

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL**

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA HEPATITE C EM PACIENTES
HEMODIALISADOS DE UMA UNIDADE DE DIÁLISE DE RECIFE/PE.**

ANA CECÍLIA CAVALCANTI DE ALBUQUERQUE

**RECIFE
2003**

ANA CECÍLIA CAVALCANTI DE ALBUQUERQUE

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA HEPATITE C EM
PACIENTES HEMODIALISADOS DE UMA UNIDADE DE DIÁLISE DE
RECIFE/PE.**

Dissertação apresentada ao colegiado do Mestrado em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Co-orientadora: Dr^a. Regina Célia Moreira

RECIFE

2003

“Cada um dos nossos pensamentos não é mais do que um instante em nossas vidas. De que serviria a vida se não fosse para corrigir os erros, vencer nossos preconceitos e, a cada dia, alargar nosso coração e nossos pensamentos?”

Nós utilizamos cada dia para alcançar um pouco mais de verdade.

Quando chegarmos ao fim, vocês dirão então, o que é que é que valeu nossa pena.

Romain Rolland – Jean Christophe

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

Antonio Faustino e Nereuda Gomes pelo amor, incentivo, paciência, preocupação, sabedoria,...É uma dádiva de Deus ser fruto desses seres humanos que estão sempre torcendo pelo meu desempenho e sucesso. Meu eterno agradecimento.

À minha filha Beatriz e ao meu marido Edson Sena pela paciência, gratidão, amor, carinho, força e por terem tornado à minha vida mais doce, serena e simplesmente maravilhosa.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, pelo ar, pelo sol, pelas pessoas, pelas oportunidades,...

Aos meus Irmãos Cynthia, Marco Antonio, Antonio Henrique e Rafael pelo incentivo, amor, carinho e compreensão.

A minha querida orientadora Prof^a. Rosângela Coêlho pela confiança, amizade, dedicação e pela disposição do dia-a-dia.

A minha querida co-orientadora Regina Célia pelo apoio, profissionalismo, amizade, dedicação e principalmente pelo aprendizado em momentos da minha vida.

Ao Laboratório de Imunopatologia Keiso Azami (LIKA) na pessoa do Diretor Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho, por ter possibilitado a realização desta pesquisa.

A todos do setor de Virologia do LIKA , Andréa Rangel, Luciano Melo, Rosana Maria, D. Celestina...Que sempre me apoiaram e contribuíram para este trabalho.

A todos dos setores de Imunologia, Biologia Molecular e Microscopia Eletrônica por cederem seus espaços físicos para realização desse estudo.

A Dra. Luiza Terezinha, Diretora do Departamento de Virologia e Dra. Júlia Fellipe, Diretora da Microbiologia Médica do Instituto Adolfo Lutz - São Paulo pelo apoio e suporte.

Aos amigos: Marcílio Lemos, Isabel Oba, Ângela Spina, Cláudia Saraceni, Alessandra Stilhano, Adriana Parise que fazem o setor de Hepatites Virais do Instituto Adolfo Lutz – São Paulo pelo empenho, dedicação, amizade e competência para a realização desse estudo.

A todos do Mestrado em Medicina Tropical, Dr. Ricardo Ximenes, Jupira e especialmente a Walter pelo empenho e por todas as orientações prestadas desde o início do curso.

Aos colegas do Departamento de Virologia do Laboratório Central de Pernambuco LACEN/FUSAM pelo incentivo e apoio.

A todos os profissionais e pacientes da Nefroclínica, pela dedicação e paciência, especialmente ao Dr. Mavial Moraes Diretor Médico pelo seu esforço, amizade, índole e confiança nesse trabalho. Meu eterno agradecimento.

A Ulisses Montarroyos pela grande ajuda na análise estatística.

À amiga Morgana Gadelha, que embora algum tempo distante, sempre me incentivou, desde a vida acadêmica até os dias atuais.

Ao CNPq através do seu programa de apoio aos bolsistas.

ÍNDICE	Pág.
Lista de abreviaturas	I
Lista de figuras, tabelas e gráficos	III
Resumo	VI
Abstract	VII
1- INTRODUÇÃO	01
1.1- Histórico	01
1.2- O agente	02
1.2.1- Classificação	06
1.3- Manifestações clínicas	08
1.4- Diagnóstico laboratorial	10
1.5- Aspectos epidemiológicos	15
2- OBJETIVOS	25
2.1- Geral	25
2.2- Específicos	25
3- CASUÍSTICA E MÉTODOS	26
3.1- Desenho do estudo	26
3.2- Definição das variáveis	26
3.3- Aspectos éticos	27
3.4- Centro de diálise	28
3.5- População de estudo	29
3.6- Coleta e processamento de dados	29
3.7- Coleta e armazenamento das amostras	30

3.8- Métodos	31
3.8.1- Ensaio imunoenzimático – ELISA	31
3.8.2- Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	32
3.8.2.1- Extração do RNA	32
3.8.2.2- Síntese do DNA complementar – cDNA	33
3.8.2.3- “nested” PCR	33
3.8.2.4- Identificação do material amplificado	34
3.8.3- “Immunoblot” – I.B.	34
3.8.4- Seqüenciamento – Caracterização genotípica	35
3.9- Índice Kappa (K)	37
4.0- Plano de descrição e análise	37
5- Resultados	38
6- Limitações metodológicas	54
7- Discussão	56
8- Conclusões	67
9- Sugestão	67
10- Referências bibliográficas	68
11- Anexos	86

LISTA DE ABREVIATURAS

- ALT - Alanina aminotransferase
- anti-HCV – Anticorpo contra o vírus C
- bp – Pares de base
- cDNA – Ácido desoxirribonucléico complementar
- D.O - Densidade ótica
- DEPEC – Dietil pirocarboneto
- DNA – Ácido desoxirribonucléico
- dNTP – Desoxirribonucleosídeos trifosfatados
- DTT – Dithiothreitol
- ELISA – Ensaio Imunoenzimático
- FDA – Food and Drug Administration
- gp – Glicoproteína
- HCC – Carcinoma hepatocelular
- HCV – Vírus da hepatite C
- HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
- HNANB – Hepatite não-A e não-B
- I.B. – Immunoblot
- IAL – Instituto Adolfo Lutz
- IgG – Imunoglobulina G
- L – Litro
- mL - Mililitro
- NCR – Região não codificadora
- ng – Nanograma
- nm – Nanômetro
- OMS – Organização Mundial de Saúde
- ORF – Fase de leitura aberta
- PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
- RHV – Região hiper variável
- RNA – Ácido ribonucléico
- RT – Transcriptase reversa
- TA – Temperatura ambiente
- UI – Unidades internacionais

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

FIGURAS:

Figura 1: Eletromicrografia do vírus da hepatite C

Figura 2: Representação esquemática do genoma do HCV.

Figura 3: Árvore filogenética representando os tipos de 1 a 6 do HCV e seus subtipos.

Figura 4: Seqüências das amostras com subtipo 1a do HCV

Figura 5: Seqüências das amostras com subtipo 3a do HCV

Figura 6: Seqüências das amostras com subtipo 1b do HCV

TABELAS:

Tabela 1: Seqüência correspondente de cada um dos “primers” utilizados na reação de PCR.

Tabela 2: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à faixa etária

Tabela 3: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo ao sexo

Tabela 4: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a sala para realização do tratamento

Tabela 5: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o tempo de realização de hemodiálise

Tabela 6. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a realização e número das transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados

Tabela 7: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o período da transfusão sanguínea e/ou hemoderivados

Tabela 8. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à realização de tatuagem e uso de drogas injetáveis

Tabela 9: Comparação dos resultados obtidos pelas técnicas do ELISA e da PCR

Tabela 10: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à faixa etária e a positividade para o HCV

Tabela 11. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à faixa etária agrupada e a positividade para o HCV

Tabela 12. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo ao sexo e a positividade para o HCV

Tabela 13. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a sala para realização do tratamento e a positividade para o HCV

Tabela 14. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o tempo de hemodiálise e a positividade para o HCV

Tabela 15. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a realização e número de transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados e a positividade para o HCV

Tabela 16. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o período das transfusões e a positividade para o HCV

Tabela 17: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o número e período das transfusões sangüíneas e/ou hemoderivados e tempo de hemodiálise.

Tabela 18 . Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o número de transfusões sangüíneas e/ou hemoderivados e o tempo de hemodiálise.

Tabela 19: Modelo final da regressão logística entre o tempo de hemodiálise, número e período da transfusão sangüínea e/ou hemoderivados e a positividade para o HCV em hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002

GRÁFICOS:

Gráfico 1. Positividade para anticorpos anti-HCV em hemodialisados

Gráfico 2: Distribuição dos genótipos circulantes na clínica estudada

RESUMO

A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) é um importante problema de saúde pública em todo mundo. Esta infecção acomete cerca de 3% da população mundial. No Brasil, existe um percentual de positividade para o HCV de 1,2%, baseado em dados originários dos exames de triagem de doações de sangue. A principal via de transmissão é a parenteral e por isso as populações mais atingidas são politransfundidos, usuários de drogas injetáveis e pacientes renais crônicos que realizam tratamento de hemodiálise. A alta prevalência da infecção pelo HCV nesses pacientes vêm sendo relatada por vários autores em todo o mundo. No Brasil, estudos têm mostrado que pacientes hemodialisados têm uma prevalência de anti-HCV de 12,5% - 65%. Os objetivos deste estudo foram estimar a prevalência da infecção pelo HCV em um centro de diálise da grande Recife; associar a positividade para o HCV em relação a alguns fatores de risco; conhecer os genótipos do HCV circulantes neste centro e estimar a presença de pacientes com o HCV RNA e anti-HCV não reagente. Foram analisados 250 pacientes com idade variando de 17 a 92 anos e de ambos os sexos. Dados epidemiológicos desses pacientes foram obtidos para a determinação dos fatores de riscos para esta infecção. A pesquisa de anticorpos foi realizada pelo ELISA de 3ª geração e para a detecção do HCV RNA foi utilizada a técnica de RT/PCR. Do produto amplificado foi realizada a técnica do seqüenciamento da região 5' NCR do genoma viral. Foi observada uma prevalência de 8,4% (21/250) da infecção e os genótipos: 1a (42%), 3a (37%) e 1b (21%). Em relação aos fatores de riscos, como o tempo de hemodiálise, número e período das transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados, foi encontrada uma associação estatisticamente significativa ($p < 0,05$). A prevalência encontrada foi baixa em relação a outros estudos Brasileiros. Observou-se uma excelente concordância do ELISA com a PCR ($K=0,946$). A homogeneidade dos genótipos reflete uma transmissão nosocomial, porém são necessários estudos retrospectivos e prospectivos nesse centro para avaliar o período em que os pacientes adquirem esta infecção.

ABSTRACT

Hepatitis C (HCV) viral infections it is an important problem of public health. This infection attacks about 3% of the world population. In Brazil, the HCV prevalence is 1,2%, based in original blood donators selection exams data. The main transmission way is the parental and it reache populations that is uses injected drugs and patient with chronic renal disease that accomplish hemodialysis treatment. The high prevalence of the infection for HCV in those patient have been reported by several authors all over the world. In Brazil, studies had shown that patient in hemodialysis has a prevalence of anti-HCV of 12,5% - 65%. The objectives of this study is to esteem the prevalence of HCV infection in a dialysis's center of great Recife; to associate HCV positivity to some factors of risks; to know the genotypes of circulating HCV in this center and identify the patients with HCV RNA but without anti-HCV. Two hundred and fifty patients from both sexes were analyzed. The ages varied from 17 to 92 years old. The epidemic data of these patients were obtained for the infection risk factors determination. The research of antibodies was accomplished by ELISA of 3rd generation and the technique of RT/PCR was used for HCV RNA'S detection. In order to determine viral genotype, sequencing of 5'NCR region was done. Our results showed a prevalence of 8,4% of HCV infection and the presence of genotypes 1a (42%), 3a (37%) and 1b (21%). As far as factors of risks, hemodialysis's time, number and time of the blood's transfusions, it was found association statistically significative ($p < 0,05$). The prevalence was low in relation to other Brazilian studies. An excellent agreement of ELISA was observed with PCR ($k= 0,946$). The homogeneity of the genotypes reflects a transmission nosocomial however, they are necessary studies retrospective and prospective in that center in order to evaluate the time which the patients acquire this infection.

1- INTRODUÇÃO

1.1- HISTÓRICO

O termo hepatite não A não B (HNANB) foi introduzido em 1974 por Prince et al, para designar as hepatites transmissíveis ao homem e ao chimpanzé que não eram causadas nem pelo vírus da hepatite A (HAV), nem pelo vírus da hepatite B (HBV). A ocorrência dessas hepatites alertou os pesquisadores para a realização de experimentos com o objetivo de se identificar possíveis agentes. O vírus da hepatite C (HCV) foi então descoberto em 1989 por Choo et al, valendo-se da técnica de clonagem de uma cópia do DNA complementar, extraído do plasma de um chimpanzé infectado experimentalmente com o sangue de um portador de hepatite HNANB.

Pelas dificuldades de obtenção do antígeno nos sistemas rotineiramente utilizados para outros vírus como cultura de células, Choo et al (1989) empregaram recursos alternativos para identificar o genoma do HCV. Concluíram inicialmente que se tratava de um RNA de tamanho que poderia variar entre 5.000 e 10.000 kb. Com essas informações, construíram bibliotecas genômicas de cDNA em bacteriófago λ gt11, a partir das amostras de chimpanzés experimentalmente infectados. Assim, identificaram o clone 5-1-1 derivado do agente responsável pelos casos das HNANB (Choo et al, 1989).

Naquele mesmo ano, Kuo et al conseguiram expressar o clone 5-1-1 em leveduras, produzindo assim proteínas do HCV, que seriam utilizadas nos primeiros testes de diagnóstico.

Em 1994, Kaito et al, por meio da técnica da imunomicroscopia eletrônica, identificaram partículas virais, a partir de plasmas de pré-doadores de sangue, com dosagem elevada da enzima alanina aminotransferase (ALT) e concentração de RNA acima de 4×10^7 genomas/mL.

Os estudos sobre a hepatite C(HC) vêm crescendo desde a descoberta do vírus e, por meio destes conhecimentos, testes sorológicos foram padronizados para a detecção de anticorpos específicos anti-HCV (Choo et al, 1989). Estes testes permitiram constatar que o HCV era responsável por cerca de 90% dos casos de hepatites pós-transfusionais (Sherlock, 1994).

1.2- O AGENTE

O HCV mede em torno de 50 a 60nm de diâmetro; apresenta um envoltório lipídico de aproximadamente 7nm de espessura que envolve o nucleocapsídeo de morfologia esférica. Quando visualizado pela microscopia eletrônica apresenta um tamanho em torno de 30 a 35nm (Kaito et al, 1994) (Figura 1).

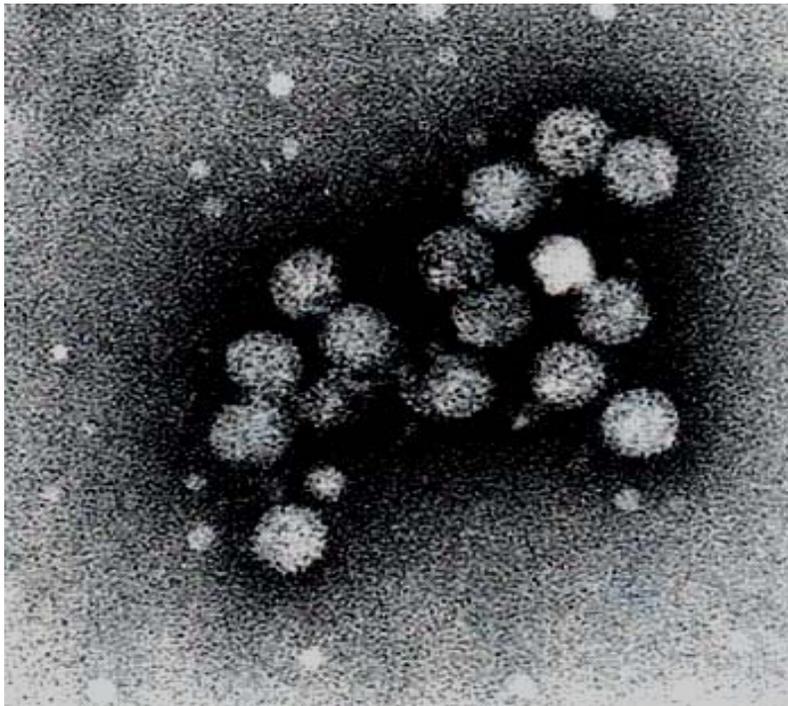


Figura 1: Eletromicrografia do vírus da hepatite C.

Fonte: [www. epidemic.org/index2.html](http://www.epidemic.org/index2.html)

O genoma do HCV é constituído de RNA de fita simples, de polaridade positiva e de aproximadamente 9.600 nucleotídeos. Apresenta regiões não codificadoras nas extremidades 5' e 3' e um único código aberto de leitura, que codifica uma poliproteína de aproximadamente 3.000 aminoácidos.

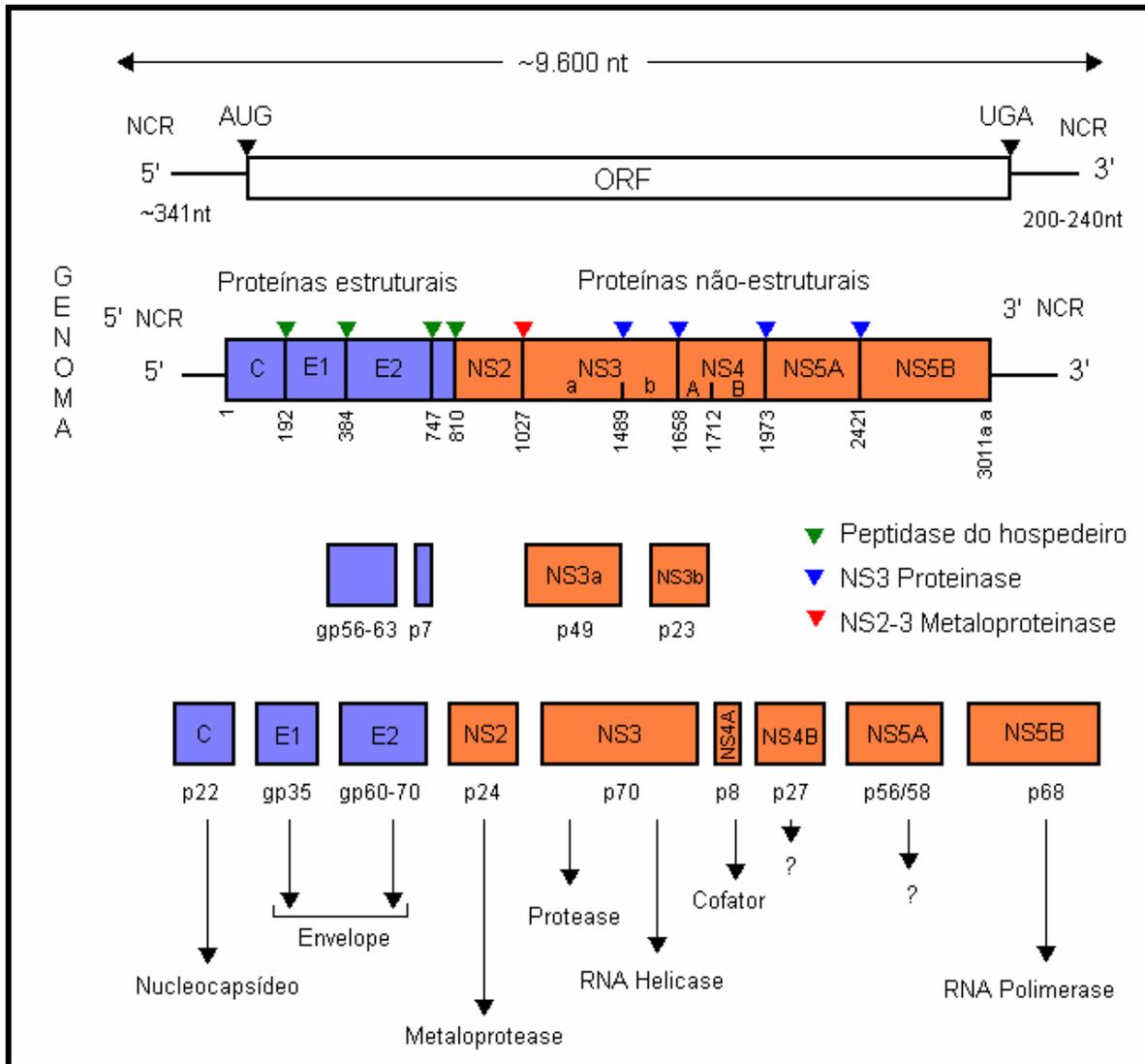


Figura 2: Representação esquemática do genoma do HCV.

Fontes : Mc Gravey, (1998); Suzuki et al, (1999)

Essa poliproteína quando clivada com auxílio de proteases virais e do hospedeiro, dará origem a um grande número de proteínas estruturais e não estruturais (Mc Garvey et al, 1998; Cohen, 1999; Lohmann et al, 1999).

A região não codificadora 5' (5'NCR), formada por aproximadamente 340 nucleotídeos (Van Doorn et al, 1994; Purcell 1997), é a porção do genoma mais conservada, sendo a escolhida para a amplificação pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e para a caracterização dos diversos genótipos do HCV (Mc Garvey et al, 1998). Esta região parece ter papel importante como sítio de entrada do RNA viral aos ribossomos.

A região 3' pode apresentar diferenças entre os isolados; pode ainda possuir cauda de poli-A ou poli-U, dependendo da cepa, porém é uma região conservada entre os genótipos. As funções da região 3' ainda não estão bem definidas. Parece que esta região está relacionada com a síntese das fitas negativa e positiva do RNA, assim como com o processo de empacotamento das partículas virais (Van Doorn et al, 1994; Purcell 1997).

As proteínas que fazem parte do HCV são as proteínas do nucleocapsídeo, do (core), as glicoproteínas do envelope (E1,E2) e a proteína p7, cuja função permanece desconhecida. A proteína c é conservada, com epítomos altamente imunogênicos e sua incorporação aos testes de diagnóstico permite a detecção de anticorpos em períodos mais precoce da infecção (Rice, 1996; Mc Garvey et al, 1998). As glicoproteínas do envelope são bastante variáveis, especialmente a porção amino-terminal da proteína E2, que apresenta dois domínios hipervariáveis, região hipervariável 1 (RHV1) e região hipervariável 2 (RHV2). A RHV1 é considerada a região mais variável do genoma do HCV, podendo apresentar alterações em um mesmo indivíduo infectado (Forns et al, 1999; Suzuki et al, 1999).

As proteínas do envelope E1 e E2, são prematuramente liberadas da poliproteína pela ação de enzimas catalíticas do hospedeiro.

Estas são proteínas altamente variáveis, escapando freqüentemente do sistema imune, sendo talvez, uma das causas do número elevado de portadores crônicos desta infecção (Mc Garvey, 1998).

Estudos demonstraram que anticorpos dirigidos contra a RHV1 podem proteger chimpanzés contra a infecção. Este talvez seria o caminho para a produção de uma vacina contra a infecção em humanos. A dificuldade de cultivo do HCV em culturas celulares, não tem permitido o teste de anticorpos neutralizantes "in vitro", aliado a hipervariabilidade das proteínas do envelope (Suzuki et al, 1999). A alta variabilidade da proteína E2 poderia ser a causa da resistência ao interferon observado em alguns pacientes em tratamento (Mc Garvey, 1998; Cohen, 1999; Taylor et al, 1999).

As proteínas não estruturais NS2, NS3, NS4 (A e B) e NS5 (A e B), como o próprio nome revela, não fazem parte da estrutura viral e parecem estar envolvidas na replicação e maturação do vírus (Houghton, 1996).

A proteína NS2 é uma proteína supostamente envolvida no processo de replicação viral, sendo proposta sua identificação como uma metaloprotease, por ter sua atividade estimulada pelo cloreto de zinco (Suzuki et al, 1999).

A proteína NS3 possui atividade de protease e nucleotidase, e algumas seqüências a caracterizam como uma helicase, podendo estar envolvida no processo de separação das fitas de RNA durante o processo de replicação viral e também no processo de modificação da estrutura secundária das proteínas, regulando o processo de tradução (Houghton, 1996; Mc garvey et al, 1998; Suzuki et al, 1999).

A proteína NS4 codifica duas proteínas virais, designadas NS4A e NS4B. A NS4A é uma proteína pequena, de aproximadamente 8kD que funciona como um co-fator na atividade da protease NS3, enquanto a NS4B pode participar do processo de fosforilação da NS5 (Mc garvey et al, 1998; Suzuki et al, 1999).

A proteína NS5A não apresenta uma atividade muito bem definida entretanto, sabe-se que é uma proteína fosforilada e que apresenta uma região determinante na sensibilidade ao Interferon (ISDR) (De Mitri et al, 2000). Tem sido demonstrado que a NS5A pode se ligar e inibir a proteína quinase, podendo levar à resistência antiviral dos pacientes em tratamento com interferon (Suzuki et al, 1999; Taylor et al, 1999).

A NS5B é altamente conservada, possui atividade de RNA polimerase – RNA dependente, importante no processo de replicação do RNA viral. A proteína NS5B tem sido expressa em células de insetos e tem demonstrado ser capaz de sintetizar a fita de RNA complementar sem a participação de outras proteínas do vírus (Mc garvey et al, 1998; Suzuki et al, 1999).

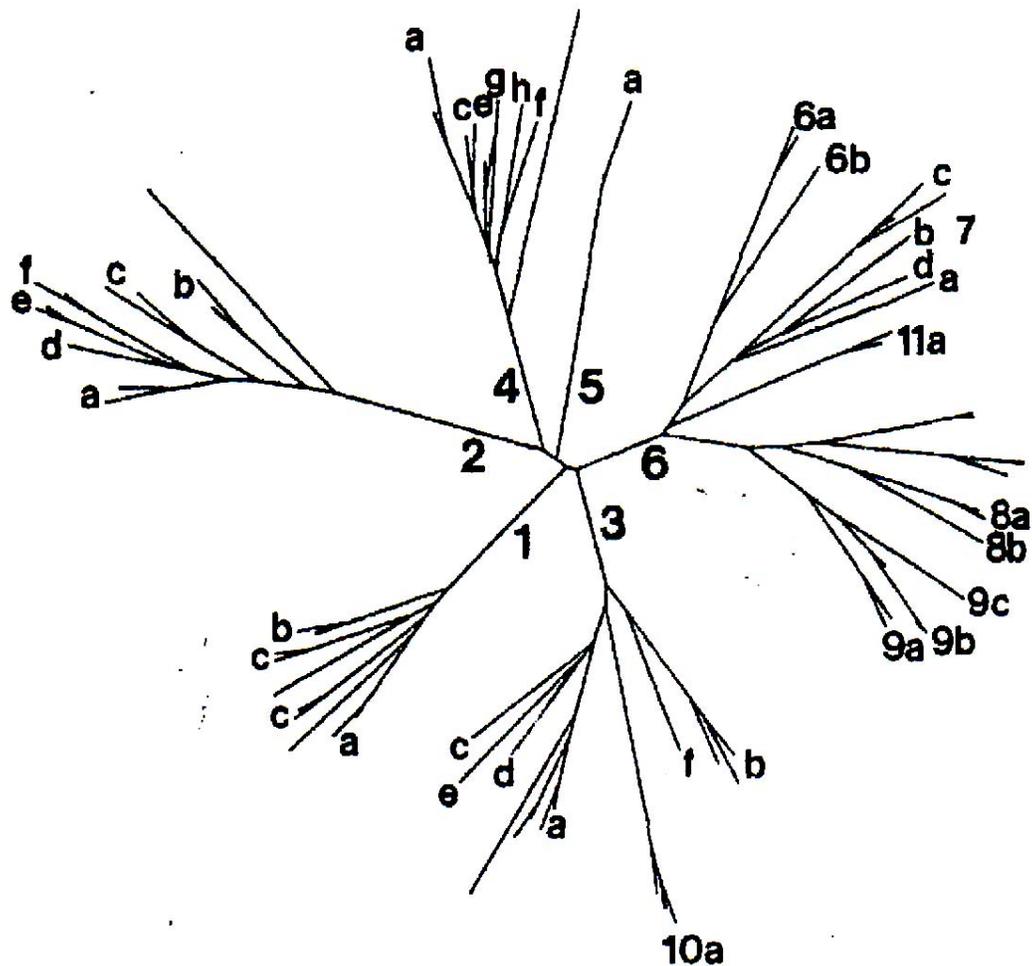
1.2.1- CLASSIFICAÇÃO

O HCV está classificado na ordem dos Nidovirales, família Flaviviridae e gênero Hepacivirus, separadamente dos outros dois gêneros da mesma família, os Flavivirus e os pestivirus (Rice et al, 1996)

A comparação estrutural entre os HCV isolados permite observar que seqüências de nucleotídeos e de aminoácidos diferem em várias regiões do genoma. A região do envelope (E1, E2/NS1) é a mais variável. Por comparação de seqüências publicadas, tem-se chegado à identificação de tipos virais distintos, cuja homologia chega até 33% entre eles (Okamoto et al, 1992; Chan et al, 1992; Mori et al, 1992; Simmonds et al, 1994).

Em 1994, Simmonds et al criaram uma classificação dos genótipos do HCV através de análise filogenética de um fragmento de 222 pares de bases da região NS-5. Nessa classificação, números arábicos foram usados para designar os genótipos e letras minúsculas para os subtipos, por ordem de descoberta (Figura 3).

Figura 3: Árvore filogenética representando os tipos de 1 a 6 do HCV e seus subtipos.



Árvore filogenética das seqüências NS5b do HCV. Seqüências nucleotídicas das posições 7975-8196 (numeradas a partir do códon de iniciação da poliproteína AUG) da região NS5b. Nos ramos maiores estão numerados os tipos e nos menores, discriminados por letras, os subtipos.

De acordo com a diversidade genética entre as várias cepas do HCV, seis genótipos, incluindo no mínimo 50 subtipos foram descritos e mostrados ter diferente distribuição geográfica (Van Doorn et al, 1994; Purcell, 1997).

Os genótipos são caracterizados por cepas com similaridade genética entre 68% e 75% e os subtipos entre 83% e 85% (Shukla et al, 1995). Quasispecies são definidas como um espectro de cepas mutantes isoladas de um mesmo indivíduo (Holland et al, 1992).

No sudeste da Ásia, foram propostos novos genótipos de 7 a 11, porém a análise filogenética mais detalhada sugere que os genótipos 7, 8, 9 e 11 podem ser classificados como genótipo 6a e o genótipo 10 poderia ser agrupado com o genótipo 3a (Purcell, 1997).

A diversidade genotípica tem implicações em muitos aspectos da doença: epidemiologia, patogênese, diagnóstico, tratamento e profilaxia (Foccacia et al, 1997).

1.3- MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A infecção pelo HCV é clinicamente heterogênea, podendo apresentar desde uma infecção aguda assintomática, até hepatite crônica de gravidade variada, levando a casos de cirrose e hepatocarcinoma (Mendes et al, 1995).

Apenas 15-20% dos pacientes se recuperam da infecção aguda pelo HCV, enquanto que cerca de 80-85% evoluem para a infecção crônica, sob diferentes apresentações histopatológicas (Alter et al, 1997; Hoofnagle, 1997; Seeff, 1997; CDC, 1998).

Após a exposição inicial, o HCV RNA pode ser detectado no sangue no período de 1 a 3 semanas. Os anticorpos são detectados em somente 50% a 70% dos pacientes no início dos sintomas, aumentando para 90% depois de 3 meses (NIH, 2002). Em um período de 4 a 12 semanas, os hepatócitos são lesados e ocorre um aumento nos níveis da enzima alanina aminotransferase (ALT) no soro.

Esse aumento pode ser mesmo antes do aparecimento dos sintomas, embora geralmente é menor do que ocorre nas hepatites agudas A e B (Marcellin, 1999). A infecção aguda pode ser severa, mas raramente é fulminante (NIH, 2002).

Cerca de 60 a 70% das pessoas infectadas não apresentam qualquer sintomatologia; 20 a 30% podem apresentar icterícia e entre 10 a 20% apresentam sintomas brandos e inespecíficos como falta de apetite, mal-estar e dor abdominal (Gonçales-Júnior et al, 1993; Hoofnagle, 1997; CDC, 1998).

O HCV é hoje considerado a causa mais significativa de doença hepática crônica de etiologia infecciosa. O mais importante da cronicidade é o progresso do fígado para fibrose, cirrose e hepatocarcinoma (HCC). Estudos mostram que os pacientes com hepatite C crônica desenvolvem cirrose após 20 anos da infecção inicial em 2-4% das crianças e mulheres jovens e 20-30% das pessoas transfundidas com idade entre 20-40 anos (NIH, 2002). Observa-se que 13,4% dos pacientes cronicamente infectados desenvolvem HCC (Degos et al, 2000).

Apesar do HCV não apresentar característica oncogênica direta, admite-se que fenômenos necro-inflamatórios observados ao longo da infecção persistente pelo HCV sejam fatores importantes no desenvolvimento do HCC (Foccacia et al, 1997). No Japão, Saito et al (1990) analisaram pacientes com HCC e verificaram a presença de marcadores para o HCV e estes não tinham os marcadores para o HBV. Os autores concluíram que poderia haver associação entre o HCV e o HCC. Estudos feitos nos Estados Unidos permitiram estimar que, o risco de pacientes com HCV desenvolverem o HCC é 10 vezes superior ao dos indivíduos HCV negativos (Yu et al, 1990).

A infecção persistente do HCV é diagnosticada pela detecção do HCV RNA no sangue por no mínimo 6 meses. Na hepatite C crônica, o nível sérico da ALT pode apresentar-se flutuante, elevado, normal ou próximo do normal (Houghton, 1996). A hipoalbuminemia sérica e o tempo de protrombina alargado constituem também fortes indícios da progressão da doença (Mendes et al, 1995).

Existe uma fraca associação entre o grau de ALT elevada e a severidade da doença. A resolução dos níveis de ALT elevado devido à terapia antiviral parece ser um importante indicador de resposta ao tratamento (NIH, 2002).

Embora ocorra algum dano hepático em função da infecção e citopatogenicidade do HCV, existe um consenso de que a resposta imune do hospedeiro, principalmente dos linfócitos T citotóxicos, desempenha o papel principal na causa do dano hepatocelular (Racz, 2000).

Existe pouca evidência de que fatores virológicos, incluindo carga viral, genótipo viral, e diversidade de quasispécies, afetem significativamente o risco de progressão para as doenças do fígado. Porém, muitos fatores do hospedeiro aumentam este risco, incluindo idade avançada na época da infecção, sexo masculino, e um estado de imunossupressão como o associado com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). A co-infecção com o vírus da hepatite B (HBV) também parecem aumentar o risco de doença progressiva do fígado (NIH, 2002).

As manifestações extra-hepáticas desenvolvem em 1-2% das pessoas com hepatite C. Podendo apresentar síndromes de origem imunológica, como sintomas reumatóides, ceratoconjuntivite, glomerulonefrite, linfomas, crioglobulinemia, alterações hematológicas (agranulocitose e anemia aplástica). Desordens psicológicas, incluindo depressão, tem sido associado ao HCV em 20-30% dos casos (NIH, 2003).

1.4- DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

A avaliação de marcadores bioquímicos é de grande importância para auxiliar no diagnóstico das hepatites virais, principalmente a ALT. Na hepatite C aguda, os valores de ALT podem variar entre 400 e 800 U/L, normalizando-se em até 60 dias, ou persistindo por até 9 meses, nos casos de infecção aguda prolongada (Gonçales, 2000).

O diagnóstico específico da infecção pelo HCV pode ser pelo método sorológico, ou seja, pela pesquisa dos anticorpos através do ensaio

imunoenzimático (ELISA) e do “Immunoblot”(I.B.) e pelo método virológico que se utiliza de técnicas moleculares para a detecção e quantificação do genoma viral, além da sua caracterização genotípica (Gretch, 1997; Brown et al, 1998; CDC, 1998;).

Ao longo do tempo, testes imunoenzimáticos foram desenvolvidos com a finalidade de melhorar sua sensibilidade e especificidade. Existem pelo menos três gerações de testes de ELISA. O de primeira geração utiliza uma proteína recombinante derivada da região NS4 do genoma, a c-100/3. Por este teste, 80% dos casos de hepatites crônicas não-A, não-B com ou sem história de exposição parenteral, foram demonstrados como sendo causados pelo HCV (Alter, 1990). Esse teste tinha uma sensibilidade relativamente baixa na detecção de anticorpos, especialmente em indivíduos imunocomprometidos, como os pacientes hemodialisados (Huang et al, 1993; Lok et al, 1993).

Em 1992, com o objetivo de aumentar a sensibilidade dos testes de 1ª geração e prevenir a transmissão do HCV em bancos de sangue, foi incorporada a proteína c22-3, derivada do nucleocapsídeo, constituindo assim os ensaios de 2ª geração que, além dos antígenos do nucleocapsídeo apresentam as proteínas não estruturais das regiões NS3 e NS4 (c200). Com isso houve um aumento na sensibilidade e especificidade, como também reduziu o intervalo de tempo entre a infecção e a detecção de anticorpos (Aach et al, 1991; Vallari et al, 1992; Brown et al, 1998).

A partir de 1994 houve a introdução dos testes de 3ª geração, nos quais foi incorporada tanto a proteína NS5 como os peptídeos do nucleocapsídeo e as proteínas não estruturais foram reconfiguradas. Os ensaios de 3ª geração aumentaram os índices de sensibilidade, elevando-os para 97% em população de alta prevalência, além de diminuir ainda mais o período da janela imunológica (Gretch et al, 1997; Brown et al, 1998).

O outro método sorológico, o I.B., também é imunoenzimático, porém realizado sobre tiras de nitrocelulose ou nylon, sensibilizadas com proteínas específicas do vírus, colocadas separadamente sobre as mesmas (Gonçales,2000). O I.B. foi desenvolvido da mesma forma que se modificavam e melhoravam os testes de Elisa, ou seja, desenvolvido em três gerações, apresentando os mesmos antígenos virais (Sampietro et al, 1996). Por este teste, os anticorpos específicos são detectados de acordo com a resposta imunológica diferente para cada antígeno da tira (Mendes et al, 1995). O I.B. apresenta alta especificidade (os de 3^a geração chegam a 100%). Estes testes foram elaborados com o objetivo de solucionar resultados falsos – positivos observados nos testes de Elisa (Gonçales, 2000).

A interpretação do I.B. é feita de acordo com o aparecimento e a intensidade de bandas específicas para os antígenos que compõem separadamente as tiras e poderão, em caso de resultados indeterminados, sugerir que o indivíduo esteja no período de soroconversão. Resultados indeterminados por este teste também são freqüentemente observados em portadores crônicos desta infecção (CDC, 1998; Terrault, 1999).

O diagnóstico virológico da infecção pelo vírus C, pode ser realizado pelos métodos de Biologia Molecular, como exemplo pela PCR. Esta é uma técnica bastante sensível e específica, permite detectar e quantificar o material genético do vírus em espécimes clínicas. A PCR tornou-se o método eleito para a detecção da viremia (Fernández et al, 1996). Várias são as aplicações desta técnica, como por exemplo, confirmação da infecção pelo HCV, validação dos testes sorológicos, monitoramento do tratamento, estudos das possíveis formas de transmissão do vírus, pesquisa do RNA viral no tecido hepático e a genotipagem (Couroucé, 1998).

A infecção aguda ou crônica pelo HCV em um paciente com um ELISA positivo poderia ser confirmado por meio de um ensaio de HCV RNA qualitativo. Ensaios manuais e semiautomatizados, tem um baixo limite de detecção de 50 a 100 UI/mL. (NIH, 2002).

Recentemente, um método de amplificação por transcrição (TMA), foi desenvolvido e apresenta limite de detecção de 5 – 10 UI/mL, mas ainda não foi aprovado para uso pelo FDA. Um simples ensaio qualitativo positivo para HCV RNA confirma replicação do HCV, mas um ensaio negativo não exclui viremia e pode refletir somente um declínio transitório da carga viral abaixo do nível de detecção do ensaio (NIH, 2002). Pacientes com hepatite C crônica tem níveis de HCV RNA (carga viral) entre 100.000 e 10.000.000 cópias/ mL de plasma. A PCR quantitativa determina a carga viral, o que é de grande importância para monitorar o tratamento, especialmente para o genótipo 1(NIH, 2003).

As técnicas moleculares permitem caracterizar o genótipo do vírus que circulam em cada região, fornecendo dados epidemiológicos importantes e fundamentais para a investigação da transmissão nosocomial do HCV em unidades de diálise (Sungur et al, 1995).

A sensibilidade do teste está ligada a escolha dos “primers” e em relação ao HCV, os “primers são construídos para a região mais bem conservada que é a 5’NCR, conferindo maior sensibilidade à reação (Bukh et al, 1992; CDC, 1998).

Tendo em vista os baixos níveis de HCV RNA presente nas amostras dos pacientes, dois tempos de amplificação (“Nested”- PCR) são usualmente feitos para aumentar a concentração da seqüência de RNA escolhida, permitindo a detecção de 10^2 - 10^3 cópias/mL do genoma viral, em pacientes soronegativos para o HCV (Sampietro et al, 1995).

A facilidade de contaminação da reação, levando a resultados falso – positivos é uma preocupação constante dos pesquisadores em todo o mundo, por isso a utilização de controle positivo e negativo na reação é necessária para diminuir este problema (Kwok & Higushi, 1989; Terrault, 1999).

A pesquisa virológica pela PCR requer cuidados importantes como no processamento e estocagem do material no laboratório. A eficácia da detecção da viremia pela PCR pode ser afetada, pois o HCV RNA é rapidamente degradado no

plasma ou soro em temperatura ambiente ou por processos de descongelamentos da amostra. Para evitar resultados falsos – negativos, as amostras de sangue que serão usadas na detecção do RNA viral deve ser obtidas, processadas, estocadas e transportadas apropriadamente, seguindo as recomendações do laboratório (Busch et al, 1992; Wang et al, 1992).

Em raros casos a presença de crioglobulinas pode ocultar a presença do HCV que está completamente seqüestrado em imunocomplexos (Agnello et al, 1992).

Pacientes imunocomprometidos, como os hemodialisados, podem apresentar resultados falso-negativos nos ELISAS, embora raramente. Por outro lado, ELISAS falso-positivos podem ocorrer em pacientes com desordens auto-imunes. Em ambos os grupos, a pesquisa do HCV RNA pela PCR é necessária para o diagnóstico de infecção crônica (NIH, 2002).

A disponibilidade dos testes de ELISA de alta sensibilidade e especificidade e a metodologia pela pesquisa do HCV RNA pela técnica da PCR, estão substituindo a realização do I.B. (Gonçales et al, 2000). Porém, o I.B. é ainda muito usado como ensaio suplementar para as pessoas que não apresentam sintomas clínicos e para àquelas diagnosticadas ELISA positivo e teste negativo para HCV RNA (NIH, 2002).

A detecção do HCV pode ser feita também pesquisando o vírus no citoplasma dos hepatócitos pelas técnicas de imuno-histoquímica ou pela PCR “*in situ*”, contribuindo para o diagnóstico precoce desta infecção, porém esta detecção não está relacionada com inflamação ou necrose hepática (Brown, 1998).

1.5- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A hepatite C tornou-se um problema sério de saúde pública, acometendo cerca de 3% da população mundial. Estima-se que 3,9 milhões (1,8%) de americanos estejam infectados com o HCV e que 2,7 milhões destes estejam cronicamente infectados. A hepatite C é causa de 8000 a 10000 mortes anualmente nos Estados Unidos (NIH, 2003). No Brasil, ainda não existem estudos capazes de estabelecer uma real prevalência da hepatite C, porém dados originários dos exames de triagem de doações de sangue na rede de hemocentros, apontam um percentual de positividade de 1,2%(BR/MS/FUNASA, 2003)

Focaccia et al (1998), realizando estudo de prevalência para as hepatites virais na população do município de São Paulo, observaram uma estimativa de prevalência de 1,42% para a hepatite C. Na população acima de 30 anos essa estimativa foi em torno de 3,0%.

Na região Nordeste, de acordo com a distribuição de casos confirmados no período de 1993 a 2001 existiam 2.011 casos de hepatite C e em Pernambuco, esse número era de 225 casos (BR/MS/FUNASA, 2003).

O índice de prevalência varia de acordo com os diferentes grupos sociais (Focaccia et al, 1997). A transmissão do HCV ocorre preferencialmente por via parenteral. O risco para aquisição dessa infecção pode ser por meio de uso de droga injetável, transfusão de sangue e/ou hemoderivados, transplante de órgãos de doadores infectados, exposição ocupacional a sangue infectado, filhos de mães infectadas, sexo com parceiro(a) infectado(a), práticas sexuais e uso de cocaína intranasal (NIH, 2002).

Devido à introdução de testes mais sensíveis para a detecção de anticorpos anti-HCV, o risco em adquirir o vírus por meio de sangue e/ou transplante de órgãos infectados diminuiu bastante (NIH, 2002).

Hemofílicos que receberam fatores de coagulação, não submetidos a processos físicos e/ou químicos com o intuito de destruir o HCV, apresentam de 50-70% de soropositividade (Maddrey et al, 1995). A prevalência da hepatite C em hemofílicos da região Central do Brasil foi de 63,3% (Barbosa et al, 2002).

A prevalência do HCV transmitido por via sexual que em 1999 era de 2 – 12% (Wejstal, 1999), aumentou para 18% (Alter, 2002). Porém ainda é considerada baixa quando comparada com 68% em usuários de drogas injetáveis (Alter, 2002).

Baixa concentração de partículas virais nas secreções genitais e de células receptoras nas mucosas genitais são as razões mais comumente encontradas para explicar esta observação. Pacientes que apresentam a co-infecção com o HIV parecem aumentar o risco de transmissão do HCV (Soto et al, 1994; Thomas et al, 1998).

A transmissão mãe-filho é menos observada. Em alguns estudos, somente 5% das crianças nascidas de mães infectadas adquirem o vírus (NIH, 2002). A transmissão através do leite materno não foi ainda confirmada (Liberto et al, 2002).

Outras prováveis formas de contágio incluem alguns procedimentos como: tatuagens, piercing, acupuntura, compartilhamento de lâminas de barbear e navalhas não descartáveis, aparelho elétrico de depilação em salões de beleza, tratamento dentário, em que o material não é devidamente esterilizado (Foccacia et al, 1997). De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) (2003), anualmente 2-4,5 milhões de infecções pelo HCV podem ser causadas pelo re-uso de seringas e agulhas sem esterilização. Além de todas essas formas de contaminação, cerca de 9% dos casos de hepatite C são de causa desconhecida (Alter, 2002).

Estudo de De Paula et al (1999) na região Amazônica, mostraram uma prevalência de anticorpos para o vírus da hepatite C (anti-HCV) de 7,2%.

Saraceni et al (2000) acharam uma prevalência de anti-HCV de 1,2% em mulheres grávidas de um município de São Paulo.

Camara et al (1998) mostraram que de 608 soros suspeitos de hepatite em Brasília/DF, 67(11%) eram anti-HCV positivos.

De acordo com os dados do BR/MS/FUNASA (2003), o estado do Rio Grande do Sul possui a maior taxa de detecção, 47,9 casos por 100.000 habitantes, seguido pelo Distrito Federal (39,9 por 100.000), por Santa Catarina (28,4 por 100.000) e pelo Rio de Janeiro (24,2 por 100.000).

Em Pernambuco, após análises do anti-HCV nos livros de registros do Laboratório do Hospital Barão de Lucena, do Laboratório Municipal de Saúde Pública da Prefeitura do Recife; do Laboratório Central de Pernambuco e da Fundação HEMOPE, foram detectados uma variação de 6,06% - 11,2% na frequência da soropositividade para o HCV, no período de janeiro de 1996 a julho de 2002 (Calado et al, 2002; Coêlho et al, 2002; Coêlho et al, 2003). Torres et al (2003) ao analisarem 291 amostras de pacientes anêmicos provenientes da Fundação HEMOPE, que já necessitaram de várias transfusões sanguíneas, observaram uma frequência de 14,1% de positividade para o HCV.

A prevalência da HC é bastante alta em pacientes submetidos ao tratamento de hemodiálise (CDC, 2001). Desde 1990, nos E.U.A, a incidência dessa infecção observada pela detecção do anti-HCV, mostrou média anual entre 0,73% - 3%, em pacientes hemodialisados (Niu et al, 1993; Fabrizi et al, 1998). Entre 1992-1999 houve um aumento (22% - 56%) na proporção de centros que testavam pacientes para anti-HCV (Tokars et al, 2000). Em 1999, a prevalência de anti-HCV foi 8,9%, porém em alguns centros a prevalência mostrou-se maior que 40% (CDC, 2001). Jonas et al (1992), nos E.U.A, mostraram uma prevalência também baseada na pesquisa dos anticorpos, de 18,5% entre crianças hemodialisadas.

Fatores de risco associados com a infecção pelo HCV entre pacientes hemodialisados incluem história de transfusão de sangue, o volume do sangue transfundido e o tempo de hemodiálise (Moyer & Alter, 1994).

Estudos mostram que pacientes que realizam tratamento em menos de 05 anos a média da prevalência é de 12% e para pacientes que realizam em um tempo igual ou maior que 05 anos é de 37% (Hardy et al, 1992; Selgas et al, 1992; Niu et al, 1993).

Vários estudos utilizando a pesquisa do anticorpo anti-HCV e o HCV RNA por ELISAS de 2ª e 3ª geração e a técnica da PCR, respectivamente, demonstram valores bastante variáveis da prevalência em diferentes unidades de diálise de acordo com a região (Naghettni et al, 1997).

Na Bélgica, após um estudo de 54 meses com hemodialisados, a prevalência da hepatite C declinou de 13,5% (54/399) para 9,4% (48/510) utilizando ELISA de 2ª geração em maio de 1991 e novembro de 1992 e ELISA de 3ª geração em maio de 1994 e novembro de 1995 (Jadoul et al, 1998). Na Alemanha, Cardoso et al (1994) após a realização do ELISA de 2ª geração e RT/PCR, encontraram 15% (30/195) de pacientes infectados com o HCV, enquanto que Hinrichsen et al (2002) utilizando ELISA de 3ª geração e RT/PCR, observaram 7,0% (195/2796) dessa positividade. Na França, Salama et al (2000) verificaram uma prevalência de positividade para o HCV de 16,8% após realizarem o ELISA de 3ª geração e RT/PCR em amostras de 1323 hemodialisados provenientes de 25 centros.

Hanuka et al (2002) ao realizarem ELISA de 3ª geração e RT/PCR detectaram 22% (68/310) de pacientes infectados com o HCV provenientes de uma unidade de diálise em Israel. Bdour (2002) ao analisar as amostras de 283 pacientes derivados de 06 centros de hemodiálise na Jordânia, observou uma prevalência de 34,3% de positividade para esta infecção após a realização do ELISA de 3ª geração, Immunobl e RT/PCR. Daw et al (2002) ao realizarem apenas o ELISA de 3ª geração em amostras de pacientes hemodialisados na Líbia, encontraram uma prevalência de 20,5% (41/200) de soropositividade para o HCV. Na Turquia, Taskapan et al (2001) ao analisarem hemodialisados provenientes de duas unidades no período de outubro de 1995 a março de 1999,

encontraram uma prevalência de 81% (50/62) e 14,8% (8/54) de soropositividade para o HCV. Enquanto que Harmankaya et al (2002) ao estudarem 168 pacientes de uma unidade de diálise no período de março de 1992 a agosto de 2000, observaram uma prevalência de 4,7% dessa soropositividade. No Japão, Yonemura et al (1996) após analisarem amostras de 234 hemodialisados, verificaram uma prevalência de 17,5% de soropositividade para o HCV.

No Brasil, a prevalência da hepatite C em pacientes hemodialisados baseada na pesquisa do anticorpo anti-HCV foi a seguinte: Vanderborght et al (1995) no Rio de Janeiro/RJ encontraram, 65%; Naghettini et al (1997) em Goiânia/GO, 35,3% e Santana et al (2001) em Salvador/BA, 23,8%.

Vários estudos realizaram a técnica da PCR juntamente com a pesquisa dos anticorpos, mostrando uma prevalência de: Carvalho et al (1999) em Curitiba/PR, 39,2% (29/74); Moreira et al (2000) em São Paulo-SP, 14,6% (41/281); Carneiro et al (2001) em Goiânia/GO, 46,7%; Busek et al (2002) em Belo Horizonte/MG, 20%.

Trabalhos mostram que alguns centros de diálise apresentam pacientes com o HCV RNA e sorologia negativa para o anti-HCV (0,46% - 12,9%) (Cardoso et al, 1994; Fernández et al, 1996; Salama et al, 2000; Moreira et al, 2000; Carneiro et al, 2001; Hinrichsen et al 2002; Busek et al, 2002). Quando há presença do HCV RNA em mais de 10% dos pacientes anti-HCV negativos, medidas devem ser tomadas para prevenir a transmissão viral nas unidades de hemodiálise (Fernández et al, 1996).

Por outro lado, Fabrizi et al (1995) ao analisarem amostras de 104 pacientes por meio da técnica de ELISA de 2ª geração, Immunoblot e RT/PCR, encontraram 48% (50/104) de anti-HCV positivos. Dos 104 pacientes, 21% mostraram ser HCV RNA positivos. Nos pacientes anti-HCV negativos o HCV RNA não foi detectado.

Da mesma forma, Dalekos et al (1998) analisando pacientes hemodialisados anti-HCV negativos por um período de 06 meses, não detectaram em nenhum deles o HCV RNA e todos permaneceram anti-HCV negativo durante o período estudado. Izopet et al (1999) também não observaram pacientes com resultado de sorologia negativa pelo ELISA com HCV RNA positivo pela PCR.

O HCV apresenta uma grande variabilidade genética, porém estudos de epidemiologia molecular no Brasil ainda são pouco conhecidos (Oliveira et al, 1999).

Alguns genótipos do HCV (tipos 1, 2 e 3) são mundialmente distribuídos. O tipo 4 predomina no norte da África e Oriente Médio, o 5 no sul da África e o tipo 6 foi identificado no Vietnã e Hong-Kong (Dusheiko et al, 1994; Bukh et al, 1995). Poucos países têm informações específicas sobre a distribuição de genótipos (Cha et al, 1992). Essa variabilidade pode permitir uma alteração na gravidade das manifestações clínicas da doença e variar na resposta ao tratamento (Slavicek et al, 2000).

A infecção com um genótipo do HCV ou subtipos não protege contra re-infecções ou super-infecções com outras espécies do HCV (Bukh et al, 1995).

Estudos surgiram para investigar a distribuição dos genótipos do HCV entre brasileiros de acordo com as várias categorias expostas (Oliveira et al, 1999).

O genótipo 1 é mais freqüente entre doadores de sangue, hemofílicos e pacientes hemodialisados. Uma alta freqüência do genótipo 3 foi observada em pacientes cirróticos, doadores de sangue do Sul do Brasil e usuários de drogas injetáveis (Oliveira et al, 1999).

A distribuição geral dos genótipos do HCV no Brasil foi semelhante a da Europa, com uma alta freqüência de genótipos 1 e 3, seguida pelo tipo 2 e alguns casos do tipo 4 (Oliveira et al, 1999).

Martins et al (1998) ao analisarem 7500 amostras de doadores de sangue do estado do Rio Grande do Norte, Rio de Janeiro e Goiás, observaram os seguintes genótipos: 1b (35,3%) e 3a (35,3%); 1b (41,9%) e 1a (35,5%); 1a (54,6%) e 3a (31,8%), respectivamente.

Em Pernambuco, Filgueira (1999) encontrou os genótipos 1a (10,3%), 1b (48,7%), 2 (5,1%) e 3 (35,9%) em estudos com 39 doadores de sangue. Torres et al (2003) ao analisarem 19 amostras de pacientes com anemia provenientes da

Fundação HEMOPE, observaram uma maior freqüência do genótipo 1b (63%), seguida de 1a (21%) e 3a (16%).

Cavalheiro (1999) ao definir os genótipos, por meio do método de sorotipagem, encontrou que os mais prevalentes na cidade de São Paulo foram: tipo 1 (70%), 3 (22,3%), 2 (4,2%) e infecção mista por dois ou mais tipos corresponderam a 3,6% destas amostras.

A distribuição dos genótipos do HCV entre hemodialisados não difere dos pacientes cronicamente infectados apresentando função renal normal (Zamir et al, 1999).

No estado do Ceará, Oliveira et al (1999) mostraram uma alta freqüência do tipo 3 (50%) em pacientes hemodialisados. Moreira et al (2000), detectaram em amostras de pacientes de duas unidades de diálise em São Paulo-SP os genótipos: 1a (50%); 1b (33%); 3a (10%) e 4a (7%). Esses dados foram muito importantes para mostrar a presença do genótipo 4a, pois o mesmo é raro no Brasil. Em Belo Horizonte, Busek et al (2002) analisando três unidades de diálise encontraram que o genótipo 1 foi o mais freqüente, seguido do tipo 2. Em Porto Alegre, Krug et al (1996) detectaram os genótipos 1 (55%), 3 (37%) e 2 (8%) de um total de 100 amostras HCV RNA positivas provenientes de um laboratório no referido local.

A alta prevalência do genótipo 1 encontrado em pacientes hemodialisados no Brasil foi semelhante com a de outros lugares do mundo, enquanto que o tipo 4 foi mais observado nesses países. Na Alemanha, Hinrichsen et al (2002) verificaram em 103 amostras os genótipos: 1b (65%), 1a (12,6%), 2 (3,9%), 3 (0,97%), 4 (0,97%). Na Jordânia, Bdour (2002) analisando 30 amostras detectou os genótipos: 1a (40%), 1b (33,3%), 4 (26,7%). Na Bélgica, foram encontrados os genótipos 1b, 4 e 4c/d (Jadoul et al, 1998). Em Israel, foi observado uma maior freqüência do subtipo 1b (60%), seguido do 3a (14%), 2 (7%), 1a (5%), 4 (3%) e alguns pacientes apresentavam super-infecção, 9% (1b+3a), 2% (1a/1b) (Hanuka et al, 2002). Diferentemente dos outros estudos, Fabrizi et al (1996) ao analisarem amostras de hemodialisados em Lecco (Itália), observaram que o genótipo mais prevalente foi o 2a (56%) seguindo do 1b (31%), 3 (3%), 4 (3%).

Durante o período de 1999-2000, o CDC investigou três surtos da infecção pelo HCV entre pacientes de centros de hemodiálise (CDC, 2001).

Em dois surtos, múltiplas transfusões ocorreram durante um período de 16-24 meses. Várias possibilidades de contaminação entre pacientes foram observadas, incluindo: equipamento e materiais que não foram desinfetados para o uso entre pacientes, superfícies de máquinas que não foram adequadamente limpas e desinfetadas, sangue em superfícies que não foram devidamente limpas, etc. No terceiro surto, apareceram várias novas infecções em aglomerado, sugerindo um evento de exposição comum (CDC, 2001).

A transmissão nosocomial é o principal meio de disseminação da infecção pelo HCV entre pacientes dialisados (Samaralzija et al, 2000). O HCV pode ser introduzido nas unidades de diálise por pacientes que receberam múltiplas transfusões sangüíneas ou pertencem a grupos de risco acrescido (Petrosilho et al, 1993). Estes pacientes podem servir como reservatório do vírus e disseminar a infecção dentro da unidade de diálise (Naghattini et al, 1997). Pacientes hemodialisados que são diagnosticados como anti-HCV não reagente, podem apresentar o vírus no sangue e disseminá-lo através das máquinas de diálise (Samaralzija et al, 2000). O HCV RNA pode ser detectável em equipamentos de diálise após a esterilização, caso o sangue não tenha sido inteiramente removido antes deste procedimento (Hardy et al, 2000).

Vários estudos associam a positividade do anti-HCV com o tempo de hemodiálise (Muller et al, 1992; Kapoor et al, 1993; Niu et al, 1993; Cardoso et al, 1994; Carneiro et al, 2001, Santana et al, 2001; Bdour, 2002; Busek et al, 2002). Essas observações juntamente com a história negativa de transfusões em vários casos de pacientes HCV positivos, sugerem que esse vírus pode está presente no ambiente de hemodiálise (Yamaguchi et al, 1990; Almroth et al, 1991; Kapoor et al, 1993; Medin et al, 1993; Dussol et al, 1995). A baixa prevalência da infecção pelo HCV em pacientes tratados com diálise peritonial (PD) reforça esta hipótese (Chan et al, 1991).

Djordjevic et al (1996) estudando pacientes de hemodiálise e diálise peritoneal (PD), encontraram 57% (95/167) dos hemodialisados com anti-HCV positivo. Enquanto que apenas 5,7% (2/35) dos que realizavam PD apresentavam este tipo de anticorpo.

Yonemura et al (1996) encontraram 11% (20/182) de hemodialisados anti-HCV positivos sem história de transfusão de sangue, um valor significativamente mais alto do que doadores de sangue em Shizuoka, Japão (0,9%).

Na Turquia, Taskapan et al (2001) estudaram hemodialisados de duas unidades diferentes (A e B) em um período de 41 meses consecutivos (outubro de 1995 a março de 1999). Na unidade A, 62 pacientes (22 anti-HCV positivos e 40 anti-HCV negativos) realizavam tratamento em um mesmo ambiente e compartilhando as mesmas máquinas. Dos 40 pacientes anti-HCV negativos, 28 (70%) tornaram-se positivos. E destes, apenas 10 pacientes tinham história de transfusão. Na unidade B, realizavam tratamentos apenas pacientes anti-HCV negativos e destes apenas 14,8% (8/54) tornaram-se anti-HCV positivos. Sete pacientes destes tinham recebido transfusão sangüínea.

Harmankaya et al (2002), analisaram 168 pacientes hemodialisados em um período de março de 1992 a agosto de 2000. Os pacientes positivos para o HCV foram isolados e utilizavam máquinas reservadas para este tipo de infecção. Dos 168 pacientes, 08 (4,7%) tornaram-se positivos. Sendo que 04 deles mostraram-se soropositivo depois de realizarem tratamento de hemodiálise em outro centro. E 02 receberam transfusão sangüínea 06 meses antes da soroconversão.

Gilli et al (1995) concluíram que a possibilidade de difusão intradialítica do HCV é muito baixa quando precauções gerais são rigorosamente observadas. Segundo esses autores, o tratamento de pacientes infectados em máquinas separadas, parece não ser extremamente necessário.

Por outro lado, Guiserix (1996) sugere que o HCV pode ser disseminado entre os hemodialisados pela falta de medidas de higiene elementar. A desinfecção sistemática do sistema de diálise entre sessões de diferentes pacientes e a descontaminação da superfície e o isolamento de pacientes positivos impede a contaminação não só do HCV, mas também de outras viroses.

O paciente renal crônico infectado com o HCV não necessita ser isolado dos outros pacientes para realizar tratamento de hemodiálise e nem ser hemodialisado separadamente em máquinas reservadas. Além disso, eles podem participar do programa de reuso dos filtros. A rotina dos testes para a determinação da ALT e pesquisa do anti-HCV são importantes para monitoramento de soroconversão. Deve-se assegurar que as precauções universais, como o uso da biossegurança, estão sendo adequadamente e constantemente utilizadas. Caso um paciente repetidamente anti-HCV negativo apresente de forma persistente inexplicáveis elevações da ALT, testes para a pesquisa do HCV RNA deve ser considerado. Quando houver uma soroconversão, rever todos os outros resultados dos testes de rotina de laboratório para identificar casos adicionais (CDC, 2001).

A relativa homogeneidade da população viral encontrado na análise de pacientes hemodialisados após estudos prospectivos sugere uma transmissão nosocomial do HCV (Fabrizi et al, 1996).

O HCV é transmitido preferencialmente por via parenteral e devido à alta prevalência em pacientes hemodialisados deve-se haver sempre um controle nos centros de diálise para eliminar a possibilidade de disseminação do vírus. Estudos epidemiológicos são importantes para conhecer a real situação das unidades de diálise e assim adquirir ou continuar com medidas que possibilitem uma melhoria da qualidade de vida destes pacientes.

Em virtude da falta de dados em relação ao HCV nessa população no estado de Pernambuco, pensou-se em investigar todos os hemodialisados de uma clínica para a obtenção de dados que possam trazer subsídios para minimizar cada vez mais esta infecção.

2- OBJETIVOS

2.1- OBJETIVO GERAL

Determinar a prevalência da hepatite C e identificar os fatores de risco associados a essa infecção em pacientes hemodialisados de uma unidade de diálise de Recife, PE.

2.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a prevalência da soropositividade do anti- HCV pelo ELISA ;
- Estimar a prevalência do HCV RNA pela técnica da RT/PCR;
- Identificar pacientes com o HCV RNA positivo e anti-HCV não reagente;
- Conhecer os genótipos circulantes por meio das amostras HCV RNA positivas;
- Identificar os possíveis fatores de risco para a transmissão do HCV;

3- CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1- DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um corte transversal que investiga a relação exposição-doença em uma determinada população, em um dado momento do tempo.

Esse tipo de estudo permite detectar a frequência da doença e de fatores de risco, identifica grupos na população que estão mais afetados, além de informar a relação existente entre as variáveis.

3.2- DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS

3.2.1-Variável dependente

Neste estudo foi considerada como variável dependente a infecção pelo HCV, pela presença do HCV RNA pela PCR e/ou a soropositividade para os anticorpos específicos (anti-HCV) pelo ELISA, confirmado pelo I.B.

3.2.2-Variáveis independentes

- Sexo : masculino ou feminino
- Idade : definida como o intervalo de tempo entre a data do nascimento e a data da coleta, sendo categorizada como: <20 anos, 20 – 40 anos, >40 anos.
- Sala: referente ao local que o paciente realiza o tratamento de hemodiálise. Categorizada como: Branca, Convênio e Amarela.
- Tempo de hemodiálise: definida como o intervalo de tempo entre a data da primeira vez em que o paciente submeteu-se ao tratamento de hemodiálise e a data da coleta. Categorizada como: < de 5 anos e \geq 5 anos.

- Transfusão sangüínea e/ou de hemoderivados: se o paciente já recebeu sangue em algum momento de sua vida ou algum produto derivado do mesmo (plaquetas, fatores de coagulação,...)
- Número das transfusões : referente a quantidade de vezes em que o paciente necessitou da transfusão sanguínea e/ou de hemoderivados. Categorizada como: de 1 - 5 vezes, de 6 – 15 vezes, > de 15 vezes.
- Período da hemotransfusão : referente ao mês/ano em que o paciente necessitou da transfusão sangüínea. Categorizada como: antes de nov. de 1993 e depois de nov. de 1993.
- Tatuagem: se o paciente apresenta tatuagem em algum lugar do corpo.
- Uso de droga injetável: se o paciente já usou droga injetando na veia e/ou cocaína intranasal.

3.3- ASPECTOS ÉTICOS

O referido trabalho protocolado sob. o n° 136/2001 foi aprovado em 05/09/2001 de acordo com a resolução de n° 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco – CEP/CCS/UFPE. Este estudo também foi analisado e aprovado pelo comitê de Ética do Instituto Adolfo Lutz em São Paulo, sob o protocolo de n°. BM 03/02.

Foi elaborado um termo de consentimento livre e esclarecido para que cada paciente avaliasse a sua participação no estudo. O projeto foi apresentado sucintamente, para que o paciente entendesse o que seria realizado a partir do momento em que desse a sua aprovação. Julgou-se de maneira clara para cada paciente da confidencialidade dos resultados, da utilização dos soros única e exclusivamente para os objetivos propostos, não causando nenhum prejuízo ao paciente e principalmente na realização do tratamento de hemodiálise.

3.4- CENTRO DE DIÁLISE

Foram estudados pacientes renais crônicos que realizavam hemodiálise em uma clínica de Recife/PE. Essa Unidade atende em média 258 pacientes por mês e, em média 47 pacientes por turno. O tratamento por hemodiálise é realizado três vezes por semana tendo duração de quatro horas.

O referido centro é organizado em salas branca, amarela e de convênio. Para cada sala existe uma equipe diferente de profissionais. As salas brancas(branca I e II) são destinadas aos pacientes que não possuem marcadores sorológicos para o vírus da hepatite B(HBV) e vírus da imunodeficiência humana (HIV) e que estão vinculados ao Sistema Único de Saúde(SUS). Os pacientes das referidas salas que apresentam marcadores para o HCV realizam hemodiálise em máquinas reservadas para os portadores desta infecção. Esses ambientes comportam 20 e 12 máquinas respectivamente e geralmente todas elas são utilizadas para a realização do tratamento em todos os turnos.

A sala amarela é destinada aos pacientes que apresentam marcador sorológico indicativo de infecção pelo HBV e/ou HIV. E está composta por 04 máquinas. As salas de convênios(I, II e III) são reservadas a todos os pacientes que possuem um convênio médico e que não apresentam marcadores para HBV e HIV. Estas salas comportam 02, 02 e 07 máquinas, respectivamente e geralmente todas elas são ocupadas para a realização do tratamento. Os pacientes que são diagnosticados HCV positivos, realizam hemodiálise em máquinas reservadas na sala de convênio III.

Além das salas para a hemodiálise, as salas de reutilização dos filtros também são separadas. Os filtros utilizados são de membrana de polissulfona.

Os dialisadores (filtros) de pacientes que apresentam marcadores para algum tipo de infecção são lavados e armazenados separadamente, dos que não apresentam marcadores para qualquer tipo de infecção.

Na clínica estudada, existem três salas para lavagens dos mesmos e cada uma é formada por profissionais diferentes. Em uma sala são lavados todos os filtros de pacientes livres de infecções, em outra são lavados os utilizados por pacientes HCV positivos e, em uma terceira sala, referente à sala amarela, são lavados os dos pacientes portadores do HBV.

Os filtros de cada um dos pacientes são lavados para que o sangue seja inteiramente removido e depois de totalmente limpo é medida o volume interno dos capilares dos dialisadores (“priming”) para verificar a capacidade de retenção do sangue que o mesmo ainda apresenta. Essa técnica é realizada introduzindo água no interior dos filtros e depois, com o auxílio de uma proveta, é medido o volume de água retido pelo mesmo. O resultado dessa medição baseia-se no valor do “priming” inicial (PI). Caso o valor esteja abaixo dos 20% do PI troca-se o filtro. Se o valor estiver dentro dos 20%, o filtro é reutilizado após 12 horas de desinfecção com o Proxitane 0,2%. O PI pode variar dependendo do lote de fabricação. Os filtros, dependendo do valor do “priming”, podem ser reutilizados até 12 vezes (BR/MS/Portaria n° 82).

3.5- POPULAÇÃO DE ESTUDO

Foram selecionados pacientes renais crônicos que realizavam tratamento de hemodiálise no centro de diálise estudado, no período de março a junho de 2002.

3.6- COLETA E PROCESSAMENTO DE DADOS

As coletas dos dados foram realizadas após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido de todos os pacientes no período referido acima, por meio de um questionário.

Este questionário continha alguns dados pessoais, como nome, idade, sala, turno, tempo de hemodiálise, número e ano de transfusões sangüíneas e ou

hemoderivados, uso de drogas injetáveis, tatuagem, etc. Após a obtenção desses dados foi realizada a coleta do sangue.

Os prontuários de cada paciente ficaram a disposição, caso houvesse necessidade em analisar algum dado referente ao questionário durante a realização do estudo.

Os dados de cada paciente foram armazenados e analisados pelo programa EPI-INFO 6.0.

3.7- COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

Foram colhidos por punção venosa 10 mL de sangue, utilizando-se tubos tipo “vacutainer” sem anti-coagulante. Este procedimento ocorreu antes do tratamento de hemodiálise. Após a coleta, as amostras de sangue foram transportadas em tempo hábil (máximo de 4 horas) para o setor de Virologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da Universidade Federal de Pernambuco, para separação, armazenamento dos soros e realização do ELISA e da PCR.

As amostras foram centrifugadas a 1.500 x g por 15 min. e os soros de cada paciente foram separados em três microtubos de 1,0 mL cada. Os microtubos contendo o nome, registro do laboratório, data de coleta, sala e turno ficaram armazenados em diferentes congeladores. Duas alíquotas foram armazenadas em um congelador (-20°C) e a terceira a -70°C. Uma alíquota foi utilizada para sorologia (ELISA), a segunda reservada para a PCR e genotipagem. A terceira ficou estocada para contraprova, repetição ou outros testes.

3.8- MÉTODOS

3.8.1-ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO – ELISA

O ELISA foi realizado em todas as amostras de soro para a pesquisa do anticorpo anti-HCV. Foram utilizados “Kits” comerciais de 3ª geração (Murex® anti-HCV versão 4.0) composto de microplacas de poliestireno, sensibilizadas com frações antigênicas das regiões do core, NS3, NS4 e NS5 do HCV.

A amostra foi diluída e os anticorpos anti-HCV, se presentes na amostra, ligaram-se aos antígenos imobilizados. A reação foi incubada com peroxidase conjugada com IgG anti-humano monoclonal e a enzima ligada foi detectada pela adição de uma solução contendo 3,3',5,5' – tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido de hidrogênio. Uma coloração púrpura se desenvolveu nos poços que continham amostras positivas para o anti-HCV. A reação enzimática foi interrompida com ácido sulfúrico 0,5 N, resultando em coloração alaranjada que foi lida fotometricamente. A quantidade de conjugado ligado, ou seja, a coloração nos poços, está relacionada diretamente à concentração do anticorpo na amostra.

A técnica foi realizada de acordo com as instruções do fabricante do “kit”.

Foram consideradas positivas as amostras com valores de densidade ótica (D.O) superior ao valor do cutoff. As amostras que apresentaram uma D.O entre +/- 10% do valor do cutoff, foram consideradas inconclusivas e repetidas pelo mesmo “kit”. Os resultados foram considerados indeterminados, após a realização do ELISA em uma segunda amostra.

As amostras que continuavam indeterminadas após serem repetidas no “Kit” referido acima foram encaminhadas ao IAL para a realização de um outro ELISA de fabricante diferente e para a determinação pelo Immunoblot.

3.8.2- REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

A técnica da PCR foi realizada em todas as amostras, independente do resultado sorológico. O método empregado foi o “nested” PCR descrito por Garson et.al (1990a; 1990b) com algumas modificações. Foram seguidas as normas de controle de qualidade propostas por Kwok & Higushi em 1989 para se evitar contaminações das salas e, conseqüentemente, dos materiais e dos soros manuseados.

3.8.2.1-EXTRAÇÃO DO RNA

A extração do RNA viral do soro foi realizada com a adição de 300µL de Trizol®LS Reagents, a 150µl de soro. Após agitação por 1 min em agitador tipo "vortex", foram adicionados 50µL de clorofórmio gelado. O material foi agitado por 1 min e, após um período de 10 min de repouso à temperatura ambiente, procedeu-se a centrifugação a 13.000 x g a 0°C por 5 min. Após essa fase, o sobrenadante foi retirado e adicionado a 300µL de isopropanol, homogeneizado-se por 10 Seg. Centrifugou-se a 13.000 x g por 12 min a 0°C e o sobrenadante foi todo retirado com o auxílio de bomba de água e posteriormente, 300µL de etanol gelado foram adicionado ao sedimento obtido. O material foi novamente centrifugado a 13.000 x g por 4 min a 0°C e após esta fase, o sobrenadante foi retirado e procedeu-se então à síntese do DNA complementar.

3.8.2.2-SÍNTESE DO DNA COMPLEMENTAR – cDNA

A partir da obtenção do RNA viral, iniciou-se então o processo da transcrição reversa a 37°C por 1 hora, seguindo-se a inativação da enzima a 95°C por 10min, utilizando-se dNTPs, inibidor de RNases (RNAsin – Gibco BRL®), “primer” específico NCR2 (tabela 1) e a enzima transcriptase reversa (M-MLV RT - Gibco BRL®). Este processo foi realizado em termociclador da Hybaid modelo Touchdown.

3.8.2.3- “NESTED” PCR

Após o processo da síntese do cDNA, realizou-se o primeiro PCR, utilizando-se o “primer” PTC1, específico para a região 5’NCR (tabela 1). Um pré aquecimento a 94°C/1min foi realizado logo após as amostras serem colocadas ao termociclador. A amplificação é iniciada por meio de 25 ciclos de: 94°C/15seg; 55°C/15seg; 72°C/15Seg com uma extensão final à 72°C/1min. A reação de “nested” PCR foi realizada utilizando-se dois “primers” internos - PTC3 e NCR4 (tabela 1) a partir do produto amplificado de aproximadamente 300 nucleotídeos derivada da primeira reação (primeiro PCR), e os mesmos 25 ciclos descritos acima. Ao final da reação foi obtida a amplificação de um segmento do genoma de aproximadamente 200 pb.

Tabela 1: Seqüência correspondente de cada um dos “primers” utilizados na reação de PCR.

“Primers”	Seqüência
NCR2	ATACTCGAGGTGCACGGTCTACGAGACCT
PTC1	CGTTAGTATGAGTGTCGTGC
PTC3	AGTGTCGTGCAGCCTCCAGG
NCR4	CACTCTCGAGCACCTATCAGGCAGT

Nestas reações utilizou-se uma amostra de soro conhecidamente positiva pela técnica de PCR como controle da amplificação e, para cada quatro amostras analisadas, alíquotas de água foram intercaladas como controles negativos e controle de possíveis contaminações nas reações.

3.8.2.4- IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL AMPLIFICADO

Para a identificação do fragmento genômico amplificado, foram realizadas corridas eletroforéticas, onde 10µl do produto do “nested” PCR foram misturados a 2µl do corante (1% de azul de bromofenol e 40% de glicerol). As amostras diluídas foram aplicadas em gel de agarose, em uma concentração de 1,0% em tampão Tris Borato EDTA (TBE) diluído vinte vezes da solução estoque (10 X concentrada), colocando-se 2,4µl de brometo de etídio (10mg/mL), para cada 80mL de gel produzido. A corrida foi realizada por 30-45 min, sob a voltagem de 100V. Como controle de eficiência da corrida eletroforética e para a avaliação do tamanho do fragmento amplificado, o padrão de peso molecular (100pb ladder DNA - Gibco®), foi aplicado junto com as amostras. Passado este tempo, o gel foi analisado em um transluminador e foi observada a existência ou não de bandas com um peso molecular entre 200 – 300pb indicativo de um resultado positivo para o HCV RNA.

3.8.3-“IMMUNOBLLOT” – I.B.

Foram analisadas pelo I.B. as amostras que apresentaram um resultado indeterminado pelo ELISA com HCV RNA não detectado pela PCR e os que tinham ELISA positivo por duas técnicas diferentes e HCV RNA não detectado pela PCR.

As amostras referidas acima foram encaminhadas ao setor de hepatites virais do IAL-SP para serem realizado o I.B.. O “Kit” comercial utilizado foi o de 3ª geração (CHIRON RIBA HCV 3.0 SIA), que é um teste de ELISA realizado em tiras

de nitrocelulose, sensibilizadas com os antígenos recombinantes: c33C e NS5 e os peptídeos sintéticos: 5-1-1, c100 e c22 do HCV. Além das quatro bandas cobertas com esses antígenos e peptídeos, a tira também apresenta uma banda de superóxido dismutase humano (hSOD) recombinante, para controle de resultados falso-positivos, e duas bandas de controle do teste (nível I e nível II) de IgG.

O teste foi realizado e interpretado de acordo com as instruções do fabricante.

A reatividade ao anti-HCV em uma amostra é determinada comparando-se a intensidade de cada banda com antígenos e/ou peptídeos do HCV com a intensidade das bandas de controle do teste em cada tira.

3.8.4- SEQÜENCIAMENTO – CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA

As amostras com resultado positivo pela PCR foram encaminhadas de maneira adequada ao setor de hepatites virais do IAL-SP para a realização da caracterização genotípica.

Os fragmentos genômicos do HCV amplificados pela técnica da PCR, foram seqüenciados, em equipamento ABI377 (PE Biosystems[®]), utilizando o “kit” “DNA sequencing kit Big Dye[™] Terminador” da Applied Biosystems[®].

Inicialmente o DNA foi quantificado realizando corrida eletroforética em gel de agarose a 1,0% juntamente com um padrão de massa molecular (DNA Mass Ladder - GibcoBRL[®]). Foi utilizado aproximadamente entre 1ng e 3ng do DNA amplificado.

Nesse estudo, a região genômica seqüenciada foi a 5’NCR, utilizando-se o primer PTC3 (tabela 1) (Garson et al, 1990a) e as dNTPs marcadas com fluoresceína, em termociclador PE9700.

O produto do seqüenciamento foi precipitado utilizando solução de isopropanol a 75% e, após agitação por 10 seg e incubação à temperatura ambiente por 15 min, centrifugou-se a 16.000 xg por 20 min em temperatura ambiente. Após a retirada do sobrenadante, o sedimento foi lavado duas vezes com etanol a 70%, centrifugando novamente a 16.000 xg por 15 min.

O sedimento, muito bem seco, foi ressuspenso em tampão apropriado fornecido com o “kit” e aplicado em gel de poliacrilamida. A aplicação da amostra no gel deve ser precedida da separação das fitas de DNA pelo aquecimento a 95°C e posterior resfriamento em gelo.

Ao final da corrida eletroforética, a reação foi interpretada pelo sinal fluorescente emitido pelos terminadores, captados e armazenados automaticamente por um microcomputador acoplado ao equipamento. A determinação do genótipo foi realizada pelo alinhamento das fitas de DNA seqüenciadas em comparação com as seqüências de cepas padrões, utilizando o programa Lasergene (DNASTAR, USA) (figuras 4,5 e 6).

3.9- ÍNDICE KAPPA (K)

Para a verificar a concordância entre os métodos empregados, calculamos o índice K segundo Gordis, L., 1996.

4.0- PLANO DE DESCRIÇÃO E ANÁLISE

O corte transversal permitiu estimar a prevalência da hepatite C na população estudada e a associação entre a infecção pelo HCV e as outras variáveis. A análise foi realizada através do teste Qui-quadrado, do intervalo de confiança de 95% e da razão da prevalência (RR).

A regressão logística múltipla permitiu ajustar cada variável pelas demais. Inicialmente o modelo foi saturado com a inclusão de todas as variáveis que havia apresentado associação estatisticamente significativa com o desfecho. Em seguida testou-se a significância estatística da retirada de cada uma delas utilizando como ponto de corte o $p > 0.10$. O programa utilizado para a análise multivariada foi o SPSS PC, versão 8.0.

5.0- RESULTADOS

5.1- CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Foram obtidos 257 questionários devidamente preenchidos com uma faixa etária variando de 17 a 92 anos e de ambos os sexos. A coleta do sangue não foi realizada em 07 pacientes. A amostra, ao final do estudo, foi composta por 250 pacientes.

5.1.1- VARIÁVEIS INDEPENDENTES

As tabelas abaixo apresentam a distribuição dos pacientes envolvidos no estudo de acordo com a faixa etária, sexo, sala, tempo de hemodiálise, transfusão sangüínea e/ou hemoderivados, número e período das transfusões, uso de drogas e tatuagem.

Nesse estudo observa-se uma predominância de pacientes do sexo masculino (58,8%) e com faixa etária acima de 40 anos (68%) (tabelas 2 e 3).

Tabela 2: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à faixa etária

	n	%
Faixa etária (anos)		
< 20	4	1,6
20 - 40	76	30,4
>40	170	68,0
Total	250	100,0

Tabela 3: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo ao sexo

	n	%
Sexo		
Masculino	147	58,8
Feminino	103	41,2
Total	250	100,0

A maioria dos pacientes (71,2%) realizavam o tratamento de hemodiálise na sala Branca (tabela 4).

Tabela 4: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a sala para realização do tratamento

	n	%
SALA		
BRANCA	178	71,2
CONVÊNIO	52	20,8
AMARELA	20	8,0
Total	250	100,0

Em relação ao tempo de hemodiálise, a maioria dos pacientes (62.8%) realizavam tratamento há menos de 05 anos (tabela 5).

Tabela 5: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o tempo de realização de hemodiálise

	n	%
Tempo de hemodiálise		
< 5	157	62,8
≥ 5	93	37,2
Total	250	100,0

Na tabela 6 verifica-se que 64,7% já havia realizado transfusão de sangue e/ou hemoderivados algum momento na vida e grande parte desses pacientes (80,1%) tinham recebido de 1 a 5 transfusões até o momento do estudo.

Tabela 6. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a realização e número das transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados

	n	%
Transfusão		
Sim	161	64,7
Não	88	35,3
Total	250	100,0
Número de transfusões		
1 a 5	129	80,1
6 a 15	25	15,5
> 15	07	4,4
Total	161	100,0

Relacionando os pacientes com o período das transfusões sangüíneas, observa-se que 70,8% dos pacientes tinham realizado a primeira transfusão depois de novembro de 1993 (tabela 7).

Tabela 7: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o período da transfusão sangüínea e/ou hemoderivados

	n	%
Período da transfusão		
Antes de nov. de 1993	47	29,2
Depois de nov. de 1993	114	70,8
Total	161	100,0

Quanto à realização de tatuagem e uso de drogas injetáveis, apenas 2% e 0,8% da população, respectivamente, já tinham se envolvido com tais procedimentos (tabela 8).

Tabela 8. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à realização de tatuagem e uso de drogas injetáveis

	n	%
Tatuagem		
Sim	05	2,0
Não	245	98,0
Usa drogas injetáveis		
Sim	02	0,8
Não	248	99,2
Total	250	100,0

5.2- DETECÇÃO DO ANTICORPO ANTI-HCV POR ELISA

Foi detectado 8,4% (21/250) de pacientes com resultado positivo para o HCV, com intervalo de confiança variando entre 5,4 e 12,7%. Apenas 01 paciente (0,4%) apresentou resultado indeterminado.

5.3- DETECÇÃO DO HCV RNA PELA PCR

Foram identificados 19 (7,6%) pacientes positivos para o HCV por esta técnica, com intervalo de confiança variando entre 4,6 e 11,6% . Todos os pacientes que apresentaram sorologia negativa para o anti-HCV, foram também negativos para a pesquisa do HCV RNA. Em dois pacientes anti-HCV reagentes, por duas técnicas diferentes, não foram detectados o HCV RNA pela PCR.

5.4 –“IMMUNOBLOT”

Após a análise dos soros de 02 pacientes pelo I.B., foram observados os seguintes resultados: paciente 82 – reagiu contra as proteínas: C33c e c22(p) e o paciente 233 – reagiu contra as proteínas: c100(p), C33c, c22(p) e NS5. De acordo com os critérios de interpretação dos resultados, foram confirmados que os dois pacientes apresentavam a infecção pelo HCV.

O paciente que apresentou um resultado indeterminado pelo ELISA em dois métodos diferentes e HCV RNA não detectado, foi também indeterminado pelo I.B., reagindo apenas contra uma proteína: C33c.

A tabela 9 mostra os resultados obtidos das análises dos soros pelas técnicas do ELISA e da PCR.

Tabela 9: Comparação dos resultados obtidos pelas técnicas do ELISA e da PCR

Elisa	PCR		Total	%
	Positiva	Negativa		
Positivo	19	2	21	8,4
Negativo	-	228	228	91,6
Total	19	230	249	100

ELISA ⇒ ensaio imunoenzimático; K = 0,946 (0,908; 0,984)

PCR ⇒ Reação em Cadeia da Polimerase

(-) ⇒ não detectado

5.5- PREVALÊNCIA

A prevalência da hepatite C nos hemodialisados foi de 8,4% baseada na detecção dos anticorpos anti-HCV (gráfico 1).

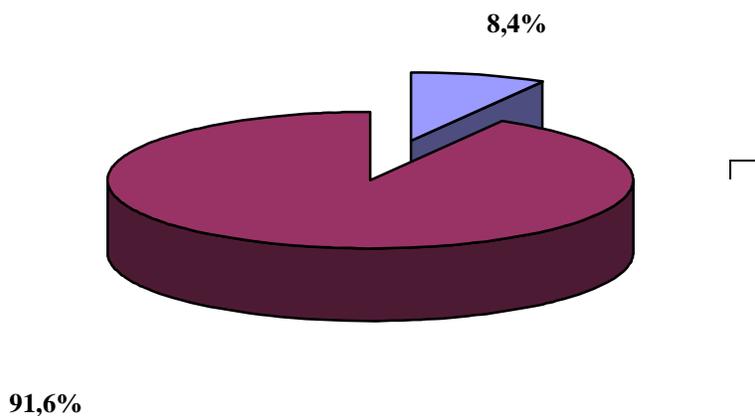


Gráfico 1. Positividade para anticorpos anti-HCV em hemodialisados

5.6- VERIFICAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS INDEPENDENTES E O HCV

Quanto à faixa etária, observa-se que a distribuição dos pacientes HCV positivos foi semelhante à dos pacientes negativos para o HCV. O teste de significância não foi válido por conter baixas frequências nas menores faixas (tabela 10).

Tabela 10: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a faixa etária e a positividade para o HCV

Faixa etária (em anos)	HCV				Total	
	Positivo		Negativo		n	%
	n	%	n	%		
Menor de 20	00	0,0	04	1,8	04	1,6
De 20 a 39	07	33,3	69	30,3	76	30,5
40 e mais	14	66,7	155	68,0	169	67,9
Total	21	100,0	228	100,0	249	100,0

χ^2 = não válido

Agrupando-se as menores faixas, observa-se uma prevalência para o HCV de 8,8% nos menores de 40 anos, bem próxima à prevalência dos maiores de 40 anos (8,3%). Não houve diferença estatisticamente significativa entre faixa etária e positividade para o HCV (tabela 11).

Tabela 11. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à faixa etária agrupada e a positividade para o HCV

Faixa etária (em anos)	HCV				Total	
	Positivo		Negativo		n	%
	n	%	n	%		
Menor de 40	07	8,8	73	91,2	80	32,1
40 e mais	14	8,3	155	91,7	169	67,9
Total	21	(8,4)	228	(91,6)	249	100,0

$\chi^2 = 0,01$ $p = 0,903$ $RR = 1,06 (0,44; 2,51)$

Em relação ao sexo, a prevalência da positividade para o HCV foi maior (9,6%) nos homens quando comparada com as mulheres (6,8%), porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (tabela 12).

Tabela 12. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo ao sexo e a positividade para o HCV

Sexo	HCV				Total	
	Positivo		Negativo		n	%
	n	%	n	%		
Masculino	14	9,6	132	90,4	146	58,6
Feminino	07	6,8	96	93,2	169	41,4
Total	21	(8,4)	228	(91,6)	249	100,0

$\chi^2 = 0,30$ $p = 0,582$ $RR = 1,45 (0,59; 3,37)$

A prevalência da positividade para o HCV foi maior (15,0%) nos pacientes que realizavam tratamento na sala amarela, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (tabela 13).

Tabela 13. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a sala para realização do tratamento e a positividade para o HCV

SALA	HCV				Total	
	Positivo		Negativo			
	n	%	n	%	n	%
Branca	13	7,3	165	92,7	178	71,5
Convênio	05	9,8	46	90,2	51	20,5
Amarela	03	15,0	17	85,0	20	8,0
Total	21	(8,4)	228	(91,6)	249	100,0

$\chi^2 = 1,54$ $p = 0,464$

Quanto à variável tempo de hemodiálise, a prevalência da positividade para o HCV foi de 14% nos pacientes submetidos a este tratamento por 05 anos ou mais e de 5,1% com tempo menor que 05 anos, mostrando uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos $p < 0,05$ (tabela 14).

Tabela 14. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o tempo de hemodiálise e a positividade para o HCV

Tempo de hemodiálise (em anos)	HCV				Total	
	Positivo		Negativo			
	n	%	n	%	n	%
5 e mais	13	14,0	80	86,0	93	37,3
Menor de 5	08	5,1	148	94,9	156	62,7
Total	21	(8,4)	228	(91,6)	249	100,0

$\chi^2 = 4,82$ $p = 0,028$ RR = 2,73 (1,17; 6,33)

Analisando os pacientes que realizaram transfusão de sangue e/ou hemoderivados, verificou-se que não houve associação estatisticamente significativa com a positividade para o HCV (tabela 15). Porém, quando observado a relação entre o número de transfusões e a positividade para o HCV, verificou-se uma associação estatisticamente significativa ($p = 0,004$) (tabela 15).

Tabela 15. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a realização e número de transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados e a positividade para o HCV

	HCV				RR (IC)	p
	Positivo		Negativo			
	n	%	n	%		
Transfusão					2,32 (0,81; 6,69)	1,94 0,163
Sim	17	10,6	144	89,4		
Não	04	4,5	84	95,5		
Total	21	15,1	228	164,9		
Número de Transfusões						12,88 0,004
Nenhuma	04	4,5	84	95,5	1,0	
De 1 a 5	11	8,5	118	91,5	1,88 (0,62; 5,7)	
De 6 a 15	03	12,0	22	88,0	2,64 (0,63; 11,03)	
Mais de 15	03	42,9	04	67,1	9,43 (2,61; 34,04)	
Total	17	63,4	144	246,6		

Na tabela 16, observa-se que a prevalência da positividade para o HCV foi de 19,1% no grupo que fez transfusão antes de novembro de 1993, enquanto que nos pacientes submetidos à transfusões após este período, esta reduziu para 7%, mostrando uma associação estatisticamente significativa ($p = 0,026$).

Tabela 16: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o período das transfusões e a positividade para o HCV

Período da transfusão	HCV				Total	
	Positivo		Negativo		n	%
	n	%	n	%		
Antes de 1993	09	19,1	38	80,9	47	29,2
Depois de 1993	08	7,0	106	93,0	114	70,8
Total	17	(8,4)	144	(91,6)	161	100,0
$\chi^2 = 3,98$	p = 0,026		RR = 2,73 (1,12; 6,64)			

Após a análise univariada verificou-se que o tempo de hemodiálise, número e período das transfusões apresentou-se como possíveis fatores de confusão para a positividade do HCV, pois elas estão tanto relacionadas com a exposição quanto com o desfecho. As tabelas 17 e 18 mostram a associação entre as variáveis que apresentaram diferença estatisticamente significativa com o HCV.

Tabela 17: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o número e período das transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados e tempo de hemodiálise.

	Período da transfusão				χ^2	p
	Antes de 1993		Depois de 1993			
	n	%	n	%		
Número de transfusão					14,1	0,000
1 a 5	29	61,7	100	87,7		
≥ 6	18	38,3	14	12,3		
Tempo de hemodiálise					16,3	0,000
Menos de 5 anos	15	31,9	76	66,7		
5 anos e mais	32	68,1	38	33,3		

Tabela 18 . Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o número de transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados e o tempo de hemodiálise.

Tempo de hemodiálise	Número de transfusões				Total	
	1- 5		6 e mais		n	%
	n	%	n	%		
Menos de 5 anos	81	62,8	10	31,3	91	56,5
5 anos e mais	48	37,2	22	68,8	70	43,5
Total	129	100,0	32	100,0	161	100,0

$\chi^2 = 10,38$ $p = 0,001$

Permaneceu no modelo final apenas a variável período de transfusão sanguínea e/ou hemoderivados haja visto que com a retirada das outras variáveis, número de transfusões e tempo de hemodiálise, obteve-se um valor de $p = 0,322$ e $p = 0,220$ respectivamente pela razão de máxima verossimilhança.

Tabela 19: Modelo final da regressão logística entre o tempo de hemodiálise, número e período da transfusão sanguínea e/ou hemoderivados e a positividade para o HCV em hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002

Variável no modelo	OD	IC	P- VALOR
Período da transfusão			
Depois de nov. 1993	3,13	(1,12-8,71)	0,0295
Antes de nov. 1993	1		

5.7- SEQÜENCIAMENTO

Os resultados da genotipagem a partir das amostras positivas pela PCR mostraram que os genótipos 1 e o 3 são os mais prevalentes (gráfico 2).

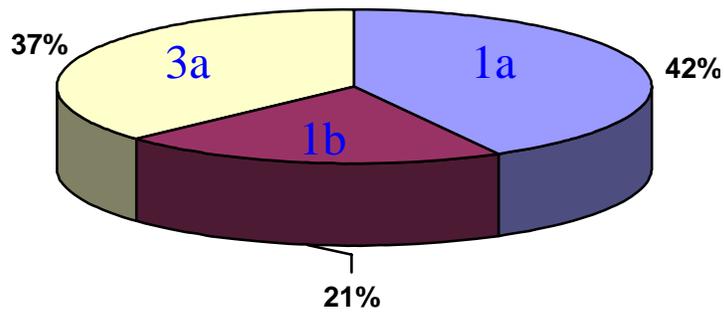


Gráfico 2: Distribuição dos genótipos circulantes na clínica estudada

Alignment Report of GENOT1B.MEG, using Clustal method with Weighted residue weight table.

12 de June de 2003 15:56

	10	20	30	40	50	60	70	
1	CTGCCGAA	CCGGTGAGTACACCCGGAATTGCCAGGACGACCCGGGTCCTTCTTGGATCAACCCGCTCAATG	HCV.SEQ					
1	-	2.SEQ
1	-	GT	.	52.SEQ
1	-	8.SEQ
1	-	GT	.	182.SEQ
	80	90	100	110	120			
71	CCTGGAGATT	TGGCGGTGCCCCCGCAAGACTGCTAGCCGAGTAGTGTGGGTCGGC	HCV.SEQ					
70	2.SEQ
70	52.SEQ
70	8.SEQ
70	182.SEQ

Decoration #1: Hide (as '.') residues that match HCV.SEQ exactly.

Figura 6 . Seqüências das amostras com subtipo 1b do HCV

6- LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS

Devido as variáveis tempo de hemodiálise, realização de transfusão sangüínea e/ou hemoderivados , numero e período dessa transfusão terem sido informadas pelos próprios pacientes, o estudo pode apresentar viés de informação e seleção.

O dia em que o paciente necessitou realizar pela 1ª vez o tratamento de hemodiálise parece ter sido marcante. Pois, quando era feita a pergunta para a obtenção desse dado, a resposta, na maioria das vezes , era de maneira clara e concreta. Da mesma forma ocorreu com a obtenção dos dados em relação a realização, numero e período da transfusão sangüínea e/ou hemoderivados. Todavia, mesmo com a clareza dessas informações, o referido estudado pode apresentar viés de informação.

6.1 - Viés de informação

É considerado viés de informação, de aferição ou de observação, ao erro sistemático de classificação quanto à exposição e/ ou quanto ao diagnostico. (Ebrahim et al, 1995).

Embora as informações coletadas terem sido lembradas com clareza, é possível que alguns pacientes tenham sido classificados erroneamente, pois como o estudo transversal utiliza apenas um momento da coleta de dados, é possível ter havido erros de classificação.

6.2 - Viés de seleção

O viés de seleção em uma investigação científica, também chamado de viés da amostra ou da população, e ocorre quando há diferenças sistemáticas de características entre aqueles que são selecionados para estudo e aqueles que não o são. Isso acontece quando um ou mais subgrupos da amostra não estão devidamente representados na amostra selecionada para pesquisa (Pereira, 1995; Fletcher et al, 1996).

Nesse estudo houve uma perda inicial de um paciente que recusou-se participar do mesmo. As outras exclusões com o trabalho já iniciado, foram por motivos que impediram a coleta do sangue, inviabilizando o diagnóstico. Porém a perda de 2.7% (07/257) foi considerada aceitável, pois representa uma população com as mesmas características da população analisada.

- Viés de prevalência

É um tipo de viés de seleção que pode ter acontecido neste estudo pelo fato de que os pacientes que compuseram a amostra são os sobreviventes. (Campana et al, 2001).

7- DISCUSSÃO

Casos de hepatites C vêm surgindo ao longo dos anos em centros de diálise, mesmo com o aumento do controle de qualidade e eficiência dos métodos para a triagem e detecção do HCV.

Em Pernambuco, há uma escassez de dados referentes à hepatite C em pacientes hemodialisados. Por isso, neste trabalho procurou-se investigar a situação desta infecção em pacientes de um centro de diálise em um dado momento do tempo.

Duzentos e cinquenta e sete questionários foram preenchidos, porém só foi possível a realização do estudo em 250 pacientes, a exclusão dos sete pacientes foi devida: à desistência por motivos pessoais, transplante, transferência para outras clínicas e óbito.

O tipo de estudo abordado apresenta algumas vantagens e desvantagens. As vantagens são: possibilita a identificação de casos na comunidade e detecta grupos de alto risco. A maioria das vezes apresenta um custo reduzido, simplicidade e rapidez de realização, porém não foi o caso desse trabalho. Foram realizadas várias técnicas e sobretudo a PCR, que além de ser bastante dispendiosa também necessita de tempo para a sua execução.

As desvantagens são: em condições de baixa prevalência, a amostra deve ter o seu tamanho aumentado, o que dificulta a operacionalização do trabalho; possibilidade de erros de classificação e a ocorrência de viés de prevalência (Pereira et al, 1995);

No Brasil e em outros lugares do mundo, a prevalência da hepatite C em pacientes hemodialisados, obtida através do ELISA e da PCR varia de 7 – 44,9% (Cardoso et al, 1994; Salama et al, 2000; Moreira et al, 2000; Carneiro et al, 2001; Hinrichsen et al, 2002; Busek et al, 2002).

Nesse trabalho, a prevalência da hepatite C foi baixa (8,4%) em relação a outros estudos de prevalência brasileiros, também em hemodialisados, que mostraram índices que variavam de 14,6% - 65%. Porém, se considerarmos que a estimativa da infecção para o HCV na população geral é de 1,2%, observa-se um índice sete vezes maior (Vanderborght et al, 1995; Carvalho et al, 1999; Moreira et al, 2000; Carneiro et al, 2001; Santana et al, 2001; Busek et al, 2002, BR/MS/FUNASA, 2003).

A realização de transfusão sanguínea e/ou hemoderivados é um fator de risco importante para a transmissão do HCV, como mostrado no estudo de Yonemura et al (1996) que ao analisarem 52 pacientes que haviam realizado transfusão, 21 (40,4%) apresentaram anticorpo para o HCV. E em relação aos pacientes desprovidos de transfusão, apenas 11% (20/182) tinham esse tipo de anticorpo. Porém, nesse estudo não foi verificado essa associação. Todavia, em relação ao número de transfusões observou-se uma diferença estatisticamente significativa com a positividade para o HCV. Esses dados foram semelhantes aos do estudo de Hinrichsen et al (2002), que também encontraram um aumento na prevalência para o HCV em pacientes que realizaram múltiplas transfusões.

Embora o tempo de hemodiálise represente um fator para o aumento da prevalência da hepatite C em pacientes hemodialisados como observado em vários trabalhos (Cardoso et al, 1994; Salama et al, 2000; Carneiro et al, 2001; Santana et al, 2001), nesse estudo foi verificado que o tempo de hemodiálise é um fator de confusão para a aquisição do HCV. Após a realização da regressão logística, foi visto que, dos pacientes que realizavam o tratamento há 05 anos ou mais a prevalência da positividade para o HCV foi maior nos que necessitaram receber a transfusão em um período antes de novembro 1993. Da mesma forma foi verificado com a variável número de transfusão, ou seja, a prevalência da positividade para o HCV foi maior nos pacientes que necessitaram de mais de 05 transfusões, porém em um período antes de novembro de 1993.

Testes para pesquisa do anti-HCV tornaram-se obrigatórios de acordo com o Ministério da Saúde, pela portaria de nº 1376 de 19 de Novembro de 1993. O período em que ocorreu a primeira transfusão parece ser o principal fator para a aquisição do HCV nesse estudo. A análise multivariada mostrou que esses pacientes são HCV positivos não porque realizavam o tratamento de hemodiálise há 05 anos ou mais ou porque realizaram mais de 05 transfusões e sim porque necessitaram de uma ou mais transfusões em um período antes de novembro de 1993.

Analisando o risco relativo desse estudo, o grupo que necessitou de transfusão sanguínea e/ou de hemoderivados antes de novembro de 1993 teve 2,7 vezes mais chance de ser positivo para o HCV do que aqueles que necessitaram desse procedimento após este período.

Alguns trabalhos mostram um risco bem mais elevado para a aquisição do HCV em pacientes hemodialisados, como o de Carneiro et al (2001). Esses autores analisando 428 pacientes provenientes de 08 clínicas de diálise, mostraram que dos pacientes que receberam transfusão sanguínea e/ou hemoderivados antes de novembro de 1993 apresentavam um risco de 6,5 vezes mais chances em adquirir o HCV do que os pacientes que receberam depois desse período.

A realização de tatuagem e uso de drogas injetáveis são considerados fatores de riscos para a transmissão do HCV, porém nesse estudo, face ao pequeno número de pacientes envolvidos nessas categorias, não foi possível a comparação adequada. Entretanto, dos pacientes que tinham tatuagem e dos usuários de drogas, 2/5 e 1/2, respectivamente, foram HCV positivos.

Pacientes renais crônicos há mais ou menos 10–12 anos atrás, necessitavam quase que regularmente receber transfusões sanguíneas devido ao aparecimento de quadros de anemias. Porém, com o advento da eritropoetina recombinante humana (rHuEPO) essa necessidade vem diminuindo e, devido às triagens dos produtos do sangue para o anti-HCV em bancos de sangue, o risco em adquirir a infecção pelo HCV por meio de uma transfusão vem diminuindo ao

longo do tempo. Em 1990, nos E.U.A, após análises de pacientes que necessitaram de transfusão sangüínea, o risco de uma transmissão do HCV por meio de uma transfusão era de aproximadamente 0,02% por unidade transfundida e em julho de 1992 este risco reduziu para 0,001% (Donahue et al, 1992; Schreiber et al, 1996).

Para a realização da análise estatística desse estudo foi necessária a exclusão de um paciente que apresentou resultado indeterminado para hepatite C, tanto pelo ELISA como pelo I.B. A associação das variáveis independentes como fatores de risco, só poderiam ser relacionadas com pacientes que apresentavam um diagnóstico preciso para o HCV.

Os resultados indeterminados por essas técnicas podem ser importantes, pois sugerem que os pacientes poderiam está em fase de soroconversão e ainda possuírem baixos títulos de anticorpos (CDC, 1998). Estes pacientes devem ser monitorados realizando novos testes com novas amostras, a fim de se obter um diagnóstico definitivo e dessa forma realizarem o tratamento de hemodiálise na máquina propicia e principalmente ser avaliado por um hepatologista e ter acesso a um tratamento antiviral.

É extremamente importante solucionar casos de pacientes com resultados indeterminados pelo ELISA em unidades de diálise. Apenas com a utilização dessa técnica na triagem dos pacientes, pode fornecer resultado falso positivo e, este paciente ser conduzido a realizar tratamento em máquinas que só seriam utilizadas por pacientes HCV positivos confirmados.

Resultados falsos positivos e falsos negativos, mesmo com a utilização de testes de 3ª geração, ainda são observados. Pacientes que apresentam infecção aguda pelo HCV, não são detectados pela pesquisa do anti-HCV por nenhum teste já desenvolvido.

O teste de I.B. é o método suplementar dos resultados reagentes pelo ELISA, por apresentar as proteínas do vírus separadamente, ele apresenta maior especificidade.

Esse teste não é realizado em rotinas de laboratórios, tanto por ser dispendioso como também pela difícil execução e interpretação. Sua utilização como teste complementar seria primordial em unidades de diálise, pois tanto ajudaria para confirmar resultados positivos pelo ELISA, como também evitaria resultados falsos negativos.

Moreira et al (2000) ao realizarem diferentes técnicas para investigar a situação da hepatite C em dois centros de hemodiálise em São Paulo, observaram que o ELISA de 3^a geração utilizado falhou em não detectar 3 amostras positivas e 7 indeterminadas pelo I.B.

O I.B. utilizado nesse estudo confirmou a presença de anticorpos anti-HCV nas amostras de dois pacientes que apresentaram ELISA reagente e HCV RNA não detectado pela PCR. Embora 15 a 20% da população se recuperam de uma infecção aguda pelo HCV, um resultado de PCR negativo não exclui viremia, podendo o paciente apresentar uma carga viral abaixo do limite de detecção do ensaio (NIH,2002). Neste caso deve-se haver um acompanhamento médico, em que o paciente possa refazer a PCR em outros momentos e assim monitorar de forma adequada a infecção.

Todos os pacientes renais crônicos envolvidos nesse estudo que apresentaram ELISA reagente (exceto o paciente indeterminado), tiveram um resultado da densidade óptica 2 a 3 vezes maior que o cut-off.

De acordo com Al Meshari et al (1995) os pacientes renais crônicos apresentam uma fraca resposta imunológica a uma grande variedade de estímulos antigênicos ou devido ao próprio estado urêmico.

Alguns centros de diálise apresentam pacientes que são desprovidos do anticorpo anti-HCV, porém apresentam o HCV RNA circulando no sangue. Cardoso et al (1994) encontraram 4,8% desses pacientes; Fernández et al (1996) 12,9%; Salama et al (2000) 0,46%; Moreira (2000) 2,4%; Carneiro et al (2001) 10,3%; Hinrichsen et al (2002) 0,8%; Busek et al (2002) 1,4%. Cardoso et al (1994) e Fernández et al (1996) realizaram ELISA de 2^a geração e todos os outros o de 3^a geração.

Por outro lado, existe centros que não apresentam pacientes com tal característica. Salama et al (2000) ao realizarem um estudo de prevalência para o HCV em 25 centros, observaram que em apenas 06 centros existiam pacientes HCV RNA positivos com anti-HCV não reagente.

No centro estudado, todos os pacientes virêmicos pela PCR, foram detectados os anticorpos anti-HCV pelo ELISA.

Esses dados corroboram com os de Dalekos et al (1998) que ao realizarem um estudo prospectivo de seis meses, também não detectaram pacientes hemodialisados com HCV RNA positivo pela PCR e anti-HCV não reagente pelo ELISA. Segundo Dalekos et al (1998), isto se deve ao uso de testes 1^a e 2^a geração que apresentam baixa sensibilidade e especificidade em relação aos de 3^a geração, utilizados em seu trabalho. Esses autores ainda propõem que ao serem realizados testes de ELISA de 3^a geração, não haveria necessidade da realização da PCR em pacientes anti-HCV negativo. Porém, a geração dos ELISAS utilizados nos estudos dos diferentes autores citados anteriormente que não detectaram anticorpos em pacientes virêmicos, eram de 2^a e a maioria de 3^a geração. Carneiro et al (2001) encontraram um percentual alto (10,3%) desses casos utilizando ELISA de 3^a geração.

Embora um “kit” de 3^a geração apresentem uma alta sensibilidade, o mesmo não consegue detectar os anticorpos anti-HCV em paciente recentemente infectado.

A existência de pacientes anti-HCV negativos e HCV RNA positivos, pode ocorrer devido ao comprometimento imunológico do paciente renal crônico e com isso haver um retardo na produção de anticorpos ou até mesmo por uma infecção recente em que ainda não há anticorpos circulantes no sangue.

O “Kit” para detecção dos anticorpos anti-HCV utilizado nesse trabalho apresentou-se de boa qualidade. A especificidade é estimada a 99,88% com um intervalo de confiança de 95% de 99,77% a 99,93%. Quando aplicado o índice Kappa com a PCR observou-se uma excelente concordância ($K = 0,946$).

O ELISA conseguiu detectar todos os pacientes infectados com o HCV e apenas informou 01 resultado indeterminado ou talvez falso-positivo, pois este paciente ao

ser re-testado com uma amostra coletada após sete meses, continuou sendo indeterminado.

O tipo de estudo desse trabalho não fornece subsídios para propor que com a utilização do ELISA de 3^a geração não haveria necessidade do uso da PCR como teste de triagem em centros de diálise. Estudos prospectivos de doze a dezoito meses seriam ideais e necessários para o fortalecimento dessa proposta, embora se sabe que a utilização da PCR é bastante relevante para um diagnóstico mais precoce.

Quando em uma clínica de hemodiálise não se encontra paciente com anti-HCV negativo e HCV RNA positivo, pode ser que o mesmo ainda apresente uma boa resposta imunológica ou até mesmo por não haver disseminação da infecção no interior da clínica. É o que pode estar acontecendo com os pacientes do centro de diálise estudado devido aos resultados encontrados.

Para evitar a transmissão nosocomial e disseminação do vírus, cabe ressaltar a importância de rigorosas precauções gerais, incluindo procedimentos de limpeza e desinfecção (Sampietro et al, 1996).

De acordo com os resultados de Loureiro et al (1995), unidades de hemodiálise de Portugal, apresentaram um declínio na incidência da infecção pelo HCV. Em 1991, esse número era de 11,2%, em 1992 caiu para 7,2% e em 1993, 6,5%. O declínio inicial poderia ser atribuído à redução de infecções pós-transfusão. E o declínio tardio da incidência, provavelmente devido à implementação de medidas de controle da infecção para prevenir a transmissão nosocomial no interior das unidades de diálise (Pereira, 1999).

Jadoul et al (1998) também observaram uma diminuição na incidência de hemodialisados com o HCV, após um período em que as precauções universais nos centros foram reforçadas. Esse declínio foi de 1,41% (5/236) para 0,56% (2/238) e para 0% (0/269) no período de maio de 1991 a novembro de 1995.

Segundo a portaria normativa do Ministério da Saúde (Nº 82), todas as unidades de diálise são obrigadas a realizar mensalmente em todos os pacientes a sorologia para a hepatite C. Após a análise mensal, se um paciente apresentar sorologia negativa para o HCV, ele será diagnosticado negativo e então poderá

compartilhar a máquina de diálise com outros pacientes também negativos para esta infecção.

A realização da PCR, que é o método eleito para detectar viremia (Fernadéz et al, 1996), pode identificar pacientes com a infecção, porém ainda não diagnosticado pela sorologia mensal. Esses pacientes teriam um acompanhamento, realizariam o tratamento em máquinas reservadas e seriam monitorados para a realização, se possível, de um tratamento antiviral.

Sampietro et al (1996) ao estudarem a transmissão nosocomial em unidades de diálise, relataram que a fonte de infecção do HCV pode ser atribuída à transmissão vertical, que é através das máquinas de hemodiálise. Segundo estes autores, embora o vírus seja 10 vezes maior que o poro da membrana do filtro, ele poderia passar por esses poros caso os mesmos apresentassem alguma alteração de tamanho ou até mesmo pequenas rupturas na membrana, isso poderia acontecer também devido a uma maior reutilização dos filtros.

Caso um paciente apresente o HCV RNA positivo com sorologia negativa, o mesmo será diagnosticado pelo centro de diálise como negativo para hepatite C, então ele compartilhará a máquina de diálise com outros pacientes que são realmente negativos para esta infecção. Se a unidade de diálise não apresentar um controle de qualidade rígido em relação aos filtros, esse paciente poderá infectar a máquina caso o vírus acidentalmente ultrapasse os poros da membrana do filtro, colocando em risco os pacientes que realizam a terapia no mesmo local.

Taskapan et al (2001) e Harmankaya et al (2002) ao realizarem estudos com hemodialisados na Turquia, observaram que o tratamento dos pacientes HCV positivos em máquinas reservadas diminui drasticamente a prevalência para a hepatite C (81% para 4,7%).

Os pacientes HCV positivos envolvidos nesse estudo, realizam tratamento em máquinas reservadas. No final de cada turno, todos os filtros e as conexões de cada paciente, passam por um sistema de limpeza e desinfecção. Após o término do terceiro turno, todas as máquinas são desinfectadas por meio de um processo químico e térmico realizada pela própria máquina. De acordo com a escala dos pacientes para a realização do tratamento, as máquinas reservadas para pacientes

HCV positivos podem ser utilizadas por pacientes HCV negativos no primeiro turno do dia seguinte à desinfecção, ou até o momento em que um paciente positivo utilize a mesma. Depois que o paciente positivo realiza o tratamento, a máquina só poderá ser usada por outro paciente HCV positivo até a próxima desinfecção.

Quando um novo paciente entra no programa de hemodiálise da clínica estudada, o tratamento é realizado em uma máquina reservada e logo após, a mesma passa pelo processo de desinfecção e tanto o filtro como todas as conexões utilizadas pelo paciente são lavadas e desinfetadas na própria máquina. A rotina volta ao normal depois que todos os testes para as doenças transmissíveis pelo sangue como HCV, HBV, HIV e determinação da ALT fiquem concluídos.

Os filtros utilizados pelos pacientes HCV positivos e negativos são lavados separadamente por profissionais diferentes e seguindo as regras de biossegurança.

A prevenção da hepatite C em unidades de diálise vem sendo abordada de maneira diferente por alguns autores.

Gilli et al (1995) acham que o tratamento de pacientes infectados com o HCV em máquinas separadas parece não ser extremamente necessário. Por outro lado, Guiserix (1996) sugere que o isolamento de pacientes positivos impede a contaminação não só do HCV, mas também de outras viroses.

Tendo visto os resultados de trabalhos brasileiros como também de outros lugares do mundo, observa-se que deve haver uma rigorosa utilização das precauções universais, ou seja, uso da biossegurança, uma correta lavagem e medição dos poros das membranas dos filtros, sorologia mensal para detecção dos anticorpos para o HCV, como outros requisitos informados pelo Ministério da Saúde pela portaria de nº 82, para que ocorra um declínio na prevalência da positividade para o HCV em unidades de hemodiálise.

As autoridades dos centros de hemodiálise deveriam impedir que pacientes hemodialisados se infectem com o HCV. Os pacientes renais crônicos já são bastante comprometidos e a infecção pelo HCV intensificaria ainda mais o seu quadro clínico. Para isso seria necessária a utilização de medidas para que esse vírus não se dissemine de paciente para paciente dentro do próprio ambiente de

hemodiálise, como também programas de assistência social e educação sexual para o ensinamento de outras formas de contágio fora do ambiente de tratamento.

Os genótipos circulantes na clínica estudada foram o 1 e o 3 e estes são os mais prevalentes não só em hemodialisados como também em indivíduos cronicamente infectados com função renal normal (Martins et al, 1998; Filgueira, 1999; Cavalheiro, 1999; Moreira et al, 2000; Krug et al, 1996). A homogeneidade de cepas virais do mesmo genótipo no centro estudado reflete transmissão nosocomial, porém não se pode afirmar devido ao não conhecimento pela pesquisadora de que esses pacientes já teriam ingressado na clínica infectados com o HCV. Estudos retrospectivos e prospectivos são necessários para se ter uma avaliação melhor a respeito do período e até mesmo do modo como esses pacientes poderiam estar adquirindo essa infecção.

Analisando o resultado encontrado de que o período da transfusão é que está mais estreitamente associado com o HCV nesse estudo, observa-se que com um controle de qualidade mais rígido nos bancos de sangue, devido a utilização da técnica de detecção do ácido nucléico RNA (NAT) para o HCV e HIV (Lei nº 262 de fevereiro de 2002) e pela diminuição da necessidade dos pacientes renais crônicos em realizar transfusões, a prevalência da positividade para o HCV nessa unidade tende a diminuir, porém estudos prospectivos são necessários para essa afirmação.

O ideal seria realizar esse tipo de estudo em todos os centros de hemodiálise do Estado de Pernambuco, pois assim poderíamos ter a real prevalência da positividade para o HCV nessa população e ficaríamos sabendo dos centros que são mais comprometidos com esta infecção.

8- CONCLUSÕES

- A prevalência da infecção pelo HCV na população estudada foi baixa em relação a outros estudos de prevalência brasileiros, porém alta quando comparada com a prevalência de 1,2% da população geral;
- O genótipo predominante neste estudo foi o 1a;
- O tempo de hemodiálise, número e período da transfusão sangüínea e/ou hemoderivados mostraram associação estatisticamente significativa com a positividade para o HCV nos pacientes estudados;
- A realização de transfusão sangüínea e/ou hemoderivados antes de novembro de 1993 é que está mais estreitamente associada com a positividade para o HCV

9- SUGESTÃO

Realizar estudos prospectivos para observar a incidência da infecção pelo HCV e também para uma melhor avaliação no uso da PCR como teste de triagem, importante para o diagnóstico precoce da infecção.

10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACH, R.D. et al.. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis: analysis with first and second generation assays. **N Engl J Med**, Boston, v. 325, p. 1325-1329, 1991.

AGNELLO, V.; CHUNG, R.T.; KAPLAN, L.M.. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. **N Engl J Med**, Boston, v. 327, p. 1490-1495, 1992.

AL MESHARI, K. et al. New Insights into hepatitis C virus infection of hemodialysis patients: the implications. **American Journal of Kidney Diseases**, Philadelphia, v. 25, n. 04, p. 572-578, Abr. 1995.

ALMROTH, G. et al.. Antibody response to hepatitis C virus and its modes of transmission in dialysis patients. **Nephron**, Basel, v. 59, p. 232-235, 1991.

ALTER, M.J.. Epidemiology of community-acquired hepatitis C. In: HOLLINGER, F.B.; LEMON, S.M.H. **Viral Hepatitis and Liver Disease**, Baltimore: Williams, 1990, p.410-413.

ALTER, H.J. et al. Hepatitis C in asymptomatic blood donors. **Hepatology**, Philadelphia, v. 26, p. 29-33, 1997.

ALTER, M.. Prevention of spread of Hepatitis C. **Hepatology**, Philadelphia, v. 36, n. 05, p. S93-S98, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: Informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BARBOSA, A.P et al. Prevalence of hepatitis C virus infection among hemophiliacs in Central do Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 05, p. 643-644, 2002.

BDOUR, S. Hepatitis C virus infection in Jordanian hemodialysis units: serological diagnosis and genotyping. **J. Med. Microbiol.**, London, v. 51, p. 700-704, 2002.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Legislação – Portarias. Portaria N°. 82. Disponível em: < <http://www.anvisa.com.br>> acesso em: 01 maio. 2003.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Legislação – Portarias. Portaria N°. 1376. Disponível em: < <http://www.anvisa.com.br>> acesso em: 01 maio. 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE: FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Hepatites. Disponível em:<http://www.funasa.gov.br/guia_epi/htm/doencas/hepatite/situacao_doenca.htm> acesso em: 13 mar. 2003.

BROWN, D.; MANOLAKOPOULOS, S.; DUSHEIKO, G.. Diagnosis of acute and chronic hepatitis C. In: ZUCKERMAN, A.J.; THOMAS, H.C.. **Viral Hepatitis**, 2ed. London: Chirchill Livingstone, 1998, p: 319-38.

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. **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington,, v. 89, p. 187-191, 1992.

BUKH, J.; MILLER, R.H.; PURCELL, R.H.. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. **Semin Liver Dis**, New York, v. 15, p. 41-63, 1995.

BUSCH, M.P. et al. Impact of specimen handling and storage on detection of hepatitis C virus RNA. **Transfusion**, Bethesda, v. 32, p. 420-425, 1992.

BUSEK, S.U. et al. Hepatitis C and hepatitis B virus infection in different hemodialysis units in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.97, n. 06, p. 775-778, Set. 2002.

CALADO, I.A. et al. Frequência da soropositividade anti-HCV em amostras enviadas ao Lacen/PE no período de Julho de 2000 a Julho de 2002. **Livro de resumos do I Encontro da Saúde Pública de Pernambuco** Recife/PE, v. 01, p. 137, 2002.

CAMARA, G.N.N.L. et al. Diagnosis of hepatitis A, B and C in Distrito Federal-DF, from July to December, 1997. *Virus Reviews & Research*, v. 03, Suppl 1, p. 108, 1998.

CAMPANA, AO. et al. Investigação Científica em Medicina (parte IV). In:___ **Investigação Científica na Área Médica**. São Paulo: Manole Ltda, 2001. p. 109-201.

CARDOSO, M.S. et al. Prevalence of HCV-RNA-Positive patients in a dialysis unit in Germany. **Nephron**, Basel, v. 68, p. 517-518, 1994.

CARNEIRO M.A.S. et al. Hepatitis C Prevalence and Factors in Hemodialysis Patients in Central Brazil: a Survey by Polymerase Chain Reaction and Serological Methods. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, p. 765-769, Agosto 2001.

CARVALHO, M..et al. High prevalence of hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients. **Braz J Infect Dis**, Salvador/BA, v. 03, n. 04, p. 144-148, Ago.1999.

CAVALHEIRO, N.P.. **Análise dos sorotipos do VHC identificados em pacientes da cidade de São Paulo, através de método imunoenzimático.** 1999. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 1999.

Center for Disease Control (CDC). Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 47, p. 1-39, 1998.

Center for Disease Control (CDC). Recommendation for Preventing Transmission of Infections Among Chronic Hemodialysis Patients. **Morbidity and Mortality Weekly Report** , Atlanta, v. 50, p. 1-41, 2001.

CHA,T.A. et al. At least five related, but distinct, hepatitis C viral genotypes exist. **Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A**, Washington, v. 89, p. 7144-7148, 1992.

CHAN, T.M.;LOK, A.S.F.; CHENG, I.K.P.. Hepatitis C infection among dialysis patients: A comparison between patients on maintenance hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 6, p.944-947, 1991.

CHAN,S.W.; OMISH, M.C.; HOMES,F.. Analisis of a new hepatitis C viral and phylogenetic relationship to existing variants. **J. Gen. Virol.**, London, v.73, p.1131-1141,1992.

CHOO,QUI-LIM et al. Isolation of a cDNA Clone Derived from a Blood-Borne Non-A, Non-B Viral Hepatitis Genome. **Science**, Washington, v. 244, p. 359-362, Apr. 1989.

COÊLHO, M.R.C.D. et al. Seroprevalence study of hepatitis C, in the great Recife, PE. **Virus Reviews & Research**, São Paulo/SP, v. 07, p. 109-110, 2002.

COÊLHO, M.R.C.D. et al. Prevalência da Hepatite C e co-infecção com HIV no Hospital HEMOPE/PE, de 1997 a 2002. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba/MG, v. 36, p. 501-502, 2003.

COHEN, J.. The scientific challenge of hepatitis C. **Science**, Washington, v. 285, p. 26-30, 1999.

COUROUCÉ, A.M. Development of screening and confirmation tests for antibodies to hepatitis C virus. In: HELSINKI, H.W.. **Curr Stud Blood Transf**. Basel: Karger, 1998. Cap. 62, p. 64-75.

DALEKOS, G.N. et al. Absence of HCV viraemia in anti-HCV-negative hemodialysis patients. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 13, p. 1804-1806, 1998.

DAW, M.A. et al. Prevalence of hepatitis C virus antibodies among different populations of relative and attributable risk. **Saudi Med J**, v. 23, n. 11, p. 1356-1360, 2002.

DEGOS, F. et al. Hepatitis C virus related cirrhosis: time to occurrence of hepatocellular carcinoma and death. **Gut**, London, v. 47, p. 131-136, 2000.

DE MITRI, S. et al. Effect of increasing dose of interferon on the evolution of hepatitis C vírus 1b quasispecies. **J. Med. Virol.**, New York, v. 60, p. 133-138, 2000.

DE PAULA, V.S. et al. Seroprevalence of hepatitis A, B, C and E in small communities of Amazon Region. **Virus Reviews & Research**, São Paulo/SP, v. 02, n. 1-2, p. 167, nov. 1999.

DJORDJEVIC, V. ET AL. Hepatitis C virus infection in patients on peritoneal dialysis, hemodialysis and in dialysis staff members in South Serbia. **Nephron**, Basel, v. 72, p. 720, 1996.

DONAHUE, J.G. et al The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. **N Engl. J Med.**, Boston, v. 327, p. 369-373, 1992.

DUSHEIKO, G. et al. Hepatitis C virus genotypes : an investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. **Hepatology**, Philadelphia, v. 19, p. 13-18, 1994.

DUSSOL, B. et al. Hepatitis C virus infection among chronic dialysis patients in the south of France: a collaborative study. **Am J Kidney Dis**, Philadelphia, v. 25, P. 399-404, 1995.

EBRAHIM, G.J.; SULLIVAN, K.R. **Métodos de Pesquisa em Saúde Materno-Infantil**. Traduzido por: SOUZA, E.; FALBO, G.; SAMICO, I.; ALVES, J.G.; ARRAES,L.; MAGGI,R.; TALBERT, S.; BRAGA,V. Recife: Bagaço Ltda, 1995.

FABRIZI, F. et al. Virological characteristics of hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients: a cross-sectional study. **Clin Nephrol**, Munchen, v. 44, p. 49-55, 1995.

FABRIZI, F. et al. Hepatitis C virus genotypes in chronic dialysis patients. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 11, p. 679-683, 1996.

FABRIZI, F. et al. Acquisition of hepatitis C virus in hemodialysis patients: a prospective study by branched DNA signal amplification assay. **Am J Kidney Dis**, Philadelphia, v. 31, p. 647-654, 1998.

FERNÁNDEZ, J.L. et al. Serum Hepatitis C virus RNA in Anti-HCV Negative Hemodialysis Patients. **Dialysis & Transplantation**, Califórnia, v. 25, n. 1, p. 14-18, January 1996.

FILGUEIRA, N.A. **Crioglobulinemia em doadores de sangue portadores de anti-HCV positivo**. 1999. 101f. Dissertação (Mestrado em Medicina Clínica) Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pernambuco, 1999.

FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W.; WAGNER, E.H. **Epidemiologia Clínica: Elementos essenciais**. Traduzido por: SCHMIDT, M.I.; DUNCAN, B.B.; DUNCAM, M.S.; PREISSLER, L. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996.

FOCACCIA, R.; SOUZA, F.V de.; CONCEIÇÃO, OJ.G. DA; SANTOS, E. B.. In: VERONESI, R. **Tratado de infectologia**. v. 06; p.51-62; 1997.

FOCACCIA, R. et al. Estimated prevalence of viral hepatitis in general population of the municipality of São Paulo, measured by a serologic survey of a stratified, randomized and residence-based population. **BJDI**, v. 02, p. 269-284, 1998.

FORNS, X.; PURCELL, R.H.; BUKH, J.. Quasispecies in viral persistence and pathogenesis of hepatitis C virus. **Trends Microbiol.**, Cambridge, v. 07, p. 402-410, 1999.

GARSON, J.A. et al. Detection of hepatitis C viral sequences in blood donation by “nested” polymerase chain reaction and prediction of infectivity. **Lancet**, London, v. 335, p. 1419-1422, 1990a.

GARSON, J.A. et al. Demonstration of viraemia patterns in hemophiliacs treated with hepatitis-C-virus-contaminated factor VIII concentrates. **Lancet**, London, v. 336, p. 1002-1025, 1990b.

GILLI, P. et al. Prevention of Hepatitis C Virus in Dialysis Units. **Nephron**, Basel, v. 70, p. 301-306, 1995.

GONÇALES-JÚNIOR, F.L. et al. Hepatitis pós-transfusionais na cidade de Campinas, SP, Brasil. Incidência, agentes etiológicos e aspectos clínico-epidemiológicos da hepatite por vírus C. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo** São Paulo/SP, v. 35, p.53-62, 1993.

GONÇALES, N.S.L. et al. Diagnosis of hepatitis C virus in Brazilian blood donors using a Reverse Transcriptase Nested Polymerase Chain Reaction: comparison with Enzyme Immunoassay and Recombinant Protein Immunoblot Assay. **Rev Inst. Med. trop. S. Paulo** São Paulo/SP, v. 42, n. 05, p. 1-10, 2000.

GORDIS, L.. A assessing the validity and reliability of diagnostic and screening tests. In:___ **Epidemiology**. Philadelphia: Saunders Company, 1996, p. 58-76.

GRETCH, D.R.. Diagnostic tests for hepatitis C. **Hepatology**, Philadelphia, v. 26, p. 43-47, 1997.

GUISEX, J.. Contamination by Hepatitis C in a Hemodialysis Center: preventive measures. **Nephron**, Basel, v. 72, p. 721-722, 1996.

HANUKA, N. et al. Hepatitis C virus infection in renal failure patients in the absence of anti-hepatitis C virus antibodies. **Journal of Viral Hepatitis**, Oxford, v. 09, p. 141-145, 2002.

HARDY, N.M. et al. Antibody to hepatitis C virus increases with time on hemodialysis. **Clin Nephrol**, Munchen, v. 38, p. 44-48, 1992.

HARDY, N.M. et al. Hepatitis C virus in the hemodialysis setting: Detecting viral RNA from blood port caps by reverse transcription-polymerase chain reaction. **Clinical Nephrology**, Munchen, v. 54, n. 2, p. 143-146, 2000.

HARMANKAYA, O. et al. Low prevalence of hepatitis C virus infection in hemodialysis units: effect of isolation? **Ren Fail**, New York, v. 24, n. 05, p. 639-644, 2002.

HINRICHSEN, H. et al. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: a multicentre study in 2796 patients. **Liver Disease**, Comnhagen, v. 51, p. 429-433, jan. 2002.

HOLLAND, J.J.; DE LA TORRE, J.C.; STEINHAEUER, D.A.. RNA virus populations as quasispecies. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, Berlin, v. 176, p. 1-20, 1992.

HOOFNAGLE, J.H.. Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. **Hepatology**, Philadelphia, v.26, p. 15S-20S, 1997.

HOUGHTON, M. Hepatitis C virus. In: FIELDS B.N.; KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. eds. **Virology** 3 ed. Philadelphia: Lippincott – Raven Publishers, 1996. p. 1035-58.

HUANG, C.S. et al. Hepatitis-C markers in hemodialysis patients. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 31, p. 1764-1769, 1993.

IZOPET, J. et al. Molecular evidence for nosocomial transmission of hepatitis C virus in a French hemodialysis unit. **J. Med. Virol.**, New York, v. 58, p. 139-144, 1999.

JADOUL, M. et al. Universal precautions prevent hepatitis C virus transmission: A 54 month follow-up of the Belgian multicenter study. **Kidney International**, Cambridge, v. 53, p. 1022-1025, 1998.

JONAS, M.M. et al. Hepatitis C infection in a pediatric dialysis population. **Pediatrics**, Elk Grove Village il, v. 89, p. 707-709, 1992.

KAITO, M. et al. Hepatitis C virus particles detected by immunoelectron microscopic study. **J. Gen. Virol.**, London, v. 75, p.1755-60, 1994.

KAPOOR, M. et al. Is dialysis environment more important than blood transfusion in transmission of hepatitis C virus during hemodialysis? **Vox Sang**, Basel, v. 65, p. 331, 1993.

KRUG, L.P. et al. Hepatitis C virus genotypes in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 29, p. 1629-1632, 1996.

KUO, G. et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. **Science**, Washington, v. 244, p.362-364, 1989.

KWOK, S.; HIGUSHI, R.. Avoiding false positives with PCR. **Nature**, London, v. 339, p.237-238, May. 1989.

LIBERTO, M.I.M.; PEREIRA, B.C.E.; CABRAL, M.C.. Hepatites Virais. In: SANTOS, N.S. DE O; ROMANOS, M.T.V.; WIGG, M.D. **Introdução a Virologia Humana**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Cap. 11, p. 135-155.

LOHMANN, V. et al. Replication of subgenomic hepatitis c virus RNAs in a hepatoma cell line. **Science**, Washington, v. 285, p. 110-113, 1999.

LOK, A.S.F. et al. Antibody response to core, envelope and non-structural hepatitis C virus antigens: comparison of immunocompetent and immunosuppressed patients. **Hepatology**, Philadelphia, v. 18, p. 497-502, 1993.

LOUREIRO, A. et al. Trends in incidence of hepatitis C (HCV) infection in hemodialysis (HD) units. **J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v.06, p. 547, 1995.

MADDREY, W. C. et al. HCV infection: Epidemiology, Diagnosis and Treatment. The University of Texas Southwestern Medical Center al Dallas. October,1995.

MARCELLIN, P.. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. **Journal of Hepatology**, Copenhagen, v. 31, p. 9-16, 1999.

MARTINS, R.M.B.; VANDERBORGHT, B.O.M.; YOSHIDA, C.F.T. Hepatitis C Virus Genotypes among Blood Donors from Different Regions of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 3, p. 299-300, Maio/jul. 1998.

MC GARVEY, M.J.; HOUGHTON, M.; WEINER, A.J.. Structure and molecular virology. In: ZUCKERMAN, A.J.; THOMAS, H.C. (eds.) **Viral Hepatitis**, 2ed. London: Chirchill Livingstone, 1998. p. 253-270.

MEDIN, C. et al. Seroconversion to hepatitis C virus in dialysis patients: a retrospective and prospective study. **Nephron**, Basel, v. 65, p.40-45, 1993.

MENDES, C.G.DE et al. Hepatite C. **Boletim do serviço de hepatologia da Santa Casa**, Rio de Janeiro, v. 23; n. 01, Mar. 1995.

MOREIRA, R.C. et al. Hepatitis C virus Infection in hemodialysis patients: Analysis of Serological and Virological Parameters. **Virus Reviews & Research** São Paulo/SP, v. 05, n. 02, p. 106-107, Nov. 2000.

MORI,S. et al. A new type of hepatitis C virus in patients in Thailand. **Biochem Biophys Res Commun**, Orlando, v. 183, p.334-342,1992.

MOYER, L.A.; ALTER, M.J.. Hepatitis C virus in the hemodialysis setting: a review with recommendations for control. **Semin Dial**, Baltimore, v. 07, p. 124-127, 1994.

MULLER, G.Y. et al. Risk factors for dialysis-associated hepatitis C in Venezuela. **Kidney Int**, Cambridge, v. 41, p. 1055-1058, 1992.

NAGHETTINI, A.V. et al. Soroprevalência do vírus da hepatite C na população em diálise de Goiânia, GO. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba/MG, v. 30, n. 2, Mar./ Abr. 1997.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis C. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 123, p. 2082-2099, Dec. 2002.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). Chronic hepatitis C: current disease management. Disponível em <http://www.niddk.nih.gov/health/digest/pubs/chrnhepc/chrnhepc.htm>. Acesso em: 13 Mar. 2003

NIU, M.T.; COLEMAN, P.J.; ALTER M.J.. Multicenter study of hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients and hemodialysis center staff members. **Am J Kidney Dis**, Philadelphia, v. 22, p. 568-573, 1993.

OKAMOTO, H. et al. Full-length sequence of a hepatitis c virus genome having poor homology to reported isolates: comparative study of four distinct genotypes. **Virology**, New York, v. 188, p. 331 -334,1992.

OLIVEIRA, M.L.A. et al. Distribution of HCV genotypes among different exposure categories in Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 279-282, Mar. 1999.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Hepatite C**. Disponível em: <<http://www.who.int>>. Acesso em: 13 mar. 2003.

PEREIRA, M. G. Métodos Empregados em Epidemiologia. In:__. **Epidemiologia** : teoria e prática. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p. 269-288.

PEREIRA, M. G. Estrutura, vantagens e limitações dos principais métodos. In:__. **Epidemiologia** : teoria e prática. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. Cap. 13, p. 289-306.

PEREIRA, B.J.G. et al. Hepatitis C virus infection in dialysis: A continuing problem. **Artif Organs**, Cambridge, v. 23, n. 01, p. 51-60, 1999.

PETROSILLO, N. et al. Hepatitis C transmission in dialysis. **Nephron**, Basel, v. 63, p. 115, 1993.

PRINCE, A.M. et al. Long incubation pos-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis B virus. **Lancet**, London, v.02, p. 241-246, 1974.

PURCELL, R.. The hepatitis C virus: Overview. **Hepatology**, Philadelphia, v. 26, p. 11-14, 1997.

RACZ, M.L. Vírus da hepatite C. Disponível em: <http://icb.usp.br/~mlracz/hepatites.htm> acesso em fev. 2000.

RICE, C.M. Flaviviridae: the viruses and their replication. In: FIELDS B.N.; KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. **Virology**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott – Raven Publishers, 1996. p. 931-59.

SAITO,I.; MIYAMURA,T.. Hepatitis C virus infection is associated with the development of hepatocellular carcinoma. **Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A**, Washington, v.87, p. 6547-6549,1990.

SALAMA, G. et al. Hepatitis C virus infection in French hemodialysis units: a multicenter study. **Journal of Medical Virology**, New York, v. 61, p. 44-51, 2000.

SAMARDZIJA, M. et al. Clinical significance of serologic diagnosis of hepatitis C infection in dialysis patients. **Periodicum Biologorum**, , v. 102, n. 4, p. 421-424, 2000.

SAMPIETRO, M. et al. Single-tube reverse transcription and heminested polymerase chain reaction of hepatitis C virus RNA to detect viremia in serologically negative hemodialysis patients. **Int. J Clin Lab Res**, Berlin, v.25, p. 52-54, 1995.

SAMPIETRO, M.; BADALAMENTI, S.; GRAZIANI, G.. Nosocomial Hepatitis C in Dialysis Units. **Nephron**, Basel, v. 74, p. 251-260, 1996.

SANTANA, G.O. et al. Antibodies to hepatitis C virus in patients undergoing hemodialysis in Salvador, BA, Brazil. **Arq Gastroenterol**, São Paulo/SP, v. 38, n. 01, p. 24-31, Jan./Mar. 2001

SARACENI, CP et al. Seroprevalence of hepatitis A, B, C and e in metropolitan area of São Paulo. **Virus Reviews & Research** São Pulo/SP, v. 05, n. 2, Supplement 1, p. 108 ,2000.

SCHREIBER, G.B. et al. The risk of transfusion-transmitted viral infections. **N. Engl J Med**, Boston, v. 334, p.1685-1690, 1996

SELGAS, R. et al. Prevalence of hepatitis C antibodies (HCV) in a dialysis population at on center. **Perit Dial Int**, Downsviow, v. 12, p. 28-30, 1992.

SEEFF, L.B.. Natural history of hepatitis C. **Hepatology**, Philadelphia, v.26, p.21-28, 1997.

SHERLOK,S.. Chronic Hepatitis C. **Disease-a-Mont**, St. Louis, Vol. XL, Number 3 March. 1994.

SHUKLA D.D.; HOYNE P.A.; WARD C.W. Evaluation of complete genome sequences and sequences of individual gene products for the classification of hepatitis C viruses. **Archives of Virology**, Vienna, v. 140, p. 1747-1761, 1995.

SIMMONDS, P. et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. **Hepatology**, Philadelphia, v. 19, p. 1321-1324, 1994.

SLAVICEK, J. et al. Distribution of hepatitis C virus genotypes in patients on regular hemodialysis. **Periodicum Biologorum**, v. 102 , n. 1, p. 29-32, 2000.

SOTO, B. et al. Heterosexual transmission of hepatitis C virus and possible role of coexistent human immunodeficiency virus infection in the index case: a multicentre study of 423 pairings. **J Intern Med**, Oxford, v. 236, p. 515-519, 1994.

SUNGUR, C.; ARIK, N.; AKPOLAT, T.. Nosocomial Transmission of Hepatitis C Virus to Hemodialysis Patients: Molecular Epidemiology by Polymerase Chain Reaction. **Nephron**, Basel, v. 71, p. 363, 1995.

SUZUKI, R. et al. Processing and functions of hepatitis C virus proteins. **Intervirolgy**, Basel, v. 42, p. 145-152, 1999.

TAYLOR, D.R. et al. Inhibition of the interferon-inducible protein kinase PKR by HCV E2 protein. **Science**, Washignton, v. 285, p. 107-109, 1999.

TASKAPAN, H. et al. Patient to patient transmission of hepatitis C virus in hemodialysis units. **Clin Nephrol**, Munchen, v.55, n. 06, p. 477-481, 2001.

TERRAULT, N.. Viral diagnostic studies. University of California, San Francisco: Univ. of California, p. 24-41, 1999.

THOMAS, D.L. et al. Perinatal transmission of hepatitis C virus from human immunodeficiency virus type 1-infected mothers: Women and Infants transmission study. **J Infect Dis LOCAL**, Chicago, v. 177, p. 1480-1488, 1998.

TOKARS, J.L. et al.; National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States, 1997. **Semin Dial**, v. 13, p. 75-85 2000.

TORRES, M.C.M.R. et al. Hepatitis C virus infection in a Brazilian population with sickle-cell anemia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 323-329, 2003.

VALLARI, D.S. et al. Serological markers of posttransfusion hepatitis C viral infection. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 30, p. 552-556, 1992.

VANDERBORGHT, B.O.M. et al. High prevalence of hepatitis C infection among Brazilian hemodialysis patients in Rio de Janeiro: a one-year follow-up study. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo/SP, v. 37, p. 75-79, 1995.

VAN DOORN, L.J. Review: molecular biology of the hepatitis C virus. **J. Med. Virol.**, New York, v. 43, p. 345-356, 1994.

WANG, JT. et al. Effects of anticoagulants and storage of blood samples on efficacy of the polymerase chain reaction assay for hepatitis C virus. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 30, p. 750-753, 1992.

WEJSTAL, R.. Sexual transmission of hepatitis C virus. **Jornal of hepatology**, Copenhagen, v. 31, p. 92-95, 1999.

YAMAGUCHI, K. et al. Hepatitis C virus antibodies in hemodialysis patients. **Lancet**, London, v. 335, p.1409-1410, 1990.

YONEMURA, K. et al. High prevalence of hepatitis C virus antibody in patients with chronic renal failure at the start of hemodialysis therapy. **Nephron**, Basel, v. 73, p. 484-485, 1996.

YU, M.; et al. Prevalence of hepatitis B and C viral markers in black and white patients with hepatocellular carcinoma in the United States. **Journal of the Nacional Cancer Institute**, Cary NC, v.82, n.12, p. 1993-2041, JUN. 1990.

ZAMIR, D. et al. Hepatitis C virus seroconversion and genotype prevalence in patients and staff on chronic hemodialysis. **J. Clin. Gastroenterol.**, New York, v. 28, p. 23-28, 1999.

11- ANEXOS

Anexo 1: Questionário

Anexo 2: Termo de consentimento livre e esclarecido para menores de 21 anos

Anexo 3: Termo de consentimento livre e esclarecido para maiores de 21 anos

Anexo 4: Lista dos resultados da pesquisa do HCV em todos os pacientes

ANEXO 1**QUESTIONÁRIO****Número**

Data da entrevista:

Registro do Prontuário:

Qual o seu nome:

Qual o seu endereço:

Qual a data do seu nascimento:

Idade em anos:

(1-<20 anos, 2 - 20-40 anos, 3 - >40 anos)

Qual o seu estado civil:

(1-solteiro, 2-casado, 3-separado, 4- viúvo)

Sexo:

(1-masculino, 2-feminino.)

Qual a sua ocupação:

Há quanto tempo faz diálise:

(1- < de 5 anos, 2- 5 –10 anos, 3- > de 10 anos)

Já fez alguma cirurgia:

(1- Sim, 2- Não)

Você já recebeu transfusão sanguínea e/ou hemoderivados (plaquetas, fatores de coagulação,...):

(1- Sim, 2- Não)

Quantas:

(1- 1 a 5 vezes, 2- 6 a 15 vezes, 3- > de 15 vezes)

Quando:

(1- antes de Novembro de 1993, 2- depois de Novembro de 1993)

Já fez alguma tatuagem:

(1- Sim, 2- Não)

Você já usou droga injetável:

(1- Sim, 2- Não)

Resultado do ELISA (D.O):

Resultado do Immunoblot:

Resultado da PCR:

Ainda usa:

Genótipo:

ANEXO 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE COMISSÃO DE ÉTICA

TERMO CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome da pesquisa:

Prevalência da hepatite C e fatores de riscos associados a esta infecção em pacientes hemodialisados de uma unidade de diálise de Recife-PE.

Pesquisador responsável :Ana Cecília Cavalcanti de Albuquerque
Conselho Regional de Biomedicina : 0718

Eu, paciente abaixo assinado menor de 21 anos, renal crônico que realiza tratamento de diálise na clínica estudada, concordo em participar voluntariamente desta pesquisa sobre a análise da infecção pelo vírus da hepatite C em pacientes hemodialisados. Sei que a razão deste estudo é saber se eu tenho hepatite C e se eu tiver saber o tipo do vírus.

Admito ter sido esclarecido sobre as perguntas feitas e do procedimento onde será retirada uma amostra de 10 ml de sangue de uma veia, para saber se tenho ou não o vírus da hepatite C.

Estou ciente de que será utilizado material descartável na coleta de sangue, tornando zero o risco de contaminação. O sangue será coletado por uma equipe bem treinada, mas também estou ciente de que o local em que a veia foi mexida, poderá ficar um pouquinho roxo ou dolorido.

Sei que essa pesquisa irá me ajudar, pois saberei se eu tenho ou não a hepatite C e se eu tiver saberei o tipo desse vírus através de um exame feito em São Paulo. Sei que saber o tipo desse vírus irá me ajudar no tratamento do mesmo. Fui informado que, quando da apresentação dos resultados da pesquisa, não serão vinculados dados que possam me identificar como participante da mesma. Sei que tenho a liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isso traga qualquer prejuízo para mim.

Visto que nada tenho contra a pesquisa, concordo em autorizar o menor a participar da mesma e assinar o presente termo de consentimento.

Recife, de 2002

Assinatura do paciente

Assinatura do responsável
pelo paciente

ANEXO 3

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA**

TERMO CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome da pesquisa:

Prevalência da hepatite C e fatores de riscos associados a esta infecção em pacientes hemodialisados de uma unidade de diálise de Recife-PE.

Pesquisador responsável :Ana Cecília Cavalcanti de Albuquerque
Conselho Regional de Biomedicina : 0718

Eu, paciente abaixo assinado, renal crônico que realiza tratamento de diálise na clínica estudada, concordo em participar voluntariamente desta pesquisa sobre a análise da infecção pelo vírus da hepatite C em pacientes hemodialisados. Sei que a razão deste estudo é saber se eu tenho hepatite C e se eu tiver saber o tipo do vírus.

Admito ter sido esclarecido sobre as perguntas feitas e do procedimento onde será retirada uma amostra de 10 ml de sangue de uma veia, para saber se tenho ou não o vírus da hepatite C.

Estou ciente de que será utilizado material descartável na coleta de sangue, tornando zero o risco de contaminação. O sangue será coletado por uma equipe bem treinada, mas também estou ciente de que o local em que a veia foi mexida, poderá ficar um pouquinho roxo ou dolorido.

Sei que essa pesquisa irá me ajudar, pois saberei se eu tenho ou não a hepatite C e se eu tiver saberei o tipo desse vírus através de um exame feito em São Paulo. Sei que saber o tipo desse vírus irá me ajudar no tratamento do mesmo. Fui informado que, quando da apresentação dos resultados da pesquisa, não serão vinculados dados que possam me identificar como participante da mesma. Sei que tenho a liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isso traga qualquer prejuízo para mim.

Visto que nada tenho contra a pesquisa, concordo em assinar o presente termo de consentimento.

Recife, de de 2002

Assinatura do paciente

Assinatura do Pesquisador

ANEXO 4

REGISTRO	Nº DA COLETA	PACIENTE	SALA	TURNO	ELISA	IMMUNOBLOT	PCR	GENOTIPO
1	63	J. V. S.	BRANCA I	3	+		+	1a
2	246	G. J. C.	BRANCA I	3	-		-	
3	57	A. L. A.	BRANCA I	3	-		-	
4	230	S. A. M.	BRANCA I	3	-		-	
5	66	L. M. L. C.	BRANCA I	3	-		-	
6	173	D.M.S	BRANCA I	3	-		-	
7	233	M.A.A.	BRANCA I	3	+	+	-	
8	235	R.C.C.	BRANCA I	3	-		-	
9	68	C.F.R.	BRANCA I	3	-		-	
10	229	U.S.V.	BRANCA I	3	-		-	
11	231	L.E.S.	BRANCA I	3	-		-	
12	232	J.I.F.	BRANCA I	3	-		-	
13	236	R.L.A.	BRANCA I	3	-		-	
14	159	M.A.S.	BRANCA I	3	-		-	
15	64	H.M.S.P.	BRANCA I	3	-		-	
16	193	J.D.P.P.	BRANCA I	3	+		+	3a
17	119	A.J.S.	BRANCA I	3	-		-	
18	110	J.B.S.	BRANCA I	3	-		-	
19	130	A.P.C.	BRANCA I	3	-		-	
20	132	R.V.L.	BRANCA I	3	-		-	
21	111	D.S.S.	BRANCA I	3	-		-	
22	247	J.A.S.	BRANCA I	3	-		-	
23	129	E.P.S.	BRANCA I	3	-		-	
24	112	N.W.H.	BRANCA I	3	-		-	
25	134	Z.A.C.	BRANCA I	3	-		-	
26	113	G.U.L.	BRANCA I	3	-		-	

I = INDETERMINADO + = POSITIVO - = NEGATIVO

REGISTRO	Nº DA COLETA	PACIENTE	SALA	TURNO	ELISA	IMMUNOBLOT	PCR	GENOTIPO
27	135	R.S.S.	BRANCA I	3	-		-	
28	123	J.M.M.	BRANCA I	3	-		-	
30	128	G.V.B.	BRANCA I	3	-		-	
31	107	S.F.N.	BRANCA I	3	-		-	
32	136	P.F.S.	BRANCA I	3	-		-	
33	137	E.F.M.	BRANCA I	3	-		-	
34	191	M.L.S.	BRANCA I	2	-		-	
35	67	J.C.Q.M	BRANCA I	3	+		+	3a
36	178	A.T.A.	BRANCA I	2	-		-	
37	192	S.L.C.	BRANCA I	2	-		-	
38	187	A.B.C.	BRANCA I	2	-		-	
39	183	H.V.L.	BRANCA I	2	-		-	
40	182	R.A.M.	BRANCA I	2	+		+	1b
41	184	J.L.M.	BRANCA I	2	-		-	
42	189	S.P.A.	BRANCA I	2	-		-	
43	194	J.P.S.	BRANCA I	2	-		-	
44	181	I.H.S.	BRANCA I	2	-		-	
45	188	H.A.V.	BRANCA I	2	-		-	
46	190	J.F.S.	BRANCA I	2	-		-	
47	179	M.P.S.	BRANCA I	2	-		-	
48	180	M.F.S.	BRANCA I	2	-		-	
49	108	M.G.S.	BRANCA I	2	-		-	
50	185	J.F.F.	BRANCA I	2	-		-	
51	197	S.R.S.	BRANCA II	2	-		-	
52	195	M.L.F.	BRANCA II	2	-		-	
53	199	J.E.S.	BRANCA II	2	-		-	
54	201	N.B.R.	BRANCA II	2	-		-	
55	200	A.I.A.	BRANCA II	2	-		-	

REGISTRO	Nº DA COLETA	PACIENTE	SALA	TURNO	ELISA	IMMUNOBLOT	PCR	GENOTIPO
56	203	C.C.G.O.	BRANCA II	2	-		-	
57	205	S.A.A.	BRANCA II	2	-		-	
58	202	M.S.S.	BRANCA II	2	-		-	
60	196	G.A.R.	BRANCA II	2	-		-	
61	204	M.L.S.	BRANCA II	2	-		-	
62	19	C.M.L.	BRANCA I	1	+		+	1a
63	21	J.E.F.	BRANCA I	1	-		-	
64	23	A.J.C.	BRANCA I	1	+		+	1a
65	22	M.J.F.F.	BRANCA I	1	-		-	
66	20	J.P.S.	BRANCA I	1	-		-	
67	18	R.B.S.	BRANCA I	1	-		-	
68	13	M.H.M.	BRANCA I	1	-		-	
69	24	T.P.S.	BRANCA I	1	-		-	
70	16	L.M.A.	BRANCA I	1	-		-	
71	71	V.F.S.	BRANCA I	1	-		-	
72	14	N.G.S.	BRANCA I	1	-		-	
73	27	E.J.F.	BRANCA I	1	-		-	
74	91	T.F.B.S.	BRANCA I	1	-		-	
75	28	C.M.A.	BRANCA I	1	-		-	
76	31	S.A.S.	BRANCA I	1	-		-	
77	25	M.H.A.	BRANCA I	1	-		-	
78	29	L.J.S.	BRANCA I	1	+		+	1a
79	30	S.H.S.	BRANCA I	1	+		+	1a
80	26	I.V.C.	BRANCA I	1	-		-	
81	47	R.S.G.	BRANCA II	3	-		-	
82	70	C.W.F.	BRANCA II	3	-		-	
83	53	I.S.V.	BRANCA II	3	-		-	
85	75	S.F.S.	BRANCA II	3	-		-	

REGISTRO	Nº DA COLETA	PACIENTE	SALA	TURNO	ELISA	IMMUNOBLOT	PCR	GENOTIPO
86	45	W.G.S.	BRANCA II	3	-		-	
88	46	L.C.G.S.	BRANCA II	3	-		-	
89	148	M.O.R.F.	BRANCA II	3	-		-	
90	69	P.G.B.	BRANCA II	3	-		-	
91	55	P.M.S.	BRANCA II	3	-		-	
92	40	G.C.S.	BRANCA II	1	-		-	
93	32	A.C.P.	BRANCA II	1	-		-	
94	42	J.W.X.A.	BRANCA II	1	-		-	
95	38	G.C.S.	BRANCA II	1	-		-	
96	41	A.M.S.	BRANCA II	1	-		-	
97	37	E.A.N.	BRANCA II	1	-		-	
98	33	A.V.L.	BRANCA II	1	-		-	
99	39	C.P.S.	BRANCA II	1	-		-	
100	81	A.F.S.	BRANCA II	1	-		-	
101	35	J.L.S.	BRANCA II	1	-		-	
102	34	B.P.N.	BRANCA II	1	-		-	
104	238	H.B.A.	CONV.II	3	-		-	
105	60	N.M.N.	CONV.III	3	-		-	
106	49	G.A.D.	CONV.III	3	-		-	
107	52	J.J.S.	CONV.III	3	+		+	1b
108	51	A.T.S.	CONV.III	3	-		-	
109	54	A.N.N.	CONV.III	3	-		-	
110	62	J.C.M.L.	CONV.III	3	-		-	
111	48	E.F.S	AMARELA	3	-		-	
112	56	M.J.S.C.	AMARELA	3	+		+	3a
113	44	P.L.	CONV. I	3	-		-	
114	12	H.B.S.	CONV. I	1	-		-	

115	6	A.F.C.	CONV. I	1	-	-	-	
REGISTRO	Nº DA COLETA	PACIENTE	SALA	TURNO	ELISA	IMMUNOBLOT	PCR	GENOTIPO
116	5	S.A.V.	AMARELA	1	-	-	-	
117	1	S.E.F.S.	AMARELA	1	-	-	-	
118	43	J.P.L.	AMARELA	1	-	-	-	
119	2	A.Z.P.	AMARELA	1	+	-	+	1b
120	8	M.L.B.	CONV.III	1	+	-	+	1b
121	9	I.P.M.C.	CONV.III	1	-	-	-	
122	10	R.A.L.	CONV.III	1	-	-	-	
123	4	D.C.S.	CONV.III	1	-	-	-	
124	11	L.N.S.	CONV.III	1	-	-	-	
126	175	J.M.S.	CONV. I	2	-	-	-	
127	221	A.L.S.	CONV .II	2	+	-	+	3a
128	95	J.J.L.S.	BRANCA I	1	-	-	-	
129	169	E.R.V.	BRANCA I	1	-	-	-	
130	86	E.S.S.	BRANCA I	1	-	-	-	
131	97	R.P.S.	BRANCA I	1	-	-	-	
132	87	P.N.S.	BRANCA I	1	-	-	-	
133	88	E.C.S.	BRANCA I	1	-	-	-	
134	98	F.L.P.	BRANCA I	1	-	-	-	
135	93	M.C.N.S.	BRANCA I	1	-	-	-	
136	103	J.F.V.	BRANCA I	1	+	-	+	3a
137	89	C.M.C.B.	BRANCA I	1	-	-	-	
138	96	G.S.F.	BRANCA I	1	-	-	-	
139	100	A.G.S	BRANCA I	1	-	-	-	
140	99	J.J.L.F.	BRANCA I	1	-	-	-	
141	84	H.R.L.	BRANCA I	1	-	-	-	
142	245	M.L.S.	BRANCA I	2	-	-	-	
143	156	C.J.S.	BRANCA II	2	-	-	-	

144	163	M.L.P.	BRANCA I	2	-		-	
REGISTRO	Nº DA COLETA	PACIENTE	SALA	TURNO	ELISA	IMMUNOBLOT	PCR	GENOTIPO
145	172	J.R.S.	BRANCA I	2	+		+	3a
146	164	J.C.S.	BRANCA I	2	+		+	1a
147	154	M.M.A.C.	BRANCA I	2	-		-	
148	170	L.A.S.	BRANCA I	2	-		-	
149	160	M.L.R.	BRANCA I	2	-		-	
150	167	E.S.B.	BRANCA I	2	-		-	
151	165	A.C.M.	BRANCA I	2	-		-	
152	166	I.M.C.	BRANCA I	2	-		-	
153	161	M.C.O.B.	BRANCA I	2	-		-	
154	158	A.V.S.N.	BRANCA I	2	-		-	
155	168	F.M.B.S.	BRANCA I	2	-		-	
156	157	E.B.R.	BRANCA I	2	-		-	
157	58	R.C.A.	BRANCA I	3	-		-	
158	50	E.C.S.	AMARELA	3	-		-	
159	150	J.P.S	BRANCA II	2	-		-	
160	151	E.F.S.	BRANCA II	2	-		-	
161	149	W.F.S.	BRANCA II	2	-		-	
162	147	M.G.S.S.	BRANCA II	2	-		-	
163	145	J.C.S.	BRANCA II	2	-		-	
164	152	J.M.S.	BRANCA II	2	-		-	
165	162	S.P.L.	BRANCA I	2	+		+	1a
166	59	C.V.S.	BRANCA I	3	-		-	
167	65	S.A.O.	BRANCA I	3	-		-	
168	94	S.R.S.	BRANCA I	1	-		-	
169	85	M.N.G.P.	BRANCA I	1	-		-	
170	72	M.C.S.	BRANCA I	1	-		-	
171	73	S.A.T.	BRANCA II	1	-		-	
172	213	J.C.M.J.	BRANCA II	1	-		-	

REGISTRO	Nº DA COLETA	PACIENTE	SALA	TURNO	ELISA	IMMUNOBLOT	PCR	GENOTIPO
173	79	H.B.A.M.	BRANCA II	1	-		-	
174	80	S.M.S.	BRANCA II	1	-		-	
175	74	J.C.R.S.	BRANCA II	1	-		-	
176	90	J.L.T.	BRANCA II	1	-		-	
177	77	A.S.S.	BRANCA II	1	-		-	
178	78	N.P.S.	BRANCA II	1	-		-	
179	76	M.O.S.	BRANCA II	1	-		-	
180	83	U.S.R.	BRANCA II	1	-		-	
181	71	J.G.S.	CONV. I	1	-		-	
182	106	A.C.M.	CONV. I	1	-		-	
183	105	L.C.A.	CONV .II	1	-		-	
184	249	E.B.M.R.	CONV .II	1	-		-	
185	198	E.P.S.	BRANCA II	2	-		-	
186	242	L.C.A.A.	AMARELA	2	-		-	
187	206	B.A.G.	AMARELA	2	-		-	
188	241	I.D.S.	AMARELA	2	-		-	
189	248	T.F.R.M.	CONV. I	2	-		-	
190	208	V.B.A.	CONV. I	2	-		-	
191	177	M.P.C	CONV. III	2	-		-	
192	210	E.P.S.	CONV. III	2	I	I	-	
193	244	Z.B.F.B.	CONV. III	2	-		-	
194	212	J.C.C.	CONV. III	2	-		-	
195	209	H.M.S.U.	CONV. III	2	-		-	
196	227	M.M.S.	CONV. III	2	+		+	1a
197	116	A.I.S.	BRANCA II	3	-		-	
198	127	S.B.T.	BRANCA II	3	-		-	
199	120	A.P.S.A.	BRANCA II	3	-		-	
200	121	L.A.N.G.	BRANCA II	3	-		-	

REGISTRO	Nº DA COLETA	PACIENTE	SALA	TURNO	ELISA	IMMUNOBLOT	PCR	GENOTIPO
201	138	G.A.S.	BRANCA II	3	-		-	
202	122	M.C.B.C.	BRANCA II	3	-		-	
203	126	A.G.N.S.	BRANCA II	3	-		-	
204	109	A.L.	BRANCA II	3	-		-	
205	186	N.F.S.	BRANCA II	3	-		-	
206	7	J.A.C.	CONV .II	1	-		-	
207	3	A.F.C.	CONV.III	1	-		-	
208	251	M.M.O.	CONV. III	1	-		-	
209	15	I.M.F.L.S.	BRANCA I	1	-		-	
210	36	A.I.S.F.	BRANCA II	1	-		-	
211	176	A.A.P.	CONV. I	2	-		-	
212	223	J.M.P.	CONV. III	2	-		-	
213	224	I.B.M.	CONV. III	2	-		-	
214	61	A.F.S.	CONV. III	2	-		-	
216	226	Z.R.G.	CONV. III	2	-		-	
217	139	M.L.S.	AMARELA	2	-		-	
218	174	S.M.S.	AMARELA	2	-		-	
219	141	M.L.F.	AMARELA	2	-		-	
220	211	N.P.S.	CONV. III	2	+		+	3a
221	219	M.J.T.	CONV. III	1	-		-	
222	218	A.F.P.	CONV. III	1	-		-	
223	216	M.L.T.	CONV. III	1	-		-	
224	214	L.V.M.	CONV. III	1	-		-	
225	220	E.A.G.	CONV. III	1	-		-	
226	215	R.V.P.	AMARELA	1	-		-	
227	82	E.L.P.	AMARELA	1	+	+	-	
228	102	M.J.S.	AMARELA	1	-		-	
229	104	M.R.S.	AMARELA	1	-		-	

REGISTRO	Nº DA COLETA	PACIENTE	SALA	TURNO	ELISA	IMMUNOBLOT	PCR	GENOTIPO
230	225	E.C.S.A.	CONV.III	2	-		-	
231	222	M.D.L.	CONV.III	2	-		-	
232	140	A.F.S.	AMARELA	2	-		-	
233	143	Z.M.O.S	BRANCA II	2	-		-	
234	144	L.M.S.	BRANCA II	2	-		-	
235	142	N.R.S.	BRANCA II	2	-		-	
236	153	G.L.B.	BRANCA II	2	-		-	
237	146	H.R.S.	BRANCA II	2	-		-	
238	101	E.A.S.	BRANCA I	2	-		-	
239	171	E.J.S.	BRANCA I	2	-		-	
240	155	P.F.S.	BRANCA I	2	-		-	
241	239	E.L.S.	AMARELA	3	-		-	
242	234	M.C.S.	BRANCA I	3	-		-	
243	228	O.O.S.	BRANCA I	3	-		-	
244	237	G.A.M.	BRANCA II	3	-		-	
245	240	A.B.L.	BRANCA II	3	-		-	
246	131	A.F.M.	CONV. I	3	-		-	
247	115	V.A.M.	BRANCA II	3	-		-	
248	114	D.G.B.	CONV. III	3	-		-	
249	118	S.F.M.	CONV. III	3	-		-	
250	124	J.N.C.	CONV. III	3	-		-	
251	133	J.S.C.	CONV. III	3	-		-	
252	125	D.R.A.	BRANCA I	3	-		-	
253	117	M.T.S.	CONV. III	3	-		-	
254	250	M.A.S.	BRANCA I	1	-		-	
255	217	M.R.B.	CONV. III	1	-		-	
256	207	L.M.A.	AMARELA	2	-		-	
257	243	S.O.G.	BRANCA I	2	-		-	