pelos genótipos 3 (34,8%) e 2 (1,5%). Nas unidades, o genótipo 1 prevaleceu em 3 locais (com variação de 56,3% a 73,3% de casos) enquanto o 3 genótipo 3 prevaleceu na unidade remanescente (60%). Estes resultados demonstram que foram encontrados os mesmos 3 principais genótipos que ocorrem na população normal no estado do Rio Grande do Sul (Krug *et al.*, 1996; Schwambach, 2005). Com relação à

prevalência, as oscilações verificadas estão dentro do esperado na população gaúcha. Os genótipos 1 e 3 são os mais prevalentes no Rio Grande do Sul e também foram os mais frequentes nos pacientes das unidades de hemodiálise analisadas.

A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) número 154 de 15 de junho de 2004 emitida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece o acompanhamento mensal de pacientes hemodialisados com uma bateria de exames laboratoriais, de acordo com recomendações do Centro de Prevenção e Controle de Doenças (CDC, 2001). Entre os exames realizados destacam-se o hematócrito, as dosagens de hemoglobina, uréia (antes e depois da sessão de diálise), potássio, cálcio, fósforo, aspartato e alanina aminotransferases (AST e ALT, respectivamente), glicemia para pacientes diabéticos e creatinina durante o primeiro ano. Semestralmente é realizada a dosagem do paratormônio, anti-HBs, anti-HBc total ou IgG, HbsAg e anti-HCV para pacientes susceptíveis (). Entre estes exames, a ALT é utilizada basicamente para verificar a incidência de hepatites virais. Quando houver elevação da ALT, descartadas outras causas, deve ser realizada a pesquisa para hepatites virais, sendo analisadas pelos exames de anti-HBc IgM, HBsAg e anti-HCV (ANVISA, 2004).

A utilização da ALT para monitorar o HCV em pacientes hemodialisados apresenta uma série de controvérsias e vários estudos demonstram que este é um marcador de lesão hepática que deve ser utilizado com grande cuidado especificamente nesta população (Fabrizi *et al.*, 1997; Gomes *et al.*, 2004; Lopes *et al.*, 2006). Embora a maior parte dos estudos realizados demonstram correlação entre infecção pelo HCV e elevação da ALT, os valores absolutos obtidos com pacientes hemodialisados estão em geral dentro do intervalo de referência normal da técnica. E no presente estudo foi observada exatamente esta situação: valores médios de ALT significativamente mais elevados nos pacientes HCV-RNA positivos (42,9 U/L para homens e 36,0 U/L para mulheres) do que negativos (24,6 U/L para homens e 29,0 U/L para mulheres). No entanto, somente 5 (3 homens e 2 mulheres) do total de 66 pacientes HCV-RNA positivos apresentaram valores acima do limite superior da faixa de normalidade estabelecidos pelo fabricante do teste de ALT utilizado (72 U/L para homens e 52 U/L para mulheres), demonstrando uma sensibilidade muito

baixa deste teste (7,3% para homens e 8,0% para mulheres). Conforme realizado em outros estudos, a redução gradativa do limite superior da faixa de normalidade representou ganhos significativos de sensibilidade na detecção de pacientes portadores de HCV pelo teste de ALT. Os pontos de corte que permitiram maximizar a sensibilidade e especificidade do teste foram 28,8 U/L para os homens (75,6% de sensibilidade e 78,9% de especificidade) e 26,0 U/L para as mulheres (92,0% de sensibilidade e 69,4% de especificidade), valores muito próximos aos encontrados em outros estudos (Gouveia *et al.*, 2004; Lopes *et al.*, 2006).

Uma grande dificuldade para o nefrologista que realiza o acompanhamento sistemático de pacientes em hemodiálise tem sido como avaliar se houve ou não uma elevação na ALT, pois estes pacientes apresentam níveis baixos deste marcador. A simples introdução de valores de normalidade adequados a esta população representa um aprimoramento no rastreamento de casos de infecção pelo HCV nas unidades de hemodiálise. No entanto, um aprimoramento significativo no controle do HCV somente será alcançado com a realização mensal de testes específicos como o anti-HCV e/ou HCV-RNA.

Referências Bibliográficas

Aktar, S, Younus, M, Adil, S, Jafri, S. H, Hassan, F. Hepatitis C virusinfection in asymptomatic male volunteer blood donors in Karachi, Pakistan. *Journal of Viral Hepatitis*, v. 11, p. 527-535, 2004.

Albuquerque, A. C. C, Coelho, M. R. C. D, Lopes, E. P. A, Lemos, m. F. L, Moreira, R. C. Prevalence and risk factors of hepatitis C vírus infection in hemodialysis patients from one center in Recife, Brazil. *Memória do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, p.467-470, 2005.

Alfurayah, O, Sabeel, A, Al Abdel, M. N, Almeshari, K, Hamid, M, Dela Cruz, D. M, Hand contamination with hepatitis C virus in staff looking after hepatitis C-positive hemodialysis patients. *The American Journal of Nephrology*, v. 20, p. 103-106, 2000.

Alter, M. J, Kuhnert, W. L, Finelli, L. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention, v. 52, N^o. RR-3, 2003.

Amin, J, Gidding, H, Gilbert, G, Backhouse, J, Kaldor, J, Dore, G, Burgess, M. Hepatitis C prevalence – a nationwide serosurvey. *Commun Dis Intell*, v. 28, p. 517-521, 2004.

Ansaldi, F, Torre, F, Bruzzone, B. M, Picciotto, A, Crovari, P, Icardi, G. Evaluation of a new hepatitis C virus sequencing assay as a routine method for genotyping. *Journal of Medical Virology*, v. 63, p. 17-21, 2001.

ANVISA/Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), disponível em http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto_correlato/rconsulta_produto_internet.asp: Acesso em: 23/11/06.

ANVISA/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n^o 154, de 15 de junho de 2004.

Bassit, L, Vanerborght, B, Dorlhiac-Liacer, P. E, Chamone, A. A. F, Saés-Alquésar, A. Anti-HCV, PCR positivity and HCV subtypes among screening positive blood donors from São Paulo, Brazil. *Transfusion*, v. 34, p. 151, 1994.

Beltrami, E. M, Williams, I. T, Shapiro, C. N, Chamberland, M. E. Risk and management of blood-borne infections in health care workers. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 13, p. 385-407, 2000.

Bracho, M. A, Gosalbes, M. J, Blasco, D, Moya, A, González-Candelas, F. Molecular epidemiology of a hepatitis C virus outbreak in a hemodialysis unit. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 43, p. 2750–2755, 2005.

Brandão, A. B. M, Fuchs, S. C, Silva, M. A. A, Emer, L. F. Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão da literatura. *Revista Panamericana de Saúde Pública/Pan American Journal of Public Health*, v. 9, p. 161-168, 2001.

Brillanti, S, Garson, J. A, Tuke, P. W, Ring, C, Briggs, M, Masci, C, Miglioli, M, Barbara, L, Tedder, R. S. Effect of alpha-interferon therapy on hepatitis C viraemia in community-acquired chronic non-A, non-B hepatitis: a quantitative polymerase chain reaction study. *Journal of Medical Virology*, v. 34, p. 136-141, 1991.

Bukh, J, Miller, R. H, Purcell, R. H. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Seminars in liver disease*, v. 15, p. 41-63, 1995.

Bukh, J, Purcell, R. H, Miller, R. H. Importance of primer selection for the detection of hepatitis C virus RNA with the polymerase chain reaction assay. *Proceeding of the National Academy of Sciences U S A*, v. 89, p. 187-191, 1992.

Busek, S, Oliveira, G. Molecular epidemiology of the hepatitis C virus in Brazil. *Genetics and Molecular Research*, v. 2, p. 117-123, 2003.

Busek, S. U, Baba, E. H, Tavares, H. A. F, Pimenta, L, Salomão, A, Correa-Oliveira, R, Oliveira, G. C. Hepatitis C and hepatitis B virus infection in different hemodialysis units in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, p. 775-778, 2002.

Campiotto, S, Pinho, J. R. R, Carrilho, F. J, Silva, L. C, Souto, F. J. D, Spinelli, V, Pereira, L. M. M. L, Coelho, H. S. M, Silva, A. O, Fonseca, J. C, Rosa, H, Lacer, C. M. C, Bernardini, A. P. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 38, p. 41-49, 2005.

Carmo, R. A, Oliveira, G. C, Guimaraes, M. D, Oliveira, M. S, Lima, A. A, Buzek, S. C, Correa-Oliveira, R, Rocha, M. O. Hepatitis C virus infection among Brazilian hemophiliacs: a virological, clinical and epidemiological study. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 35, p. 589-598, 2002.

Carneiro, A. S. M, Martins, R. M, Teles, S. A. T, Silva, S. A, Lopes, C. L, Cardoso, D. D. P, Vanderborght, B. O. M, Yoshida, C. F. T. Hepatitis C prevalence and risk factors in hemodialysis patients in central Brazil: a survey by polymerase chain reaction and serological methods. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, p. 765-769, 2001.

Carneiro, M. A. S, Teles, S. A, Dias, M. A, Ferreira, R. C, Naghettine, A. V, Silva, S. A, Lampe, E, Yoshida, C. F. T, Martins, R. M. B. Decline of hepatitis C infection in hemodialysis patients in Central Brazil: a ten years of surveillance. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, p. 345-349, 2005.

CDC / Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, v. 50, p1-42, 2001.

Chen, S. L e Morgan, T. R. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *International Journal of Medical Sciences*, v. 3, p. 47-52, 2006.

Chevaliez, S, Pawlotsky, J. Hepatitis C virus serologic tests and clinical diagnosis of HCV-related liver disease. *International Journal of Medical Sciences*, v. 3, p. 35-40, 2006.

Cividini, A, Rebutti, C, Silini, E, Mondelli, M. U. Is the natural history of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase really benign? *Gastroenterology*, v. 121, p. 1526-1527, 2001.

Conry-Cantilena C, VanRanden, M, Gibble, J, Melpolder, J, Shakil, A. O, Viladomiu, L, Cheung, L, DiBisceglie, A, Hoofnagle, J, Shih, J. W, Kaslow, R, Ness, P, Alter, H. J. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *The New England Journal of Medicine*, v. 334, p. 1691-1696, 1996.

Conte, V. P. Hepatitis C virus. Part 1. General considerations. *Arquivos de Gastroenterologia*, V. 37, p. 187-194. 2000.

Cotter, J. Hepatites víricas. Núcleo de Gastroenterologia dos Hospitais Distritais, Capítulo: Hepatite C, p. 99-130, 2003.

Cruz, F. M. M, Bonetto, D, Carneiro, R. M. Hepatite viral aguda: novas abordagens para uma doença antiga. *Adolescência Latinoamericana*, v. 2, p. 16-22, 2000.

Daugirdas, T. J, Blake, P. G, Ing, T. S. Manual de diálise. 3ª Edição, Editora Medsi, Rio de Janeiro, 2003.

Davidson, F, Simmonds, P, Ferguson, J. C, Jarvis, L. M, Dow, B. C, Follett, E. A, Seed, C. R, Krusius, T, Lin, C, Medgyesi, G. A. Survey of major genotypes and subtypes of hepatitis C virus using RFLP of sequences amplified from the 5' non-coding region. *The Journal of General Virology*, v. 76, p. 1197-1204, 1995.

Dotta, M. A, Chequer, H, Pereira, J. P. M, Schimitt, V. M, Krug, L, Saitovitch, D. Métodos molecular e imunológico no diagnóstico de hepatite C em pacientes em hemodiálise. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 25, p. 86-94, 2003.

Duffy, M, Salemi, M, Sheehy, N, Vandamme, A. M, Hegarty, J, Curry, M, Nolan, N, Kelleher, D, McKiernan, S, Hall, W. W. Comparative rates of nucleotide sequence variation in the hypervariable region of E1/E2 and the NS5b region of hepatitis C virus in patients with a spectrum of liver disease resulting from a common source of infection. *Virology*, v. 301, p. 354-364, 2002.

Dufour, D. R, Talastas, M, Fernandez, M. D. A, Harris, B. Chemiluminescence assay improves specificity of hepatitis C antibody detection. *Clinical Chemistry*, v. 49, p. 940-944, 2003.

Espinosa, M, Martn-Malo, A, Ojeda, R, Santamara, R, Soriano, S, Aguera, M, Aljama, P. Marked reduction in the prevalence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: Causes and consequences. *American Journal of Kidney Diseases*, v. 43, p. 685-689, 2003.

Fabrizi, F, Bunnapradist, S, Lunghi, G, Martin, P. Kinetics of hepatitis C virus load during hemodialysis: novel perspectives. *Journal of Nephrology*, v. 16, p. 467-475, 2003.

Fabrizi, F, Lunghi, G, Andrulli, S, Pagliari, B, Mangano, S, Faranna, P, Pagano, A, Locatelli, F. Influence of hepatitis C virus (HCV) viraemia upon serum aminotransferase activity in chronic dialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 12, p. 1394-1398, 1997.

Fabrizi, F, Martin, P, Dixit, V, Brezina, M, Cole, M. J, Gerosa, S, Mousa, M, Gitnick, G. Acquisition of hepatitis C virus in hemodialysis patients: a prospective study by branched DNA signal amplification assay. *American Journal of Kidney Diseases*, v. 31, p. 647-654, 1998.

Fabrizi, F, Martin, P, Dixit, V, Brezina, M, Cole, M. J, Vinson, S, Mousa, M, Gitnick, G. Biological dynamics of viral load in hemodialysis patients with hepatitis C virus. *American Journal of Kidney Diseases*, v. 35, p. 122-129, 2000.

Ferreira, C. T e Silveira, T. R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 7, p. 473-487, 2004.

Filippin, F. B., Reis, K., Cemin, L., Duzzioni, M., Hermes, E. M., Souza, L. C. Novo intervalo de referência para alanina aminotransferase usando o sistema automatizado de bioquímica Dade Behring Ar Dimension. *NewsLab*, v. 65, p. 148-160, 2004.

Focaccia, R, Baraldo, D. C. M, Ferraz, M. L. G, Martinelli, A. L. C, Carrilho, F. J, Gonçalves, J. F. L, Pedroso, M. L. A, Coelho, H. S. M, Lacerda, M. A, Brandão, C. E, Mattos, A. A, Lira, L. G. C, Zamin, J. I, Pinheiro, J. O. P, Tovo, C. V, Both, C. T, Soares, J. A. S, Dittrich, S. Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 8, p. 348-355, 2004.

Focaccia, R. *Tratado de hepatites virais*. Atheneu, 2ª edição, 2006.

Food and Drug Administration, disponível em <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/c/index.htm>: Acesso em 14/12/06

Forns, X, Fernandez-Llama, P, Pons, M, Costa, J, Ampurdanes, S, Lopes-Labrador, F. X, Olmedo, E, Lopez-Pedret, J, Darnell, A, Revert, L, Sanchez-Tapias, J. M, Rodes, J. Incidence and risk factors of hepatitis virus infection in a haemodialysis unit. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 12, p. 736-740, 1997.

Furusyo, N, Hayashi, J, Ariyama, I, Sawayama, Y, Etoh, Y, Shigematsu, M, Kashiwagi, S. Maintenance hemodialysis decreases serum hepatitis C virus (HCV) RNA levels in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *The American Journal of Gastroenterology*, v. 95, p. 490-496, 2000.

Gomes, A. Testes enzimáticos hepáticos na prática da medicina do trabalho. *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*, v. 2, p. 30-35, 2004.

Gomes, M, Gigante, L. P, Gomes, J, Boschetti, J, Carvalho, G. Prevalência da soropositividade do anti-HCV em pacientes dialisados. *Revista de Saúde Pública*, v. 40, p. 931-934, 2006.

Gouveia, E. C, Lopes, E. P. A, Moura, I, Cruz, M, Kosminsky, L, Pernambuco, R. Identificação de ponto de corte no nível da alanina aminotransferase para rastreamento da hepatite C em pacientes com insuficiência renal crônica em hemodialisados. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 37, p. 18-21, 2004.

Hagiwara, H, Hayashi, N, Fusamoto, H, Kamada, T. Quantitative analysis of hepatitis C virus RNA: relationship between the replicative level and the various stages of the carrier states or the response to interferon therapy. *Gastroenterology Japonica*, v. 5, p. 48-51, 1993.

Hanuka, N, Sikuler, E, Tovbin, D, Mostoslavsky, M, Hausman, M, Orgel, M, Yaari, A, Shemer-Avni, Y. Hepatitis C virus infection in renal failure patients in the absence of anti-hepatitis C virus antibodies. *Journal of Viral Hepatitis*, v. 9, p. 141-145, 2002.

Henderson, D. K. Managing Occupational Risks for Hepatitis C Transmission in the Health Care Setting. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 16, p. 546-568, 2003.
Henry, J. B. *Diagnóstico Clínico e Tratamento por Métodos Laboratoriais*. Edidora Manole, 19ª Edição, São Paulo, 1999.

Hinrichsen, H, Leimenstoll, G, Stegen, G, Schrader, H, Folsch, U. R, Schmidt, W. E. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in haemodialysis patients: a multicentre study in 2796 patients. *Gut*, v. 51, p. 429-433, 2002.

Hoofnagle, J. H. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology*, v. 36, p. S21-S29, 2002.

Judd, A, Hickman, M, Jones, S, McDonald, T, Parry, J. V, Stimson, G. V, Hall, A. J. Incidence of hepatitis C virus and HIV among new injecting drug users in London: prospective cohort study. *BMJ*, v. 330, p. 24-25, 2005.

Karohl, C, Manfro, R. C, Gonçalves, L. F. Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica de Porto Alegre. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 17, p. 40-46, 1995.

Krug, L. P, Lunge, V. R, Ikuta, N, Fonseca, A. S, Cheinquer, H, Ozaki, L. S, Barros, S. G. Hepatitis C virus genotypes in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Medical and biological research*, v. 29, p. 1629-1632, 1996.

Kupek, E. Tranfusion risk for hepatitis B, hepatitis C, and HIV in the State of Santa Catarina, Brazil, 1991-2001. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 8, p. 236-240, 2004.

Lau, J. Y, Davis, G. L, Kniffen, J, Qian, K. P, Urdea, M. S, Chan, C. S, Mizokami, M, Neuwald, P. D, Wilber, J. C. Significance of serum hepatitis C

virus RNA levels in chronic hepatitis C. *Lancet*, v. 341, p. 1501-1504, 1993. Erratum in: *Lancet* 1993 Aug 21;342(8869):504.LAU, 1993.

Lazzarini, F. A. S, Andrade, D, Rossi, L. A, Ferraz, A. E. P. Incidência de soroconversão para o vírus da hepatite C após a implementação de programa de prevenção e controle em unidade de hemodiálise. *Revista Latino Americana de Enfermagem*, V. 8, p. 7-12, 2000.

Lin, C. K, Chu, R, Li, K. B, Leong, S. A study of hepatitis C virus antibodies and serum alanine amino transferase in blood donors in Hong Kong Chinese. *Vox Sanguinis*, v. 62, p. 98-101, 1992.

Liou, T. C, Chang, T. T, Young, K. C, Lin, X. Z, Lin, C. Y, Wu, H. L. Detection of HCV RNA in saliva, urine, seminal fluid, and ascites. *Journal of Medical Virology*, v. 37, p.197-202, 1992.

Lopes, E. P. A, Gouveia, E. C, Albuquerque, A .C. C, Sette, L. H. B. C, Mello, L. A, Moreira, R. C, Coelho, M. R. C. D. Determination of cut-off value of serum alanine aminotransferase in patients undergoing hemodialysis, to identify biochemical activity in patients with hepatitis C viremia. *Journal of Clinical Virology*, v. 35, p. 298-302, 2006.

Lunel, F, Mariotti, M, Cresta, P, De la Croix, I, Huraux, J. M, Lefrere, J. J. Comparative study of conventional and novel strategies for the detection of hepatitis C virus RNA in serum: amplicor, branched-DNA, NASBA and in-house PCR. *Journal of Virological Methods*, v. 54, p. 159-171, 1995.

Lunge, V. R, Ikuta, N, Fonseca, A. S. K, Marques, E. K, Cheinquer, H. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in North and Northeast regions from Brazil. In: XX World Congress of Pathology and Laboratory Medicine, São Paulo, p. 81-86, 1999.

Lunge, V. R, Simon, D, Ikuta, N. Métodos de diagnóstico genético-molecular. *In* Marques EK. Diagnóstico genético-molecular. Editora ULBRA, p. 27 – 51, 2003.

Lyra, A. C, Fan, X, Bisceglie, A. M. D. Molecular biology and clinical implication of hepatitis C virus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 37, p. 691-695, 2004.

Manzin, A, Bagnarelli, P, Menzo, S, Giostra, F, Brugia, M, Francesconi, R, Bianchi, F. B, Clementi, M. Quantitation of hepatitis C virus genome molecules in plasma samples. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 32, p. 1939-1944, 1994.

Marin, M. G, Bresciani, S, Puoti, M, Rodella, A, Gussago, A, Ravaggi, A, Pizzocolo, G, Albertini, A, Cariani, E. Clinical significance of serum hepatitis C virus (HCV) RNA as marker of HCV infection. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 32, p. 3008-3012, 1994.

Marques, A. B, Pereira, D. C, Ribeiro, R. C. H. M. Motivos e frequência de internação dos pacientes com IRC em tratamento hemodialítico. *Arquivos de Ciência da Saúde*, v.12, p.67-72, 2005.

Martell, M, Gomez, J, Esteban, J. I, Sauleda, S, Quer, J, Cabot, B, Esteban, R, Guardia, J. High-throughput real-time reverse transcription-PCR quantitation of hepatitis C virus RNA. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 37, p. 327-332, 1999.

Mathei, C, Robaeys, G, van Damme, P, Buntinx, F, Verrando, R. Prevalence of hepatitis C in drug users in Flanders: determinants and geographic differences. *Epidemiology and Infection*, v. 133, p. 127-136, 2005.

McOmish, F, Yap, P. L, Dow, B. C, Follett, E. A, Seed, C, Keller, A. J, Cobain, T. J, Krusius, T, Kolho, E, Naukkarinen, R. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 32, p. 884-892, 1994.

Medeiros, M. T. G, Lima, J. M. C, Lima, J. W. O, Campos, H. H, Medeiros, M. M. C, Coelho, J. M. Prevalência e fatores associados à hepatite C em pacientes de hemodiálise. *Revista de Saúde Pública*, v. 38, p. 187-193, 2004.

Mizuno, M, Higuchi, T, Kanmatsuse, K, Esumi, M. Genetic and Serological Evidence for Multiple Instances of Unrecognized Transmission of Hepatitis C Virus in Hemodialysis Units. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 36, p. 2926-2931, 1998.

Moreira, R. C, Lemos, M. F, Longui, C. A, Granato, C. Hepatitis C and Hemodialysis: A Review. *Jornal Brasileiro de Doenças Infecciosas*, v. 9, p. 269-275, 2005.

Munoz, G, Velasco, M, Thiers, V, Hurtado, C, Brahm, J, Larrondo-Lillo, M, Guglielmetti, A, Smok, G, Brechot, C, Lamas, E. Prevalence and genotypes of hepatitis C virus in blood donors and in patients with chronic liver disease and hepatocarcinoma in a Chilean population. *Revista Medica de Chile*, v. 126, p. 1035-1042, 1998.

Naghettini, A. V, Daher, R. R, Martin, R. M. B, Doles, J, Vanderborght, B, Yoshida, C. F. T, Rouzere, C. Soroprevalência do Vírus da Hepatite C na População em Diálise de Goiânia, GO. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 30, p. 113-117, 1997.

Nolte, F. S. Hepatitis C genotyping: clinical implications and methods. *Molecular Diagnosis*, v. 6, p. 265-277, 2001.

Oethinger, M, Mayo, D. R, Falcone, J, Barua, P. K, Griffith, B. P. Efficiency of the Ortho VITROS Assay for Detection of Hepatitis C Virus-Specific Antibodies Increased by Elimination of Supplemental Testing of Samples with Very Low Sample-to-Cutoff Ratios. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 43. p. 2477-2480, 2005.

Ogarkov, P. I, Malyshev, V. V, Tokmakov, V. S, Smirnov, A. V. Epidemiological features of virus hepatitis in the Russian army. *Minerva Gastroenterology and Dietology*, v. 50, p. 165-169, 2004.

Okuda, K, Yokosuka, O. Natural history of chronic hepatitis C in patients on hemodialysis: Case control study with 4-23 years of follow-up. *World Journal of Gastroenterology*, v. 10, p. 2209-2212, 2004.

Oliva, J. A, Maymo, R, M, Carrio, J, Delgado, O, Mallafre, J. M. Late seroconversion of C virus markers in hemodialysis patients. *Kidney International*, v. 43, p. 153-156, 1993.

Oliveira, M. L. A, Bastos, F. I, Sabino, R. R, Paetzold, U, Schreier, E, Pauli, G, Yoshida, C. F. T. Distribution of HCV genotypes among different exposure categories in Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 32, p. 279-282, 1999.

Paltanin, L. F, Reiche, E. M. V. Soroprevalência de anticorpos antivírus da hepatite C em doadores de sangue, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 36, p. 393-399, 2002.

Pawlotsky, J. M. Use and interpretation of virological testes for hepatitis C. *Hepatology*, v. 36, p. 65 – 73, 2002.

Pereira, H. M. V, Cavalheiro, N. P, Tengan, F. M, Melo, C. E, Mello, E. S, Barone, A. A. Patients with chronic hepatitis C and normal tranaminases. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 47, p. 247-251, 2005.

Pogam, S. L, Chapois, D, Christen, R, Dubois, F, Barin, F, Goudeau, A. Hepatitis C in a Hemodialysis Unit: Molecular Evidence for Nosocomial Transmission. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 36, p. 3040-3043, 1998.

Pradat, P, et al. Prevalence of hepatitis C infection among general practice patients in the Lyon area, France. *European Journal of Epidemiology*, v. 17, p. 47-51, 2001.

Prati, D., Taioli, E., Zanella, A., Torre, E. D., Butelli, S., Del Vecchio, E., Vianello, L., Zanuso, F., Mozzi, F., Milani, S., Conte, D., Colombo, M., Sirchia, G. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. *Annals of Internal Medicine*, v. 137, p. 1-9, 2002.

Pujol, F. H, Ponce, J. G, Lema, M. G, Capriles, F, Devesa, M, Sirit, F, Salazar, M, Vasquez, G, Monsalve, F, Blitz-Dorfman, L. High Incidence of Hepatitis C Virus Infection in Hemodialysis Patients in Units with High Prevalence. *Journal of clinical Microbiology*, v. 34, p. 1633-1636, 1996.

Puoti, C. HCV carriers with persistently normal ALT Levels: not too much healthy, not true patients. *Romanian Journal of Gastroenterology*, v. 13, p. 329-332, 2004.

Ré, V, Gallego, S, Trevino, E, Barbás, G, Dominguez, C, Elbarcha, O, Bepre, H, Contigiani, M. Evaluation of five screening test licensed in Argentina for detection of hepatitis C virus antibodies. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, p. 303-307, 2005.

Richter, S. S. Laboratory Assays for Diagnosis and Management of Hepatitis C Virus Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, p. 4407-4412, 2002.

Saab, S, Brezina, M, Gitnick, G, Martin, P, Yee, H. F. Hepatitis C screening strategies in hemodialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases*, v. 38, p. 91-97, 2001.

Saeed, A. A, al-Admawi, A. M, al-Rasheed, A, Fairclough, D, Bacchus, R, Ring, C, Garson, J. Hepatitis C virus in Egyptian blood donors in Riyadh. *Lancet*, v. 33, p. 359-360, 1991.

Salama, G, Rostaing, L, Sandres, K, Izopet, J. Hepatitis C Infection in French Hemodialysis Units: A Multicenter Study. *Journal of Medical Virology*, v. 61, p. 44-51, 2000.

Santana, G. O, Cotrim, H. P, Mota, E, Parana, R, Santana, N. P, Lyra, L. Anticorpos contra o vírus C da hepatite em pacientes sob programa de hemodiálise em Salvador, BA, Brasil. *Arquivos de Gastroenterologia*, v. 38, p. 24-31, 2001.

Santana, N. P, Freitas, L. A. R, Lyra, A. C, Paraná, R, Santana, G, Trepo, C, Lyra, L. G. C. Liver Histological Alterations in Patients With Chronic Hepatitis C and Normal ALT Levels in the City of Salvador, Northeast-Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 9, p. 134-141, 2005.

Sarrazin, C, Teuber, G, Kokka, R, Rabenau, H, Zeuzem, S. Detection of residual hepatitis C virus RNA by transcription-mediated amplification in patients with complete virologic response according to polymerase chain reaction-based assays. *Hepatology*, v. 32, p. 818-823, 2000.

Saxena, A. K, Panhotra, B. R, Sundaram, D. S, Naguib, M, Venkateshappa, C. K, Uzzaman, W, Mulhim, K. L. Impact of dedicated space, dialysis equipment, and nursing staff on the transmission of hepatitis C virus in a hemodialysis unit of the Middle East. *American Journal of Infection Control Online*, v. 31, p. 26-33, 2003.

Schneeberger, P. M, Keur, I, Vliet, W, Hoek, K, Boswijk, H, Loon, A. M, Dijk, W. C, Kauffmann, R. H, Quit, W, Doorn, L. Hepatitis C virus infections in dialysis centers in the Netherlands: a national survey by serological and molecular methods. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 36, p. 1711-1715, 1998.

Schwambach, W. Prevalência do vírus da hepatite C (HCV) e genótipos em doadores de sangue do hemocentro regional de Passo Fundo (Hemopasso). Canoas, Dissertação de Mestrado (Diagnóstico Genético e Molecular), Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), p. 67, 2005.

Seeff, L. B, Miller, R. N, Rabkin, C. S, Buskell-Bales, Z, Straley-Eason, K. D, Smoak, B. L, Johnson, L. D, Lee, S. R, Kaplan, E. L. 45-Year follow-up of hepatitis C virus infection in healthy young adults. *Annals of Internal Medicine*, v. 132, p. 105-111, 2000.

Shamshirsaz, A. A, Kamgar, M, Bekheirnia, M. R, Ayazi, F, Hashemi, S. R, Bouzari, N, Habibzadeh, M. R, Pourzahedgilani, N, Broumand, V, Shamshirsaz, A. A, Moradi, M, Borghei, M, Haghighi, N. N, Broumand, B. The role of hemodialysis machines dedication in reducing Hepatitis C transmission in the dialysis setting in Iran: A multicenter prospective interventional study. *Nephrology*, v. 5, p. 1-5, 2004.

Silva, C. M. D. e Rossetti, M. L. R. Hepatite C e testes diagnósticos. *Caderno de Farmácia*, v. 17, p. 111-115, 2001.

Silva, L. K, Silva, M. B. S, Lopes, G. B, Rodart, I. F, Costa, F. Q, Santana, N. P, Paraná, R, Santana, A, Reis, M. G. Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C e genótipos entre hemofílicos no Estado da Bahia, nordeste do Brasil: análise de parâmetros sorológicos e virológicos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 38, p. 496-502, 2005.

Silva, L. K, Silva, M. B. S, Rodart, I. F, Lopes, G. B, Costa, F. Q, Melo, M. E, Gusmão, E, Reis, M. G. Prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV genotypes of hemodialysis patients in Salvador, Northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 39, p. 595-602, 2006.

Simmonds, P, Zhang, L. Q, Watson, H. G, Rebus, S, Ferguson, E. D, Balfe, P, Leadbetter, G. H, Yap, P. L, Peutherer, J. F, Ludlam, C. A. Hepatitis C quantification and sequencing in blood products, haemophiliacs, and drug users. *Lancet*, v. 336, p. 1469-1472, 1990.

Simmonds, P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus – 15 years on. *Journal of General Virology*, v. 85, p. 3173-3188, 2004.

Souza, K. P, Luz, J. A, Teles, S. A, Carneiro, M. A. S, Oliveira, L. A, Gomes, A. S, Dias, M. A, Gomes, S. A, Yoshida, C. F. T, Martins, R. M. B. Hepatitis B and C in the hemodialysis unit of Tocantis, Brazil: serological and molecular profiles. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, p. 599-603, 2003.

Strader, D. B, Wright, T, Thomas, D. L, Seef, L. B. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology*, v. 39, p. 1147-1170, 2004.

Strauss, E. Hepatite C. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 34, p. 69-82, 2001.

Stuyver, L, Wyseur, A, van Arnhem, W, Hernandez, F, Maertens, G. Second-generation line probe assay for hepatitis C genotyping. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 34, p. 2259-2266, 1996.

Stuyver, L, Wyseur, A, Van Arnhem, W, Lunel, F, Laurent-Puig, P, Pawlotsky, J. M, Kleter, B, Bassit, L, Nkengasong, J, Van Doorn, L. J. Hepatitis C virus genotyping by means of 5' UR/core line probe assay and molecular analysis of untypeable samples. *Virus Research*, v. 38, p. 137-157, 1995.

Sy, T e Jamal, M. M. Epidemiology of Hepatitis C Virus (HCV) Infection. *International Journal of Medical Sciences*, v. 3, p. 41-46, 2006.

Touzet, S, Kraemer, L, Colin, C, Pradat, P, Lanoir, D, Bailly, F, Coppola, R. C, Sauleda, S, Thursz, M. R, Tillmann, H, Alberti, A, Braconier, J. H, Esteban, J. I, Hadziyannis, S. J, Manns, M. P, Saracco, G, Thomas, H. C, Trepo, C. Epidemiology of hepatitis C virus infection in seven European Union countries: a critical analysis of the literature. HENCORE Group (Hepatitis C European Network for Cooperative Research). European Journal of Gastroenterology & Hepatology, v. 12, p. 667-678, 2000.

Umlauf, F, Gruenewald, K, Weiss, G, Kessler, H, Urbanek, M, Haun, M, Santner, B, Koenig, P, Keeffe, E. B. Patterns of hepatitis C viremia in patients receiving hemodialysis. The American Journal of Gastroenterology, v. 92, p. 73-78, 1997.

Uribe, M, Mendez-Sanchez, N. Hepatitis C in Mexico. Revista de Gastroenterología de México, v. 67, p. S7-S8, 2002.

Valtuille, R, Moretto, H, Lef, L, Rendo, P, Fernandez, J. L. Decline of high hepatitis C virus prevalence in a hemodialysis unit with no isolation measures during a 6-year followup. Clinical Nephrology, v. 57, p. 371-375, 2002.

Van Damme, P, Thyssen, A, Van Loock, F. Epidemiology of hepatitis C in Belgium: present and future. Acta Gastro-enterologica Bélgica, v. 65, p. 78-79, 2002.

Vasconcelos, H. C, Yoshida, C. F, Vanderborght, B.O, Schatzmayr, H. G. Hepatitis B and C prevalences among blood donors in the south region of Brazil. Memoria do Instituto Oswaldo Cruz, v. 89, p. 503-507, 1994.

Villano, S. A, Vlahov, D, Nelson, K. E, Lyles, C. M, Cohn, S, Thomas, D. L. Incidence and risk factors for hepatitis C among injection drug users in Baltimore, Maryland. Journal of Clinical Microbiology, v. 35, p. 3274-3277, 1997.

[Vitros](#) Immunodiagnostic Products Anti-HCV Reagenst Pack, Ortho-Clinical Diagnostics, 2003.

World Health Organization. Hepatitis C. 2000, disponível em www.who.int/inf-fs/en/fact164.html: Acesso em : 04/02/2006.

World Health Organization. Hepatitis C. 2003, disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/Hepc.pdf>: Acesso em: 09/05/2005.

Yen, T, Keeffe, E. B, Ahmed, A. The epidemiology of hepatitis C virus infection. Journal of Clinical Gastroenterology, v. 36, p. 47-53, 2003.

Zein, N. N. Clinical Significance of Hepatitis C Virus Genotypes. Clinical Microbiology Reviews, v. 13, p. 223-235, 2000.

Anexos

Anexo 1 (Anamnese)

1. Identificação

Caso:

Data:

Unidade:.....

...

Nome:.....

....

.....

Telefone:.....

Sexo: () F () M

Idade:.....

2. Etiologia da IRC e Tempo de Tratamento

| | | |
|----------------------|--------|--------|
| Hipertensão Arterial | ()SIM | ()NÃO |
| Diabete Melitus | ()SIM | ()NÃO |
| Glomerulopatia | ()SIM | ()NÃO |
| Outra | ()SIM | ()NÃO |

Tempo de Hemodiálise: _____ (meses)

Realizou **sempre** tratamento nesta Unidade de Hemodiálise?

() SIM () NÃO

Se trocou, há quanto tempo esta em tratamento nesta unidade:

() Não se aplica ao caso ()meses

3. Epidemiologia

Resultado do anti-VHC quando iniciou Hemodiálise:

() Não Reagente () Reagente () Não obtido esta informação

Realizou transfusões de sangue/derivados?

()SIM ()NÃO

Há quanto tempo realizou a primeira transfusão de sangue/derivados:

() Não se aplica ao caso ()meses

Número de vezes que já se submeteu a transfusão de sangue/derivados:

() Nenhuma () Uma vez () Duas a três vezes

() Quatro a cinco vezes () Mais de cinco vezes () Quantas.....

Já realizou tratamento para Hepatite C:

Sim Não

História de uso de drogas injetáveis:

SIM NÃO

Uso de Álcool (considerar uso de mais de 50 gr /dia de etanol)

Sim Não

cerveja: 1 lata* =17gr vinho: 1 cálice= 11gr destilados: 1 dose=20gr

* 2 latas= 1 garrafa

Já foi submetido há cirurgia?

SIM NÃO

Ano da cirurgia: Não se aplica

Porte da cirurgia: Peq Méd. Gr. Não se aplica

Ano da cirurgia: Não se aplica

Porte da cirurgia: Peq Méd. Gr. Não se aplica

4- Laboratório

ALT: AST: ALT/LSN da ALT:

Ht: Hb: Leucócitos: Plaquetas:

TP: BT: BDI: Albumina:

Anti-VHC: Reagente Não Reagente

PCR para VHC: Positivo Negativo Não realizou

Pool de PCR: Positivo Negativo Não realizou

Nº amostras no *pool* 1:10 1:15 1:20 outro 1:....

HBsAg: Positivo Negativo Não realizou

Anti-HBc IgG: Positivo Negativo Não realizou

Anti HIV Positivo Negativo Não realizou

Assinatura:

Data: / /

Anexo 2 (Características da Unidade)

Nome da Unidade:

Nº de pacientes maiores de 18 anos atendidos nesta Unidade:

Relação Nº de pacientes/ Nº de funcionários:

(Considerar apenas funcionários que prestam atendimento direto aos pacientes)

Existe sala separada para pacientes anti-VHC regentes:

SIM NÃO

Os pacientes anti-VHC regentes são atendidos em horários separados dos demais :

SIM NÃO NÃO SE APLICA

Os funcionários atendem simultaneamente pacientes anti-VHC regentes e os demais

SIM NÃO

Os funcionários trocam de luvas quando iniciam atendimento/manipulação do paciente:

SEMPRE NUNCA AS VEZES

O sistema de linhas e filtros são reutilizados quantas vezes em média:

Não são reutilizados 2 a 5 vezes
 5 a 10 vezes Mais de 10 vezes

Nesta unidade os pacientes compartilham que tipo de utensílios/aparelhos:

Não compartilham
 Compartilham

Assinatura:

Data: / /

Anexo 3 (Termo de consentimento livre e esclarecido)

Curso de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia
F. F. F. C. M. P. A. / I. S. C. M. P. A.
Serviço de Gastroenterologia Hospital N.S. da Conceição-POA
Serviço de Gastroenterologia Hospital Mãe de Deus-POA

Termo de consentimento livre e esclarecido

Título do estudo: Identificar a acurácia da técnica do *pool* de PCR como detector de marcadores de infecção pelo VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise.

Relevância do estudo: Atualmente é elevada a taxa de infecção pelo vírus da hepatite C entre os indivíduos que realizam hemodiálise, de modo que mensalmente realiza-se testes de laboratório para identificar os indivíduos infectados. Este estudo visa testar uma estratégia para o uso de testes laboratoriais de forma que possa realizar a identificação dos indivíduos infectados mais precocemente.

Objetivo do estudo: O objetivo deste estudo é verificar a capacidade de um determinado tipo de exame de sangue, *pool* de PCR, em identificar marcadores de infecção do vírus da hepatite C em portadores de insuficiência renal crônica em hemodiálise em tratamento na cidade de Porto Alegre.

Procedimentos do estudo: Esse é um estudo onde todos os pacientes serão avaliados de forma rotineira, através da realização de exames laboratoriais no soro. Além disso, será feito questionário específico sobre a doença renal e fatores de risco para o contágio viral.

Benefícios do estudo: Você poderá ou não ser beneficiado com este estudo. O principal benefício que poderá advir será a identificação da infecção pelo vírus C, com posterior investigação clínica e laboratorial da hepatite crônica causada por este vírus. Além disto, os resultados obtidos a partir desta pesquisa poderão auxiliar outras pessoas em situação semelhante, nortando futuras condutas preventivas para diminuir a chance de contágio do vírus da hepatite C.

Risco do estudo: Embora todos os procedimentos realizados neste estudo sejam os mesmos que seriam utilizados fora de protocolo de pesquisa, sua participação no presente estudo envolve riscos mínimos relacionados à punção venosa para exames laboratoriais, tais como dorimento transitório e equimose no local.

Custo e compensações: Não haverá custo adicional, caso você opte por participar deste estudo, bem como não haverá nenhuma compensação financeira por sua participação.

Sigilo: Qualquer informação obtida durante este estudo e correlacionada à você será mantida em sigilo.

A PARTICIPAÇÃO É VOLUNTÁRIA:

Sua participação neste estudo é completamente voluntária. Você pode se recusar a participar ou se retirar do estudo à qualquer época, sendo que tal decisão não irá afetar a sua assistência médica nesta Instituição, tanto no presente momento como futuramente. A assinatura deste formulário não se caracteriza como renúncia a qualquer de seus direitos legais.

Dúvidas: Caso você tenha alguma pergunta, pôr favor faça-a; nós faremos o possível para responder da melhor forma possível. Caso você tenha dúvidas futuras, você poderá contatar com o Dr. Bruno Galperim pelo telefone (51) 32316177 e o aluno do Mestrado André Costa de Souza Buriol (51) 8406-5124.

Eu discuti este estudo plenamente com os responsáveis, satisfazendo-me. Eu tenho conhecimento de que a minha participação é voluntária e que posso dele me retirar a qualquer época, sem qualquer prejuízo à minha saúde. Eu li o acima e concordo em participar deste estudo. A assinatura deste formulário não se caracteriza como renúncia a meus direitos legais.

Eu tenho conhecimento do estudo e concordo na minha participação.

Assinaturas:

_____ / ____ / ____
Participante ou Representante legal Data

_____ / ____ / ____
Investigador que solicitar o termo de consentimento Data