

PAULO ROBERTO BRITO CARTÁGENES

INFECÇÃO PELO HCV EM UMA UNIDADE DE DIÁLISE EM BELÉM-PARÁ:
Desempenho de testes imunoenzimáticos em relação à técnica de biologia molecular.

Dissertação apresentada à
Universidade Federal do Pará para
obtenção do título de Mestre em
Clínica de Doenças Tropicais

Belém
1998

PAULO ROBERTO BRITO CARTÁGENES

INFECÇÃO PELO HCV EM UMA UNIDADE DE DIÁLISE EM BELÉM-PARÁ:
Desempenho de testes imunoenzimáticos em relação à técnica de biologia molecular.

Dissertação apresentada à Universidade
Federal do Pará para obtenção do título
de Mestre em Clínica de Doenças
Tropicais

ORIENTADORES:
Prof. Dr. Ronaldo Araújo (*in memoriam*)
Prof. Dr. Ricardo Ishak

Belém
1998

“When the liver is full of fluid and this overflows into the peritoneal cavity, so that the belly becomes full of water, death follows”.

Hipócrates, ca. 400 ac.

“Muitas descobertas notáveis foram feitas por homens que, seguindo os passos da natureza com os próprios olhos, acompanharam-na por caminhos tortuosos, mas quase sempre seguros, até alcançá-la na sua cidadela da verdade”.

William Harvey (1578 – 1657).

AGRADECIMENTOS

À Deus;

Ao Prof. Dr. Ronaldo Araújo (*in memorian*), ícone da medicina paraense, que o destino não permitiu uma participação mais duradoura neste projeto;

Ao Prof. Dr. Ricardo Ishak, pela preciosa orientação na elaboração desta dissertação, utilizando-se de sua notável experiência acadêmica;

A Dr. Gilberta Bensabath, exemplo de devoção à pesquisa científica, pela dedicação demonstrada na execução deste projeto, orientação e auxílio, de forma amiga e frequentemente maternal;

Ao Dr. Manoel Soares, coordenador do Serviço de Hepatopatias do Instituto Evandro Chagas, pelas freqüentes discussões, sempre enriquecedoras, contribuindo para a concretização deste projeto;

Ao Dr. Jorge Fernando Soares Travassos da Rosa, diretor do Instituto Evandro Chagas, pela possibilidade de realização deste curso;

A Dra. Ermelinda Moutinho da Cruz e Dr. José Maria de Souza, coordenadores deste curso de mestrado, pelo extraordinário empenho na sua condução;

Aos colegas Bernardo, Domingos, Ediney, Elaine, Elisabete, Ilton, Max, Olglaise, Raimundo Nonato, Ruth, pela decisiva participação nos procedimentos laboratoriais deste estudo, e pelo convívio diário com harmonia e fraternidade;

A Dr^a Denise Melo Alves, coordenadora da unidade de diálise Pró-Rim, pelo interesse e dedicação, sempre demonstrados ao proporcionar melhor qualidade de vida aos pacientes que necessitam de tratamento dialítico;

Aos demais funcionários do Pró-Rim, pela prestimosidade sempre demonstrada;

A Nazária, Gladys e Nonato, equipe de funcionários da biblioteca do Instituto Evandro Chagas, pela valiosa colaboração na sistematização e composição desta dissertação;

Ao Dr. Manoel Ayres, exemplo de dedicação à arte de ensinar, pelo imprescindível auxílio na análise estatística dos dados deste estudo;

Aos amigos Ana Maria, Ana Yecê, Eliete, Érika, Judith, Nagib, Vânia, colegas do curso de mestrado, pela demonstração, a cada momento, de companheirismo e solidariedade;

Aos meus pais, Selma e Argentino, à minha irmã, Anete e minha avó Haydeé, pelo amor e carinho sempre demonstrados;

A Vivian, esposa e companheira, pela compreensão e apoio sempre presente, contribuindo com gestos e palavras para a concretização deste objetivo;

Aos meus filhos, Alexandre e Paulo Henrique, nascidos durante este curso, pela realização de um sonho: ser pai.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Correlação entre as diversas classificações para os subtipos do HCV e a classificação proposta por Simmonds <i>et al.</i> (1993)	13
Tabela 2 - Distribuição dos grupos de pacientes e funcionários estudados de acordo com o sexo. Belém, 1996	41
Tabela 3 - Distribuição dos grupos de pacientes e funcionários estudados de acordo com a idade. Belém, 1996	42
Tabela 4 - Caracterização dos grupos de pacientes estudados em relação à patologia de base que levou ao tratamento dialítico. Belém, 1996	43
Tabela 5 - Caracterização dos grupos de pacientes e funcionários estudados quanto à reatividade para o anti-HBc, por enzimaímunoensaio. Belém, 1996 .	45
Tabela 6 – Caracterização dos grupos de pacientes e funcionários estudados quanto à reatividade para o HBsAg, por enzimaímunoensaio. Belém, 1996	46
Tabela 7 – Caracterização dos resultados para o anti-HBs em 30 amostras não reativas para o HBsAg e com resultado positivo ou inconclusivo para o anti-HBc. Belém, 1996	46
Tabela 8 – Comparação da frequência do anti-HCV, entre os 85 indivíduos pesquisados, utilizando os quatro kits imunoenzimáticos estudados. Belém, 1996	47
Tabela 9 – Comparação da frequência do anti-HCV, entre os 66 pacientes (HD + DP), utilizando os quatro kits imunoenzimáticos estudados. Belém, 1996	48
Tabela 10 – Caracterização dos resultados de anti-HCV (por enzimaímunoensaio) e do HCV-RNA (por PCR), em oito amostras que apresentaram pelo menos um resultado inconclusivo para o anti-HCV. Belém, 1996	48
Tabela 11 – Caracterização dos grupos de pacientes e funcionários estudados quanto à concordância dos resultados para o anti-HCV nos quatro kits utilizados. Belém, 1996	49
Tabela 12 – Presença de HCV-RNA, pela técnica de PCR, nos grupos de pacientes e funcionários estudados. Belém, 1996	50

Tabela 13 – Determinação dos índices de sensibilidade e especificidade dos quatro kits imunoenzimáticos estudados, em relação a presença do HCV-RNA detectado por PCR, na produção total (grupos FC+HD+DP) e entre os pacientes (grupos HD+DP). Belém, 1996	51
Tabela 14 – Determinação do Valor Preditivo Positivo e Valor Preditivo Negativo dos quatro kits imunoenzimáticos estudados, em relação a presença do HCV-RNA detectado por PCR, na população total (grupos FC+HD+DP) e entre os pacientes (grupos HD+DP). Belém, 1996	51
Tabela 15 – Caracterização dos grupos de pacientes portadores de HCV-RNA, em relação a positividade para o anti-HCV, por enzimaímunoensaio, nos quatro kits testados. Belém, 1996	52
Tabela 16 – Correlação entre a pesquisa do HCV-RNA por PCR em relação ao sexo, nos 66 pacientes estudados. Belém, 1996	53
Tabela 17 – Correlação entre a pesquisa do HCV-RNA por PCR em relação a idade, nos pacientes estudados. Belém, 1996	53
Tabela 18 – Correlação entre a pesquisa de HCV-RNA por PCR e a alteração nos níveis de ALT, em 65 pacientes estudados. Belém, 1996	54
Tabela 19 – Correlação entre a presença de HCV-RNA por PCR e a alteração nos níveis de Gama-GT, em 68 pacientes estudados. Belém, 1996.	55
Tabela 20 – Correlação entre a pesquisa do HBsAg, por enzimaímunoensaio, e o tempo de tratamento dialítico, em 65 pacientes estudados. Belém, 1996	55
Tabela 21 – Correlação entre a pesquisa do anti-HBc, por enzimaímunoensaio, e o tempo de tratamento dialítico, em 65 pacientes estudados, 1996	56
Tabela 22 – Correlação entre a pesquisa do HCV-RNA por PCR, e o tempo de tratamento dialítico, em 65 pacientes estudados. Belém, 1996	56
Tabela 23 – Correlação entre o número de cópias/mL de HCV-RNA pela técnica de PCR e a alteração de ALT. Belém, 1996	57
Tabela 24 – Correlação entre o número de cópias/mL de HCV-RNA pela técnica de PCR e a alteração de Gama-GT. Belém, 1996	57

RESUMO

O presente estudo objetivou comparar o desempenho de quatro kits para detecção do anti-HCV, por enzimaímmunoensaio, frente à detecção do HCV-RNA por meio de reação em cadeia pela polimerase (PCR), em 19 funcionários (FC) e 66 pacientes, sendo 54 submetidos à hemodiálise (HD) e 12 a diálise peritoneal (DP), em uma unidade de diálise em Belém, Pará. A pesquisa do anti-HCV foi realizada com kits de 3ª geração do Ortho, Ubi, BioChem e Abbott. A amplificação e quantificação de HCV-RNA foram realizadas utilizando-se kits do Roche. A concordância de resultados entre os quatro kits imunoenzimáticos foi de 89,5% entre os funcionários e 81,8% entre os pacientes. A prevalência do anti-HCV variou de 34,1 a 37,5% entre a população estudada, e de 42,4 a 47% entre os pacientes. O HCV-RNA foi detectado em 25 (37,9%) dos pacientes, dos quais 24 eram submetidos à hemodiálise. Não foi detectada infecção pelo HCV entre os funcionários. Não houve diferença estatística à análise dos índices de sensibilidade, especificidade e valores preditivos, entre os quatro kits em relação ao PCR, contudo, deixou-se de identificar, na dependência do kit utilizado, de 12,5 a 20% de indivíduos infectados pelo HCV. Não se observou correlação entre infecção pelo HCV e aumento nas aminotransferases. Foi possível mostrar correlação estatística entre a infecção pelo HCV e o tratamento por hemodiálise, tempo de tratamento superior a seis meses e idade dos pacientes superior a cinquenta anos. Além disso, houve alta prevalência de portadores do HBV (13%) entre os hemodialisados.

ABSTRACT

The main objective of this study was to make a comparative evaluation of four 3rd generation enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits (*Ortho, Ubi, BioChem and Abbott*), for the detection of HCV antibody and Roche polymerase chain reaction (PCR) kit. Serum samples were obtained from 19 members of the staff (grupo A) and 66 patients (grupo B), who were undergoing either hemodialysis (n=54) or peritoneal dialysis (n=12) in a dialysis unit in Belém, Pará. Altogether, the four ELISA kits agreed in 89,5% and 81,8% when results of groups A and B were compared, respectively. Overall rates of HCV antibody ranged from 34,1% to 37,5%. These rates among the patients ranged from 42,4% to 47%. While HCV-RNA was detected by PCR in 25 (37,9%) of the patients (of whom 24 in the hemodialysis subgroup), no PCR-positive results could be yielded among the staff members. When compared with the PCR, the four ELISA kits showed sensitivity, specificity and predictive values with differences that were not statistically significant. Of interest, serum samples from 12,5% to 20% of HCV-infected patients – as diagnosed by PCR – yielded negative results when tested by the four ELISA kits. An additional finding was that increase in the aminotransferasis levels does not seem occur as a result of HCV infection, it is notable that the risk of HCV infection increases following hemodialysis procedure during six months or more, among those patients who are older than fifty years. In addition, among patients subjected to hemodialysis, a high rate (13%) of HBV carriers was found.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 PERSPECTIVA HISTÓRICA DAS HEPATITES EM CENTROS DE DIÁLISE.....	1
1.2 HEPATITE B.....	2
1.3 HEPATITE NÃO-A NÃO-B.....	5
1.4 HEPATITE C	8
1.4.1 Aspectos da biologia e clínica do HCV	10
1.4.2 Diagnóstico laboratorial do HCV	15
1.4.3 Aspectos epidemiológicos do HCV	20
1.4.4 HCV e hemodiálise	24
1.4.5 Prevenção e controle do HCV em unidades de diálise	26
1.5 OBJETIVOS.....	30
2 MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1 POPULAÇÃO EXAMINADA E COLETA DO MATERIAL.....	32
2.2 DOSAGENS BIOQUÍMICAS.....	33
2.3 DETERMINAÇÃO DE ANTICORPOS PARA O HCV.....	33
2.4 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO HCV-RNA.....	37
2.5 MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	38
3 RESULTADOS	40
4 DISCUSSÃO	58
5 CONCLUSÕES	70
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
7 ANEXOS	90

1 INTRODUÇÃO

1.1 PERSPECTIVA HISTÓRICA DAS HEPATITES EM CENTROS DE DIÁLISE

A associação de doença hepática e disfunção renal é descrita desde os primórdios da medicina, e com o passar do tempo, o conhecimento desta interrelação foi-se ampliando e, apesar de ainda não totalmente esclarecida, tem se desenvolvido progressivamente, até a complexidade conhecida atualmente.

Epstein (1994), divide os distúrbios contendo alterações renais e hepáticas em três categorias principais: (i) aqueles envolvendo diretamente o fígado e os rins, como nas intoxicações por tetracloreto de Carbono (CCl_4); (ii) as desordens primárias do fígado com disfunção renal secundária, como pode ocorrer na cirrose hepática, nas hepatites fulminantes e na síndrome hepato-renal e: (iii) as alterações primárias dos rins que atingem secundariamente o fígado, as quais passaram a ter maior destaque com o desenvolvimento e utilização do rim artificial, a partir do início da década de 1940.

A realização do primeiro tratamento de um paciente com uremia utilizando-se do rim artificial, em 17 de março de 1943 (Kolf, 1965), e posteriormente, sua ampla utilização no tratamento prolongado dos doentes renais crônicos, iniciada em 1960, possibilitou um grande incremento à sobrevida

e qualidade de vida dos portadores de doenças renais. Entretanto, complicações hemodinâmicas e metabólicas, como as ocorridas nos três primeiros pacientes portadores de insuficiência renal crônica, submetidos ao tratamento dialítico prolongado no hospital da Universidade de Washington (Scribner et al., *apud* Blagg & Scribner, 1976), tenham sido detectadas com freqüência.

A partir da década de 1970, determinadas patologias ocasionadas por agentes infecciosos passaram a ser descritas com maior freqüência em pacientes portadores de doença renal. Em 1971, Combes *et al.* descreveram o primeiro caso de doença renal associada à hepatite B e no ano seguinte, Eknoyan *et al.* (1972) demonstraram alterações renais morfológicas e imunológicas em pacientes portadores de doença hepática aguda. Corey *et al.* (1975) relataram surto de hepatite em uma unidade de diálise de Nova York, com onze casos em quarenta hemodialisados (27,5%) no período de cinco semanas, dos quais dez apresentavam evidências de exposição recente ao vírus Epstein-Barr.

1.2 HEPATITE B

Com o desenvolvimento de métodos laboratoriais para a detecção de antígenos e anticorpos para o vírus da hepatite B (HBV), estudos soropidemiológicos passaram a ser realizados entre os pacientes e funcionários das unidades de diálise. Pattison *et al.* (1973), ao estudarem quatro unidades de diálise nos Estados Unidos, identificaram que 36% dos funcionários e 34% dos

pacientes eram portadores de algum marcador para o HBV e ainda que, 6% dos dialisados apresentavam o antígeno de superfície do HBV (HBsAg).

A prevalência de marcadores para o HBV atingiu índices alarmantes na primeira metade da década de 1970, tanto em pacientes submetidos a tratamento dialítico quanto em funcionários das respectivas clínicas. Nos Estados Unidos, entre 1972 e 1974 houve aumento em cerca de 100% na incidência de portadores do HBsAg nas unidades de diálise, com média de 6,2% e 5,2% em pacientes e funcionários, respectivamente. A prevalência do HBsAg em hemodialisados de algumas clínicas norte-americanas alcançava taxas de até 17% (Fávero *et al.*, 1991). Mayor *et al.* (1979) ao realizarem inquérito soro epidemiológico em 27 (93%) das 29 das unidades de diálise do Estado de Michigan, encontraram 11,4% dos hemodialisados portando o HBsAg.

Szmuness *et al.* (1974) estudaram 583 pacientes e 451 profissionais da área médica de 15 centros de hemodiálises de seis estados norte-americanos, entre 1972 a 1973, e detectaram HBsAg no soro de 16,8% dos pacientes e 2,4% da equipe médica, além de anticorpos específicos contra o HBV em 34% e 31,3%, respectivamente. Também foram estudados 166 contatos familiares de 66 pacientes de dois centros e, dentre estes, 60,8% dos contatos de pacientes portadores do HBsAg também apresentavam marcadores séricos para o HBV, enquanto apenas 11,8% dos contatos de pacientes HBsAg-negativos apresentavam algum indício de contato prévio com o HBV.

Em 1977, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Atlanta, EUA recomendou a adoção, por hospitais e demais unidades de saúde, das chamadas Medidas de Prevenção Universal, que funcionavam como impedimentos para a transmissão do HBV e de outros agentes de transmissão parenteral, e incluíam o uso de luvas, seringas e agulhas descartáveis a cada procedimento. Nas unidades de diálise, além da adoção destas medidas, foram recomendadas adicionalmente a pesquisa do HBsAg em pacientes e funcionários das unidades, e a utilização de salas e equipamentos específicos para a realização dos procedimentos dialíticos exclusivamente em pacientes portadores do HBsAg (Fávero *et al.*, 1991).

Em 1983, aproximadamente 86% dos centros de diálise americanos já separavam os pacientes HBsAg-positivos dos HBsAg-negativos e cerca de 84% destas unidades pesquisavam, mensalmente, o HBsAg no soro dos dialisados, enquanto somente 0,6% não realizavam qualquer avaliação periódica do HBsAg (Alter M. J. *et al.*, 1986).

A análise das taxas de incidência de infecção pelo vírus da hepatite B nos anos que se seguiram a adoção destas medidas de controle mostraram um decréscimo considerável, chegando em 1988 a índices de 0,2% em pacientes e 0,1% em funcionários da equipe de saúde das unidades de diálises (Alter M. J. *et al.*, *apud* Fávero *et al.* 1991).

Concomitante à implementação de testes sorológicos de triagem para hepatite B pelos bancos de sangue, observou-se a diminuição dos índices de infecção pelo HCV em transfundidos e hemodialisados, entretanto, os casos de hepatites pós-transfusionais não foram totalmente eliminados. Feinstone, *et al.* (1975) estudando 22 casos de hepatites pós-transfusionais, sugeriu que tal enfermidade deveria ser ocasionada, pelo menos em parte, por outros agentes infecciosos diferentes dos vírus das hepatites A ou B, citomegalovírus ou vírus Epstein-Barr.

1.3 HEPATITE NÃO-A NÃO-B

Nos anos seguintes ficou claro que um ou mais de um agente ainda desconhecido, deveria ser responsável por esta nosologia, denominada a partir de então, hepatite não-A não-B de transmissão parenteral (PT-NANBH), em virtude de seu modo de transmissão, e por não apresentar reatividade para os testes de pesquisa de antígenos ou anticorpos tanto para o HBV, quanto para o vírus da hepatite A (HAV).

Alter, H.J *et al.* (1975), em um estudo prospectivo com 108 pacientes submetidos a múltiplas transfusões em decorrência de cirurgia cardíaca, detectaram 12 casos de hepatites pós-transfusionais, dos quais, 89% não apresentaram agente etiológico definido e, por isso, representariam casos de PT-NANBH. Este mesmo autor, em 1978, obteve sucesso na tentativa de

transmissão experimental da hepatite não-A não-B para chimpanzés, utilizando-se de plasma ou soro de casos humanos de doença aguda e crônica, assim como de um doador de sangue anteriormente implicado em dois casos de hepatite não-A não-B parenteral, o que sugeria a existência do estado de portador crônico deste(s) agente(s) (Alter, H.J. *et al.*, 1978).

Galbraith *et al.* (1979), estudando amostras de soro coletadas durante um surto de hepatite HBsAg-negativo ocorrido na unidade renal do Hospital Fulham de Londres, no período de 1968 a 1970, concluiu que a etiologia de tal processo dever-se-ia à hepatite não-A não-B, inclusive apontando-a como causa de doença hepática crônica, desenvolvida posteriormente por 8 (28%) dos pacientes estudados, sendo esta a primeira vez que tal etiologia era atribuída a um provável agente infeccioso causador de hepatites em unidades de hemodiálise de Grã-Bretanha.

A partir de 1982, a hepatite não-A não-B passou a ser doença de notificação nos Estados Unidos, embora o fato de permanecer como um diagnóstico de exclusão, em virtude da falta de testes sorológicos específicos para o seu diagnóstico, tenha contribuído para sua sub-notificação pelo sistema de saúde norte-americano.

Segundo Hadler & Margolis (1989), as hepatites não-A não-B corresponderiam entre 12 a 50% dos casos de hepatite aguda em adultos, tanto

em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, enquanto que em crianças, este índice decresceria para 3 a 18% em todas as áreas estudadas, e que, dos casos agudos de hepatite não-A não-B reportados nos Estados Unidos, cerca de 40 a 50% seriam PT-NANBH. Destes, 15 a 20% apresentavam antecedentes de transfusão de sangue ou derivados, o mesmo percentual referia uso de drogas injetáveis, 3 a 5% eram profissionais da área médica ou odontológica, e menos de 1% estava associado a tratamento dialítico.

Informações divulgadas pelo CDC, baseadas no Estudo dos Municípios Sentinelas para Hepatites Agudas, no período de 1982 a 1985, demonstravam que 17% dos pacientes com hepatite não-A não-B apresentavam história de transfusão de sangue e 20% relatavam uso de drogas por via parenteral, contudo, no período de 1986 a 1988, observou-se que a história anterior de transfusão sanguínea foi relatada por apenas 6% de pacientes com hepatites não-A não-B, enquanto que o percentual de doentes usuários de drogas injetáveis alcançou índices de 42%. Neste mesmo estudo, em todos os anos, o número de pacientes da área médica ou odontologia e indivíduos submetidos a hemodiálises não atingiam a 5% dos casos notificados (Alter, M.J., 1991).

A mudança do perfil da população de doadores de sangue, iniciada na metade da década de 1980, em virtude da exclusão de indivíduos portadores de anticorpos contra o vírus de imunodeficiência humana (HIV), indivíduos sororreativos para o anti-HBc ou com níveis elevados de Alaninoaminotransferase

(ALT), e a prática de doações voluntárias e não remuneradas, foram fatores importantes para o decréscimo nos casos de hepatite não-A não-B pós-transfusionais.

1.4 HEPATITE C

Ao mesmo tempo, cientistas de todo o mundo empenhavam-se na busca do agente (ou agentes) responsáveis pelas hepatites não-A não-B. Merecem destaque os estudos em modelos de primatas não-humanos inoculados com plasma humano de portadores de hepatite não-A não-B pós-transfusionais, realizados por Bradley, iniciados em 1978 e desenvolvidos por quase uma década. Tais estudos serviram para caracterizar que a doença apresentava um período de incubação médio de 50 a 60 dias, que este agente poderia desenvolver doença hepática crônica, correlacionada com elevações persistentes ou níveis flutuantes de aminotransferases e que as alterações histológicas e ultra-estruturais dos hepatócitos exacerbavam-se com o decorrer da infecção crônica (Bradley), 1991).

De acordo com Bradley (1991), o principal agente etiológico das hepatites não-A não-B de transmissão parenteral, deveria ser um vírus com diâmetro não superior a 80µm, portador de um envelope lipídico, sensível ao clorofórmio, responsável por alterações ultra-estruturais específicas nos hepatócitos dos chimpanzés infectados, o que levou a suposição da existência de

um agente formador de túbulos (TFA), provavelmente pertencente à família *Flaviviridae* ou *Togaviridae*, ou a uma nova família não caracterizada até aquela época.

Apesar de todos os esforços empreendidos, não foi possível, por técnicas convencionais de enzimaímunoensaio ou radioímunoensaio, o desenvolvimento de testes sorológicos para detecção de antígenos ou anticorpos contra este agente, uma vez que não se conseguia efetuar o isolamento de qualquer agente viral específico e sua caracterização genômica e antigênica.

A partir de 1982, técnicas de biologia molecular começaram a ser utilizadas, na tentativa de clonar o genoma do agente formador de túbulos (TFA), porém somente após a utilização de grande quantidade de plasma purificado com alta infectividade para PT-NANBH, é que foi possível a caracterização dos primeiros clones específicos para este agente (o primeiro denominado 5-1-1), por Choo *et al.* (1989), o qual foi por ele intitulado de Vírus da Hepatite C (HCV).

Simultaneamente, Kuo *et al.* (1989) reportou o desenvolvimento e uso de um imunoensaio para detecção de anticorpos contra o HCV, baseado em um polipeptídeo (c100-3) sintetizado a partir de clones do HCV, utilizado na captura de anticorpos circulantes específicos contra este agente e que apresentou alta sensibilidade e especificidade na detecção de casos crônicos de hepatite não-A não-B de transmissão parenteral.

1.4.1 Aspectos da Biologia e clínica do HCV

Após o sequenciamento de genoma do HCV, pôde-se demonstrar que ele seria constituído de uma molécula de RNA de fita simples, não segmentada, com polaridade positiva, contendo cerca de 9.500 nucleotídios, contido em um capsídeo protéico, envolto por um envelope lipídico, medindo de 55 a 65 nm de diâmetro. Análises da seqüência de nucleotídios e aminoácidos codificados pelo ácido nucléico deste vírus sugeriam que o mesmo estaria distantemente relacionado tanto aos pestivírus animais (como o vírus da diarréia viral bovina e vírus da cólera suína), quanto aos flavivírus humanos, como os vírus da Dengue e da Febre Amarela (Houghton *et al.*, 1994). Correlações posteriores sugeriam classificá-lo como pertencente a um terceiro gênero da família *Flaviviridae*, e tentativamente denominá-lo de gênero *Hepacavirus* (Pawlotsky *et al.*, 1995). Partículas virais intracelulares seriam detectadas por técnicas de microscopia eletrônica, somente após a metade da década de 1990 (Shimizu *et al.*, 1996).

O genoma do HCV é constituído por três regiões distintas (Figura 1). A região terminal não codificadora 5', com cerca de 329 a 341 nucleotídeos, é altamente conservada e tem papel importante na replicação genômica e síntese protéica. Devido ser a região mais conservada de todo o genoma e por apresentar-se mais resistente a ação de ribonucleases, constituí-se como a melhor região do genoma viral para o desenvolvimento de *primers* a serem

utilizados na técnica de reação em cadeia pela polimerase (*polymerase chain reaction* – PCR) (Houghton *et al.*, 1991; Pawlotsky *et al.*, 1995).

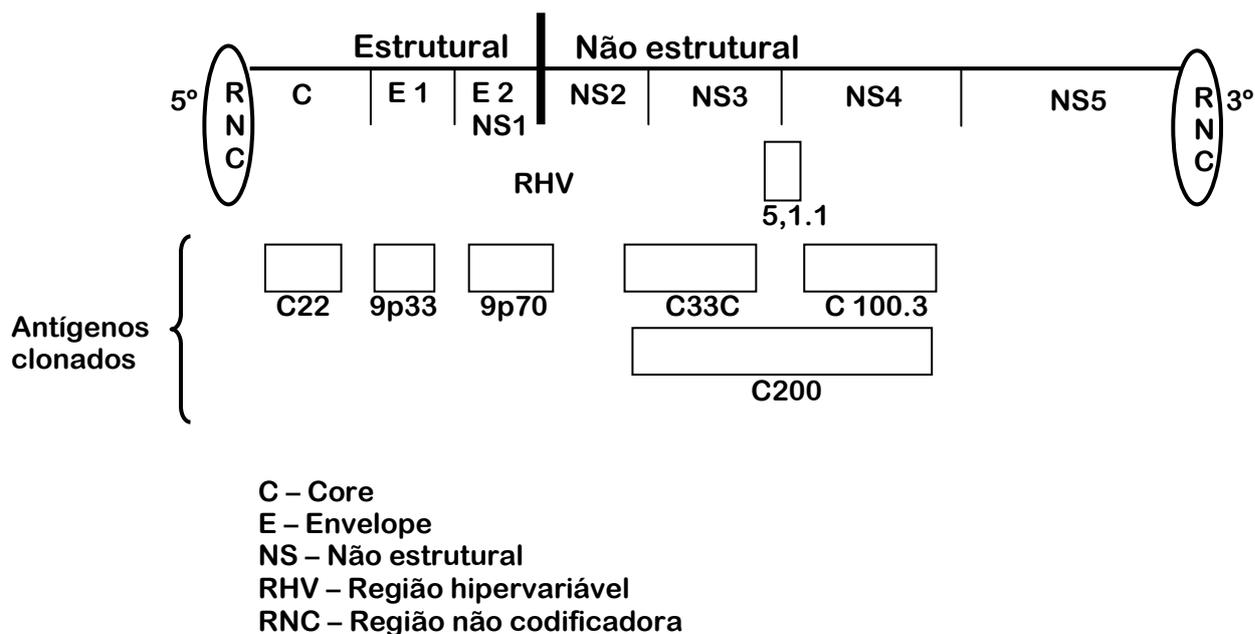


Figura 1: Organização de genoma do vírus da hepatite C e origem dos antígenos usados nos testes sorológicos (reprodução de Bensabath *et al.*, 1997).

Na seqüência, em direção à extremidade 3' apresenta-se uma única região de leitura (*open reading frame* – ORF), constituída de aproximadamente 9379 a 9481 nucleotídeos, responsáveis pela síntese de uma grande poliproteína, com cerca de 3000 aminoácidos, que posteriormente será clivada, através de uma proteases codificada pelo próprio vírus e pelo hospedeiro, em três proteínas estruturais, uma do core (C) e duas do envelope lipídico (E1 ou gp33 e E2 ou

gp70); e quatro proteínas não estruturais, denominadas de NS2, NS3, NS4 e NS5, com importante papel no ciclo replicativo viral. As proteínas NS2 e NS4, por serem hidrofóbicas estão ligadas à membrana da célula hospedeira; a NS3 tem como funções conhecidas a de helicase, no desdobramento do genoma viral quando da replicação, e de protease, participando da clivagem de proteínas não-estruturais a partir da proteína percussora. A proteína NS5, deve ser multifuncional, porém até o momento, reconhece-se somente sua função de RNA-polimerase RNA-dependente. O genoma completa-se com uma terceira região, também não codificadora, a região terminal 3', com cerca de 50 nucleotídeos, local onde ocorre a ligação da seqüência complementar à enzima replicase (Houghton *et al.*, 1991; Pawlotsky *et al.*, 1995).

A análise do genoma do HCV em espécimes coletadas (ou estocados) em diversas regiões do mundo, logo demonstrou que este vírus apresentava grande variabilidade genotípica. Tal diferenciação levou a denominação de HCV-tipo II, para as variantes do HCV mais encontradas no Japão, e HCV-tipo I para amostras com genótipos semelhantes aos encontrados em maior freqüência nos Estados Unidos. Todavia, novas variantes passaram a ser descritas em todo o mundo, e por isso, novas classificações para os genótipos e subtipos do HCV foram propostas. Dentre as mais utilizadas, incluem-se as classificações de Enomoto *et al.* (1990); Kohara *et al.* (1991); Cha *et al.* (1992); Chan *et al.* (1992); Mori *et al.* (1992) e Okamoto *et al.* (1992).

Simmonds *et al.* (1993) propuseram uma classificação de consenso para as variantes do HCV, baseada principalmente em percentual de homologia dos nucleotídeos da região NS-5 do genoma do vírus, caracterizada por apresentar alta variabilidade (Tabela 1).

Tabela 1: Correlação entre as diversas classificações para os subtipos do HCV e a classificação proposta por Simmonds *et al.* (1993):

Simmonds <i>et al.</i> (1993)	1a	1b	1c	2^a	2b	2c	3a	3b	4a	5a	6a
Enomoto <i>et al.</i> (1990)	K-PT	K-1	-	K2a	K2b	-	-	-	-	-	-
Kohara <i>et al.</i> (1991)	-	I	-	II	II	-	-	-	-	-	-
Cha <i>et al.</i> (1992)	I	II	-	III	III	III	IV	IV	-	V	-
Chan <i>et al.</i> (1992)	1a	1b	-	2 ^a	2b	-	3	-	4	-	-
Mori <i>et al.</i> (1992)	I	II	-	III	IV	-	V	-	-	-	-
Okamoto <i>et al.</i> (1992)	I	II	-	III	IV	-	V	-	-	-	-

A distribuição geográfica dos diversos subtipos é variada. Nos Estados Unidos e Europa Ocidental são freqüentes os subtipos 1a, 1b, 2b e 3a; na Ásia é mais comum o subtipo 3, entretanto, no Japão e Taiwan os subtipos 1b, 2a e 2b são os mais detectados. O tipo 4 é peculiarmente detectado no Oriente Médio (Martin, 1995). No Brasil, estudos em doadores de sangue detectaram maior prevalência dos subtipos 1a, 1b e 3a (Pinho *et al.*, 1995).

Caracteristicamente têm sido descrito que a infecção pelo subtipo 1b do HCV apresenta pior prognóstico, visto que mais frequentemente evolui para formas mais severas de doença, provavelmente por efeito citopático direto próprio a este subtipo (Focaccia & Souza, 1997), bem como apresenta pior resposta à terapia com interferon, que os demais subtipos deste vírus (van der Poel *et al.*, 1994; De Mitri *et al.*, 1995; Martin, 1995).

A hepatite pelo HCV é uma doença frequentemente oligossintomática, ou mesmo assintomática, onde aproximadamente 80% dos casos são anictéricos, e com valores de ALT habitualmente não superiores a 800 UI/L. São comuns a esta infecção, flutuações nos níveis das aminotransferases séricas, principalmente nas formas crônicas, que constituem a evolução de cerca de 80% dos casos agudos (Focaccia, 1997). Nas formas crônicas, aproximadamente, 60% apresentam alterações histológicas compatíveis com hepatite crônica ativa, das quais, cerca de 20% evoluem para cirrose hepática, após um período médio de vinte anos (Sáez *et al.*, 1995). Desenvolvimento de carcinoma hepatocelular como consequência tardia da infecção crônica pelo HCV também ter sido relatada (Weiland & Schvarcz, 1992), inclusive sem desenvolvimento prévio de cirrose hepática (De Mitri *et al.*, 1995).

Manifestações extra-hepáticas, principalmente dermatológicas e de caráter imunológico, têm sido frequentemente associadas às infecções pelo HCV, dentre as quais destacam-se: crioglobulinemia mista, poliarterite nodosa, líquen

plano, lesões de glândulas salivares, porfiria cutânea tarda, púrpura trombocitopênica, entre outras (Pawlotsky *et al.*, 1995; Bensabath *et al.*, 1997).

1.4.2 Diagnóstico laboratorial do HCV

Os primeiros kits para detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C, por enzimaímmunoensaio, (posteriormente chamados de testes de 1ª geração), apresentaram-se disponíveis já no ano de 1989. Estavam baseados na pesquisa de anticorpos contra o antígeno c100-3, descrito por Kuo *et al.* (1989), que corresponderia a um polipeptídeo recombinante originado a partir da fusão do clone viral 5-1-1, codificado a partir da região não-estrutural NS4 do vírus HCV, com a enzima superóxido-dismutase (SOD) humana.

Com o objetivo de aumentar a especificidade destes testes, em virtude do alto percentual de falso-positivos, em valores de até 50 a 70%, quando da análise de doadores de sangue com baixo risco de infecção, e em portadores de hiperglobulinemia (Alter H.J., 1991), passaram a ser incluídos, nos chamados testes de 2ª geração para detecção do anti-HCV, proteínas recombinantes derivadas tanto da região estrutural, o *core* viral, (c22-3) quanto da região não-estrutural NS-3 (c33c), que ao ser clonada acoplada ao epítopo c100-3 da região NS-4, constituiriam um clone maior, a proteína c200 (Figura 1). A significativa melhora nos índices de sensibilidade e especificidade para pesquisa do anti-HCV com a adoção de testes de 2ª geração proporcionou, inclusive, a diminuição no

tempo médio para detecção de anticorpos contra o HCV nas infecções agudas, para cerca de 8 semanas, em comparação a períodos médios de 20 semanas, observados com o uso de testes de 1ª geração (Silva L.C. & Granato, 1995).

Posteriormente, testes ditos de 3ª geração passaram a incluir antígenos oriundos da região não-estrutural NS-5 do HCV, além da utilização de componentes antigênicos constituídos de peptídeos sintéticos, o que levou ao aumento da especificidade destes ensaios quando comparados com os anteriores (Dow *et al.*, 1994; Medina & Schiff, 1995). Alguns autores, contudo, referem que o melhor desempenho destes testes deve-se, principalmente, ao aumento na reatividade aos antígenos da região NS-3, e não à inclusão de antígenos da região NS-5 (Couroucé *et al.*, 1994; Goffin *et al.*, 1994; Vernelen *et al.*, 1994). Mesmo os testes de nova geração, todavia, apresentam falhas na detecção de anticorpos contra o HCV em indivíduos imunocomprometidos, como os pacientes submetidos a transplante renal ou de medula óssea em uso de terapia imunossupressora (Lok *et al.*, 1993).

A pesquisa do anti-HCV IgM tem demonstrado pouca utilidade prática para caracterização dos casos de doença aguda. A análise de amostras seriadas, coletadas em média a cada 17 dias, por um período mínimo de seis meses, em oito pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, que apresentavam-se negativas para o anti-HCV anteriormente à transfusão sanguínea, e que após um período médio de 75 dias desenvolveram conversão sorológica para o anti-HCV foi

evidenciado que em quatro pacientes não foi possível detectar-se o anti-HCV IgM, mesmo após um período de 200 dias. Em um paciente foi detectada esta fração protéica simultaneamente à fração IgG. Nos demais, a detecção ocorreu após um período de, respectivamente, 29, 33 e 74 dias após o início da detecção da fração IgG (Zaaijer *et al.*, 1993).

Alguns autores têm sugerido que a presença de anti-HCV IgM pode indicar atividade de doença hepática crônica. Silva A.E. *et al.* (1995) detectaram positividade para o anti-HCV IgM em 23 (58%) de 40 amostras de portadores de doença hepática crônica ou cirrose hepática pelo HCV, bem como demonstram correlação positiva entre o aumento dos títulos da fração IgM do anti-HCV e exacerbação da agressão histológica hepática. Fabrizi *et al.* (1996) correlacionaram a atividade do anti-HCV IgM com presença de viremia do HCV, ao estudarem 78 pacientes anti-HCV positivos e portadores de doença renal em estágio final.

Concomitante ao desenvolvimento de enzimaímunoensaios para detecção de anticorpos contra o HCV, testes desenvolvidos pela técnica de imunoblot também passaram a ser utilizados, dentre os quais, o primeiro a ser desenvolvido foi denominado de RIBA™ (*Recombinant Immunoblot Assay*), e com o tempo tal denominação passou a ser quase sinônimo do método. Estes testes, inicialmente ditos confirmatórios, e posteriormente melhor designados de testes complementares ou suplementares, caracterizam-se pela distribuição

isoladamente de cada antígeno do HCV acoplado a superóxidodesmutase (SOD) em fitas de nitrocelulose, e com isso fornece informações sobre a presença de anticorpos para cada antígeno especificamente, além de melhor caracterizar a possível presença de anticorpos contra a SOD humana, utilizada tanto nos testes de enzimaensaio, quanto nos teste de imunoblot. Os ensaios por imunoblot também são classificados como de 1^a, 2^a ou 3^a gerações, baseados na quantidade e tipos de antígenos utilizados no teste, a semelhança dos critérios adotados para os testes de enzimaensaio.

Os testes por imunoblot são considerados positivos quando é observada a reação contra duas bandas de antígenos protéicos, e não ocorre reação contra banda correspondente a SOD humana. São caracterizados como não-reativos os testes em que não há reação contra algum dos antígenos constituintes do ensaio, ou quando há reação somente contra a banda correspondente do SOD humana. Situações em que haja reações contra a SOD concomitante à reação contra os antígenos específicos, ou quando há reação contra apenas um antígeno isoladamente, caracterizam o teste como inconclusivo, todavia há, atualmente, tendência a considerar imunoblot-positivos os testes em que o antígeno único que apresenta-se reativo for o c33c, devido a grande maioria destes casos apresentaram-se positivos, quando da pesquisa do HCV-RNA (Medina & Schiff, 1995).

Li *et al.* (1993), analisando 2.176 soros de indivíduos com suspeita de doenças hepáticas, observaram que 1.077 (49,5%) demonstravam reatividade para o RIBA II e 85 (3,9%) foram caracterizados como inconclusivos. Dentre os positivos, o padrão mais comum, encontrado em 63,6%, foi a presença de reatividade para os quatro antígenos, no entanto, reatividade para c22-3 e/ou para c33c somente não foi detectada em uma amostra. Dentre as amostras inconclusivas 87,7% apresentavam reatividade para c22-3 ou c33c. Nas amostras inconclusivas reativas para o antígeno c33c, o HCV-RNA foi detectado pela técnica de PCR em 88%.

Outros testes suplementares para pesquisa específica de anticorpos para o HCV incluem imunoensaios por dot blot semi-automáticos e imunoensaios por peptídeos sintéticos (Medina & Schiff, 1995), entretanto, os métodos de detecção de anticorpos, por enzima-imunoensaio ou por imunoblot, embora úteis na detecção de infecção prévia pelo HCV, não são capazes de estabelecer níveis séricos de viremia, o que atualmente somente pode ser caracterizado pela detecção do RNA do HCV pela técnica de PCR. Sucintamente, esta técnica consistiria na transcrição de uma seqüência de RNA do vírus da hepatite C, extraída do material de estudo, em uma molécula de DNA complementar pela ação da enzima Transcriptase Reversa (DNA polimerase dependente de RNA), seguida da quebra e amplificação seqüencial e sucessiva desta molécula através do uso de *primers* que habitualmente ligam-se a região não-codificadora 5' e enzimas específicas, que atuam através de ciclos consecutivos de aquecimento e

resfriamento. A multiplicação da molécula alcança níveis detectáveis, para serem posteriormente revelados por técnicas de eletroforese em gel ou imunocolorimétricas.

Incluem-se como finalidades da detecção do ácido nucléico viral pela técnica de PCR: *“o diagnóstico da carga viral em doadores de sangue e derivados; a correlação com testes imunoenzimáticos de triagem sorológica para detecção de anticorpos contra o HCV; o diagnóstico de infecção aguda e do estado de portador; a quantificação da viremia e monitorização da terapêutica, além do estudo das seqüências de nucleotídeos e identificação dos genótipos do HCV”* (Pinho *et al.*, 1995). Além disso, a quantificação do número de cópias amplificadas do segmento do ácido nucléico do HCV pela técnica do PCR, têm-se mostrado útil, principalmente, no monitoramento da ação da terapêutica antiviral, assim como, foi demonstrada relação entre os níveis de viremia com grau de alteração histopatológicas e, também, com a forma de transmissão deste agente, em portadores de doença hepática crônica pelo HCV (Lau *et al.*, 1993).

1.4.3 Aspectos epidemiológicos do HCV

De acordo com Sáez *et al.* (1995), são três as principais rotas de transmissão do HCV. A primeira e mais importante, responsável por aproximadamente 50% dos casos, é a transmissão parenteral, freqüente em indivíduos com história prévia de transfusão de sangue ou derivados,

principalmente entre os politransfundidos, como os hemofílicos e renais crônicos, e em usuários de drogas por via endovenosa. A via de transmissão não-parenteral, configura-se como a menos importante, responsável por não mais do que 10% das infecções pelo HCV, sendo representada pelas vias de transmissão sexual, horizontal e vertical. Finalmente, cerca de 40% dos casos são ditos de transmissão esporádica, idiopática ou desconhecida, que caracterizam as infecções adquiridas na comunidade, que constituem um grupo não definido e, provavelmente, não homogêneo quanto a forma de transmissão.

Com o advento dos diversos métodos para diagnóstico da infecção pelo HCV, numerosos estudos de soroprevalência para este agente passaram a ser realizados em várias partes do mundo, principalmente em doadores de sangue, devido o HCV ser considerado o principal agente viral causador de hepatites não-A não-B, de transmissão parenteral. Kuhn *et al.* (1989) em um estudo multicêntrico envolvendo quatro bancos de sangue da Alemanha, analisaram 3.123 doadores, dos quais, 13 (0,42%) apresentaram-se positivos para o anti-HCV de 1ª geração. Sirchia *et al.* (1989) ao analisarem 11.117 doadores de sangue de várias regiões da Itália, pelo mesmo método, detectaram 0,87% de positivos para o anti-HCV. Ao mesmo tempo, 25.137 doadores de sangue de várias regiões da França foram testados para o anti-HCV. (1ª geração), com positividade em 170 (0,68%) (Janot *et al.*, 1989).

Brind *et al.* (1990) estudando 1.120 doadores voluntários de sangue do Noroeste da Inglaterra, detectaram positividade para o anti-HCV de 1ª geração em 0,18%. Esteban *et al.* (1991) ao examinarem amostras de 30.231 doadores de sangue de Barcelona (Espanha) detectam 368 (1,2%) reativos para o anti-HCV (1ª geração). Ao analisarem 20.186 doadores de sangue no Canadá, Giulivi *et al.* (1992) encontraram 59 (0,3%) deles com anticorpos contra o antígeno c100-3 do HCV. Em Sacramento (Califórnia – EUA) de 8.921 analisados, foram detectados 0,45% doadores de sangue anti-HCV positivos (Zhang *et al.* 1993). No Brasil, utilizando testes de 2ª geração, Soares *et al.* (1993), detectaram prevalência de 2,7% para o anti-HCV entre 222 doadores de sangue da região Norte, enquanto que Vasconcelos *et al.* (1994) encontraram prevalência de 1,14%, ao pesquisarem o anti-HCV em 5.000 doadores, na região Sul do país.

Estudos semelhantes também passaram a ser realizados em diversos grupos de indivíduos, caracterizados por apresentarem um maior risco no desenvolvimento de hepatites não-A não-B.

Alter H.J. *et al.* (1989) conduziram estudos prospectivos para as hepatites pós-transfusionais não-A não-B desde 1973, em adultos submetidos à cirurgia cardíaca, no Instituto Nacional de Saúde (NIH) dos Estados Unidos. Em 15 pacientes portadores de doença hepática pós-transfusional, apresentando doença crônica bem caracterizada, foram documentadas soroconversões para o anti-HCV em 100%. Em 5 casos de doença hepática aguda com aparente

resolução espontânea, a soroconversão para o anti-HCV foi detectada em 60%. A introdução de modo universal de testes de triagem para o HCV em bancos de sangue, ocasionou um sensível decréscimo na transmissão do HCV de forma transfusional, e, a conseqüente diminuição na incidência de hepatites agudas por este agente (Sáez *et al.*, 1995).

Em hemofílicos, Watson *et al.* (1992), utilizando testes de 1ª geração, detectaram portadores do anti-HCV em 68 (87,2%) de 78 pacientes com história de uso de derivados de sangue que não tinham sido submetidos a tratamento prévio pelo calor. Tal percentual subiu para 98,7% quando as mesmas amostras foram analisadas por testes de 2ª geração. Em 7 pacientes que receberam apenas concentrados de fator VIII ou IX tratados pelo calor, não foram detectados portadores do anti-HCV, em qualquer um dos testes realizados. Em análise de hemofílicos do Estado do Pará (Brasil), foi encontrada maior prevalência de infecção pelo HCV naqueles pacientes, cujo início de tratamento ocorreu antes de 1993, quando iniciou a triagem sorológica para o HCV em doadores de sangue neste Estado (Peres, 1996).

A transmissão do HCV através de transplante de órgãos, provenientes de cadáveres-doadores infectados pelo vírus, também tem sido relatada. Após a realização da pesquisa do anti-HCV em 716 soros estocados, foram detectados 13 (1,8%) cadáveres anti-HCV positivos, cujos órgãos foram utilizados para transplante, procedentes do *New England Organ Bank*. A análise de 29

receptores destes órgãos após 42 a 49 meses, demonstrou prevalência de anti-HCV nesta população de 67% e 96%, respectivamente, enquanto que após o mesmo período, a prevalência deste anticorpo em um grupo de 37 receptores de órgãos, cujos cadáveres-doadores eram anti-HCV negativos, foi significativamente menor, com valores de 20% e 18%, respectivamente (Pereira *et al.* 1995a). Cendoroglo-Neto *et al.* (1992) também detectaram alta incidência de infecção, tanto pelo HCV quanto pelo HBV, em transplantados renais de São Paulo, no período de 1976 a 1990.

1.4.4 HCV e hemodiálise

Em um estudo prospectivo multicêntrico randomizado, pacientes e funcionários de 11 unidades de diálise de diferentes regiões dos Estados Unidos foram acompanhados por um período médio de 18 meses. O anti-HCV foi detectado em 52 (10%) dos hemodialisados e em 2 (1%) dos funcionários das unidades analisadas. A prevalência nas diversas unidades variou de 2 a 26%. A incidência acumulada de infecção pelo HCV nos 18 meses do estudo foi de 4,6% (Niu *et al.*, 1993). Jadoul *et al.* (1993) em análise prospectiva da incidência do HCV em hemodialisados de 15 unidades de diálise da Bélgica, em um período de 18 meses, detectaram uma taxa de soroconversão média para o anti-HCV de 1,7% por ano.

No Brasil, alta prevalência do anti-HCV foi encontrada em cinco diferentes unidades de diálise do Rio de Janeiro, estudadas durante o ano de 1991, com índices de infecção variando entre 46,9% e 77,2%, e taxas de ataque entre zero e 30,4% ao ano, não tendo sido observada, contudo, relação entre taxa de ataque e prevalência, dentre as diversas unidades participantes do estudo (Vanderborght *et al.*, 1995). Análise semelhante, realizada entre hemodialisados de cinco unidades de Porto Alegre, determinou prevalência total de 29,8% (Karoohl *et al.*, 1995). No Pará, surto de hepatite C em hemodialisados foi inicialmente descrito em 1992, com detecção do anti-HCV em 80,6% dos pacientes (Alves *et al.*, 1992). Estudos posteriores realizados nesta mesma unidade de diálise ratificaram os altos índices de infecção pelo HCV nos pacientes avaliados, e determinaram, entre os hemodialisados, forte correlação com o tempo de tratamento dialítico (Cartágenes *et al.*, 1993a; Cartágenes *et al.*, 1993b).

Oguchi *et al.* (1992) ao analisarem a prevalência de infecção pelo HBV e HCV em 607 pacientes de 11 unidades de diálise do Japão, detectaram que, 10 (1,6%) apresentavam-se positivos para o HBsAg e 228 (37,6%) apresentavam, no mínimo, um marcador positivo para o HBV. Em relação ao vírus da hepatite C, foram detectados 104 (17,1%) anti-HCV (1ª geração) positivos, com taxas que variavam entre 0% e 53%, nas diversas unidades participantes do estudo. Ao testarem 167 destes pacientes também por testes de 2ª geração, foram detectados 74 (44%) anti-HCV positivos, incluindo 34 também positivos, pelo anti-HCV de 1ª geração. A maior positividade para o anti-HCV estava

relacionada tanto ao maior tempo de tratamento dialítico, quanto ao maior número de transfusões de sangue recebidas.

A associação entre uma maior prevalência do anti-HCV com um maior tempo de tratamento dialítico e história prévia de transfusão de sangue também foi observada em outros estudos (Dentico *et al.*, 1992; Muller *et al.*, 1992; Campos, *et al.*, 1992; Mosconi *et al.*, 1992; Jadoul *et al.*, 1993), contudo, diversos outros autores passaram a sugerir que a transmissão deste agente dar-se-ia nos serviços de diálises, em virtude de terem observado somente associação entre a positividade para o anti-HCV com o tempo prolongado de tratamento dialítico, mas não com o uso de sangue ou derivados (Hardy *et al.*, 1992; Kapoor *et al.*, 1993; Rodriguez *et al.*, 1993; Karohl *et al.*, 1995).

1.4.5 Prevenção e controle do HCV em unidades de diálise

Em virtude das unidades de diálises apresentarem altos índices de infecção pelo HCV, muitas vezes caracterizando surtos da doença entre os hemodialisados (Galbraith *et al.*, 1979; Gitnick *et al.*, 1983; Alves *et al.*, 1992), e a possibilidade de desenvolvimento de formas crônicas com evolução para doença hepática severa (Weiland & Schvarcz, 1992), alguns centros de diálise passaram a adotar medidas na tentativa de controle na transmissão deste agente, utilizando metodologia semelhante à empregada com sucesso no controle das infecções pelo HBV.

Evidências de um maior risco de transmissão do HCV para hemodialisados suscetíveis que compartilham o mesmo ambiente que pacientes portadores do vírus (Neves & Amorim, 1992; Jadoul *et al.*, 1993; Allander *et al.*, 1994) levaram a adoção, por alguns centros, da separação de salas ou máquinas específicas para pacientes com elevação nos níveis de aminotransferases ou com sorologia positiva para o anti-HCV. Na Itália, Arici *et al.* (1990) observaram decréscimo na prevalência de infecção pelo HCV após a adoção desta prática em relação ao período anterior a elas.

Em uma unidade de diálise do Pará (Brasil), caracterizada por alta prevalência para o anti-HCV, foram adotadas, a partir da metade do ano de 1993, medidas específicas na tentativa de controle da transmissão do HCV, que incluíam: a intensificação das medidas universais de prevenção de doenças de transmissão parenteral, a análise mensal de soroprevalência para o anti-HCV entre os dialisados, a divisão dos pacientes em dias distintos de tratamento, baseada na sorologia para o anti-HCV, a lavagem dos filtros capilares nas próprias máquinas de diálise e o incentivo ao uso, quando necessário, de eritropoetina humana recombinante, além da vacinação dos suscetíveis ao vírus da hepatite B com vacina DNA-recombinante (Instituto Evandro Chagas, 1997).

No ano seguinte, houve um decréscimo nos índices de infecção pelo HCV nesta unidade, atingindo menor valor em dezembro de 1994, com 38,9% de positividade para o anti-HCV entre os dialisados (Cartágenes *et al.*, 1995a),

contudo em junho de 1995, após avaliação de 48 amostras de soro de dialisados desta unidade, obteve-se prevalência de 70% para o anti-HCV (Cartágenes *et al.*, 1995b), indicando a persistência da transmissão do HCV na unidade, a despeito da manutenção das medidas citadas.

Os pacientes renais crônicos infectados pelo HCV, não deverão, *a priori*, ser excluídos dos protocolos para transplantes renais (Morelli, 1992), tampouco deixar de participar de programas habituais de reutilização de dialisadores, visto que *“o descarte das membranas de hemodiálises não garante a ausência de transmissão de doenças infecto-contagiosas”*, e ainda que, *“o reprocessamento das membranas, em condições ideais, não deveria aumentar a incidência de enfermidades transmissíveis em hemodialisados”* (Asociación Nefrologica de la Ciudad de Buenos Aires – Consejo de hemodiálisis, 1994). No entanto, de acordo com Allander *et al.*, (1994) duas principais rotas de transmissão do HCV em unidades de diálises devem ser consideradas: a persistência de vírus viáveis nos equipamentos de diálises após processos regulares de esterilização, ou mesmo com uso de dialisadores descartáveis e a transmissão viral através da contaminação de instrumentos, superfícies, ou no preparo e diluição de medicamentos.

Portanto, em virtude de, até o momento os fatores específicos responsáveis pela transmissão do HCV nas unidades de diálises não tenham sido identificados, não devem ser estimulados o isolamento de pacientes infectados

pelo HCV em salas ou máquinas específicas, pois poderia predispor-los à infecção por outros genótipos do vírus. Tal conduta deve ser considerada somente em situações de disseminação de forma epidêmica (Maggiore & Catalano, 1988).

Outrossim, a irrestrita adoção de Medidas de Proteção Universal pelos profissionais que atuam nesta área, assim como a utilização rigorosa de procedimentos de limpeza e desinfecção do ambiente e de equipamentos, possibilitariam um maior controle deste, e de outros agentes de transmissão parenteral, nas unidades de tratamento dialítico (Centers for Disease Control and Prevention, 1994).

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo Geral

Avaliar o desempenho de testes imunoenzimáticos na detecção de infecção pelo vírus da hepatite C, em relação a ensaios de biologia molecular, em pacientes e funcionários de uma unidade de diálise do Estado do Pará.

1.5.2 Objetivos Específicos

Avaliar a concordância de resultados entre quatro conjuntos de diagnóstico sorológico (kits) para detecção de anticorpos contra o HCV (anti-HCV), de fabricantes distintos, em uma população de pacientes submetidos a tratamento dialítico e em funcionários desta unidade.

Detectar a presença do RNA do vírus da hepatite C em pacientes e funcionários desta unidade de diálise.

Quantificar a viremia plasmática do HCV em pacientes e funcionários desta unidade de diálise.

Relacionar as alterações nas provas bioquímicas de atividade de doença hepática com níveis de viremia para o vírus da hepatite C, em dialisados.

Correlacionar o tempo e tipo de tratamento dialítico com a viremia e presença de anticorpos para o HCV, em pacientes desta unidade de diálise.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 POPULAÇÃO EXAMINADA E COLETA DE MATERIAL

Participaram deste estudo todos os pacientes e funcionários que integravam o serviço de nefrologia do hospital D. Luiz I (Pró-Rim), localizado na cidade de Belém (Pará), durante o mês de maio de 1996, correspondendo a 66 pacientes submetidos a tratamento dialítico, sendo que, sistematicamente, com freqüência de três vezes por semana, 54 realizavam hemodiálise e 12 realizavam diálise peritoneal. Fizeram parte ainda 19 funcionários deste serviço. Informações de natureza epidemiológica de pacientes e funcionários, foram coletadas em fichas padronizadas (Anexo 1), bem como de informações dos arquivos de pacientes da unidade, quando necessário.

Aproximadamente 10 mililitros (mL) de sangue de cada integrante do estudo foi coletado em tubos à vácuo, não contendo anticoagulante ou gel separador. Após retração do coágulo em temperatura ambiente, foi feita a centrifugação do material a 1.500 G, por 20 minutos. Todas as amostras foram divididas em duas alíquotas. Uma delas foi utilizada para as dosagens bioquímicas e sorológicas, e a segunda foi acondicionada sob refrigeração (-70 °C), imediatamente após o processo de separação do soro, e descongelada somente para ser utilizada na amplificação do ácido nucléico do HCV.

2.2 DOSAGENS BIOQUÍMICAS

A dosagem de Aspartatoaminotransferase (AST) e Alaninoaminotransferase (ALT), foi realizada pelo método colorimétrico, segundo a técnica de Teitman e Frankel. A Gama-glutamiltanspeptidase (Gama-GT) foi determinada através do método cinético. Todas as reações bioquímicas foram realizadas utilizando-se kits comerciais (Celm® Brasil). Foram considerados como valores de referencia de limite superior o valor de 46 UI/L para a AST; 50 UI/L para ALT; e 20 UI/L para Gama-GT.

Todos os testes sorológicos, assim como a dosagem de Gama-GT, foram realizados no laboratório de Sorologia do Serviço de Hepatopatia do Instituto Evandro Chagas. Os testes de detecção e quantificação de ácido nucléico viral foram realizados no laboratório de Biologia Molecular do mesmo Serviço. As dosagens de AST e ALT, além de contagem de plaquetas, foram realizadas no Laboratório do hospital D. Luiz I.

2.3 DETERMINAÇÃO DE ANTICORPOS PARA O HCV

Para detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C (anti-HCV), foi utilizado o método de enzimaímunoensaio (ELISA), que consiste na pesquisa qualitativa deste anticorpo, utilizando-se, como fase sólida, microplacas ou esferas revestidas com antígenos do vírus da hepatite C. Neste método, os anticorpos por ventura existentes no material pesquisado, permanecerão unidos a

esta fase sólida, mesmo após processos consecutivos de lavagens, formando complexos antígenos-anticorpos, que poderão, em seguida, ser revelados através de um conjugado com atividade anti-imunoglobulina humana marcado com uma enzima capaz de agir sobre um substrato cromogênico, adicionado ao término da reação. Ao final do processo, a absorvância ou densidade ótica (DO) da onda de luz emitida poderá ser determinada através de leitura por um espectrofotômetro. Em cada amostra estudada, a pesquisa de anticorpos contra o HCV foi realizada com kits comerciais de quatro fabricantes distintos: Ortho[®], UBI[®], BioChem[®] e Abbott[®]. Foram observadas as recomendações sobre o uso dos controles positivos e negativos de cada fabricante.

Os kits do laboratório Ortho[®] (ORTHO[™] HCV 3.0 ELISA Test System), utilizam como constituintes de fase sólida, três antígenos recombinantes desenvolvidos pela Chiron Corporation, produzidos em *Sacharomyces cerevisiae*, que são: o c22-3, derivado de uma região estrutural (*core*) do genoma do HCV (aminoácido 2 ao 120), o c200 (aminoácido 1.192 a 1.931), constituído pela seqüência protéica c33c, codificada pela região NS3, geneticamente ligada a seqüência protéica c100-3, codificada pela região não-estrutural NS4 do genoma viral e o NS5 (aminoácido 2.054 ao 2.995), codificada pela região NS5 deste genoma. Este ensaio imunoenzimático foi realizado utilizando-se o procedimento de incubação *standard* (com tempo de incubação de 60 minutos) e para a determinação do valor de *cut-off* neste procedimento, acrescenta-se a constante 0,600 ao valor da média da absorvância dos controles negativos.

Os kits do laboratório UBI[®] (UBI[®] HCV EIA 4.0), empregam como constituintes antigênicos de fase sólida, peptídeos sintéticos ligados a microplacas, que correspondem a segmentos altamente antigênicos de regiões estruturais (*core*) e não-estruturais (NS3, NS4 e NS5) do genoma do HCV. Durante a realização deste teste, foi efetuada a diluição do soro diretamente na microplaca. O valor de *cut-off* foi determinado através do produto da média da absorbância dos controles fortemente positivos com o valor constante 0,20.

Os kits do laboratório BioChem[®] (BioChem ImmunoSystems DETECT HCV[™] v.3), incorporam como antígenos de fase sólida em microplacas, um antígeno recombinante e peptídeos sintéticos, derivados de epitopos altamente conservados de antígenos protéicos da região estrutural (*core*) e das regiões não-estruturais NS3, NS4 e NS5. O valor de *cut-off* deste teste é calculado adicionando-se o valor 0,200 à média da absorbância dos controles negativos.

Os kits do laboratório Abbott[®] (ABBOTT[®] HCV EIA 3.0) apresentam como constituintes de sua fase sólida, unidos à superfície de esferas de poliestireno, quatro antígenos recombinantes codificados pelo HCV, elaborados pela Chiron Corporation: a proteína recombinante HC-34, expressa em *Escherichia coli*, contendo seqüências protéicas da região estrutural ou *core* do HCV (aminoácidos 1 ao 150), a proteína recombinante HCr43, também expressa em *E.coli*, originada de seqüência protéica tanto da região do *core* viral, quanto da região não-estrutural NS3 (aminoácidos 1 ao 150 e 1.192 ao 1.457), a proteína

c100-3, expressa na levedura *S. cerevisiae*, contendo seqüência das regiões não-estruturais NS3 e NS4 do genoma do HCV, correspondendo aos aminoácidos 1569 ao 1931 deste genoma e ainda, a proteína recombinante NS5, também expressa em levedura, correspondente, à região não-estrutural NS5 (aminoácidos 2054 ao 2995). Neste procedimento, o calculo do valor de *cut-off* dá-se através da adição da média dos controles negativos ao produto da média dos controles positivos pela constante 0,25.

Em todos os testes sorológicos realizados, foram caracterizados como inconclusivos para o anti-HCV, os resultados com densidade ótica (DO) até 20% acima ou abaixo do valor de *cut-off*. Resultados que excediam ao valor de *cut-off* acrescido de 20% foram considerados positivos. Os valores de DO abaixo do valor de *cut-off* menos 20% deste valor foram considerados negativos. Para efeito de análise estatística de dados, foram excluídos os resultados caracterizados como inconclusivos.

Em todas as amostras, foram realizadas ainda, a detecção do antígeno de superfície (HBsAg) e do anticorpo para o *core* (anti-HBc) do vírus da hepatite B, pelo método de enzimaímunoensaio em microplacas, utilizando kits do laboratório Organon Teknika®. Nas amostras caracterizadas como não-reativas para o HBsAg e reativas para o anti-HBc, foi realizada detecção qualitativa do anticorpo contra o antígeno de superfície do HBV (anti-HBs), utilizando-se kits

imunoenzimáticos do laboratório Abbott[®], que utiliza como antígeno de fase sólida, esferas de poliestireno ligadas ao HBsAg.

2.4 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO HCV-RNA

O HCV-RNA foi pesquisado através da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR), de modo qualitativo e quantitativo, utilizando-se, respectivamente, kits comerciais do laboratório Roche[®] (Amplicor[®] HCV e Amplicor[®] HCV Monitor).

O Amplicor[®] HCV utiliza os *primers* KY78 e KY80, que delimitam uma seqüência de 244 nucleotídeos da região altamente conservada não-codificadora 5'. O processo é constituído de quatro etapas principais: a transcrição reversa do RNA-alvo, gerando um DNA complementar (cDNA), a amplificação deste ácido nucléico-alvo, através da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR), a hibridização do produto da amplificação com uma sonda de oligonucleotídeos específicas e a detecção do produto da hibridização, através da utilização de um conjugado Avidina-Peroxidase (ligado as bases nitrogenadas) e um substrato Peróxido-Tetrametilbenzidina (TMB), com conseqüente desenvolvimento de cor.

A quantificação do ácido nucléico viral, foi realizada nas amostras que apresentaram amplificação prévia do HCV-RNA pelo Amplicor[®] HCV. Neste processo foi utilizado o Amplicor-HCV Monitor. Este teste inclui um controle de

quantificação de RNA com número de cópias previamente conhecido, que é co-amplificado com RNA-alvo, e assim, usado para calcular o número de cópias de RNA do espécime testado. O limite inferior de detecção do número de cópias amplificadas corresponde a mil cópias/mL.

Quando necessário, para complementação de informações essenciais ao estudo, foram testadas amostras anteriores ou posteriores de pacientes ou funcionários da unidade, acondicionadas na Soroteca do Serviço de Hepatopatias do Instituto Evandro Chagas. Por meio deste procedimento, pode-se analisar, por enzimaímmunoensaio com kits do laboratório Ortho[®], amostras mensais consecutivas (coletadas em junho, julho, agosto e setembro de 1996) de pacientes que apresentavam positividade à pesquisa do HCV-RNA, porém com anti-HCV não-reagente, na amostra colhida em maio de 1996.

2.5 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

As diversas variáveis estudadas foram analisadas estatisticamente, utilizando-se os teste do Qui-Quadrado (aderência, independência e homogeneidade), o teste exato de Fisher, o Teste G, o teste de McNamar e o teste de Kolmogorov-Smirnov. A tendência central foi expressa em média aritmética e a variabilidade em desvio padrão. Utilizou-se como limite de significância estatística o valor de *p* menor ou igual a 0,05.

3 RESULTADOS

A população estudada foi constituída de 85 indivíduos, sendo 19 (22,4%) funcionários (FC) e 66 (77,6%) pacientes submetidos a tratamento dialítico na unidade de diálise do hospital D. Luiz I, dos quais 54 (81,8%) eram submetidos a hemodiálise (HD) e 12 (18,2%) a diálise peritoneal (DP).

A distribuição quanto ao sexo dos indivíduos examinados, demonstrou que, entre os funcionários, 7 (36,8%) eram do sexo feminino e 12 (63,2%) do sexo masculino. Em relação aos pacientes, 26 (39,4%) pertenciam ao sexo feminino e 40 (60,6%) do sexo masculino, sendo que no grupo de hemodialisados 22 (40,7%) pertenciam ao sexo feminino e 32 (59,3%) ao sexo masculino, enquanto que no grupo de pacientes submetidos a diálise peritoneal quatro (33,3%) pertenciam ao sexo feminino e oito (66,7%) ao sexo masculino. A análise pelo teste do Qui-Quadrado não mostrou diferença estatística (Tabela 2).

Tabela 2 – Distribuição dos grupos de pacientes e funcionários de acordo com o sexo. Belém, 1996.

GRUPOS								
		Hemodiálise		Diálise Peritoneal		Funcionários		
SEXO	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)
Masculino	52	(61,2)	32	(59,3)	8	(66,7)	12	(63,2)
Feminino	33	(38,8)	22	(40,7)	4	(33,3)	7	(36,8)
Total	85	(100,0)	54	(100,0)	12	(100,0)	19	(100,0)

Entre os funcionários, a média de idade foi de 30,8 anos (+/- 8,2 anos), com limites entre 20 e 45 anos, enquanto que os pacientes estudados apresentavam idade variando de 13 a 80 anos, com média de 49,4 anos (+/- 16,2 anos), sendo 49,7 anos (+/- 17 anos) no grupo HD e 48,2 anos (+/- 12,9 anos) no grupo DP. A distribuição dos diversos grupos estudados quanto à idade encontra-se na Tabela 3. Pelo teste de Kolmogorov-Smirnov foi demonstrada significância entre o grupo FC e os grupos HD e DP, em relação à idade.

Tabela 3 – Distribuição dos grupos de pacientes e funcionários de acordo com a idade. Belém, 1996.

IDADE (anos)	GRUPOS							
			Hemodiálise		Diálise Peritoneal		Funcionários	
	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)
0-10	-	-	-	-	-	-	-	-
11-20	4	(4,7)	4	(7,4)	-	-	-	-
21-30	18	(21,2)	5	(9,3)	2	(16,7)	11	(57,8)
31-40	11	(12,9)	6	(11,1)	1	(8,3)	4	(21,1)
41-50	13	(15,3)	7	(13,0)	2	(16,7)	4	(21,1)
51-60	22	(25,9)	17	(31,5)	5	(41,6)	-	-
61-70	11	(12,9)	9	(16,6)	2	(16,7)	-	-
71-80	6	(7,1)	6	(11,1)	-	-	-	-
Total	85	(100,0)	54	(100,0)	12	(100,0)	19	(100,0)

O tempo médio de serviço dos funcionários nesta unidade de diálise foi de 33,2 meses (+/- 24,5 meses). Em relação aos pacientes, o tempo médio de tratamento dialítico, entre os hemodialisados foi de 14,5 meses (+/- 16,6 meses), e de 4,3 meses (+/- 10 meses) entre os que eram submetidos à diálise peritoneal.

Dentre os pacientes estudados, 56 (84,8%) apresentavam história de transfusão sanguínea prévia ao momento do inquérito, dos quais 48 (85,7%) pertenciam ao grupo HD e oito (14,3%) ao grupo DP.

A Tabela 4 mostra a patologia de base que levou a necessidade de tratamento dialítico, sendo que no grupo HD as mais freqüentes incluíram: glomerulonefrite crônica (GNC; 25,9%), diabetes melitus (14,8%), nefrite túbulo-intersticial crônica (NTIC; 13%), doença renal policística (7,4%) e a nefroesclerose

(7,4%). No grupo DP, apresentavam-se como causas mais comuns: o diabetes melitus (50%) e a nefroesclerose (25%).

Tabela 4 – Caracterização dos grupos de pacientes estudados em relação à patologia de base que levou ao tratamento dialítico. Belém, 1996.

PATOLOGIA DE BASE	GRUPOS					
			HD		D P	
	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)
Glomerulonefrite	14	(21,2)	14	(25,9)	-	-
Diabetes melitus	14	(21,2)	8	(14,8)	6	(50)
Nefrite túbulo-intersticial crônica	7	(10,6)	7	(13,0)	-	-
Doença renal policística	4	(6,1)	4	(7,4)	-	-
Nefroesclerose	7	(10,6)	4	(7,4)	3	(25)
Outras causas	8	(12,1)	5	(9,3)	3	(25)
Causa indeterminada	12	(18,2)	12	(22,2)	-	-
Total	66	(100,0)	54	(100,0)	12	(100,0)

Os resultados nas dosagens de ALT, AST, Gama-GT e contagem de plaquetas, realizados em 64 (97%) dos pacientes, estão listados no Anexo 2. Por problema técnicos, em 2 pacientes não foi possível determinar a contagem de plaquetas, sendo que, em um também não foram realizadas dosagens de ALT e AST.

A média de ALT foi de 63,3 UI/L (+/- 163,5), com mediana de 24,5 e valores extremos de 7 e 1291. Valores acima do limite máximo de referência foram detectados em 26,2% das amostras, sendo que 15 (88%) pertenciam a

pacientes submetidos a hemodiálise, e apenas 2 (12%) a pacientes submetidos a diálise peritoneal.

Quanto a AST, média encontrada foi de 61,9 UI/L (+/- 240,6), mediana de 23, valor mínimo de 6 e máximo de 1960. Em 9 (13,8%) amostras, os valores detectados apresentavam-se acima do limite de referência, sendo que, 8 (89%) pertenciam a hemodialisados e apenas 1 (11%) correspondia a paciente em tratamento com diálise peritoneal. Em todos os indivíduos que apresentaram aumento de AST, também foi detectado elevação concomitante de ALT.

Na dosagem do Gama-GT, foram detectados valores médios de 34,5 UI/L (+/-35,7), mediana de 18,5UI/L, variando de 5 a 186 UI/L. Em 31 (36,5%) das amostras analisadas, houve detecção de Gama-GT acima do limite de referência.

Em relação à contagem de plaquetas, o valor médio encontrado foi de 251250, com mediana de 255000 e variação de 86000 a 667000. Foram detectados seis pacientes (9%) com contagem de plaquetas abaixo do limite de normalidade, sendo que todos realizavam hemodiálise.

A presença de infecção prévia pelo HBV foi demonstrada em 26 (39,4%) pacientes que apresentavam reatividade para o anti-HBc, dos quais 24 (92,3%) pertenciam ao grupo HD e dois (7,7%) ao grupo DP. Foram também detectados dois funcionários (10,5%) com sorologia positiva para o anti-HBc. A

análise estatística, utilizando o teste G, demonstrou significância entre o grupo HD e os grupos DP e FC (Tabela 5).

Tabela 5 – Caracterização dos grupos de pacientes e funcionários estudados quanto à reatividade para o anti-HBc, por enzimaímmunoensaio. Belém, 1996.

		GRUPOS					
		Hemodiálise		Diálise Peritoneal		Funcionários	
Anti-HBc	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)
Positivo	28 (32,9)	24 (44,4)	2 (16,7)	2 (10,5)			
Negativo	57 (67,1)	30 (55,6)	10 (83,3)	17 (89,5)			
Total	85 (100,0)	54 (100,0)	12 (100,0)	19 (100,0)			

Sete pacientes (10,6%) apresentavam-se portadores do HBsAg, sendo todos pertencentes ao grupo HD. Não foram encontrados portadores do HBsAg entre os funcionários da unidade (Tabela 6). A análise estatística pelo teste de Fisher não demonstrou significância estatística entre os grupos estudados.

Tabela 6 – Caracterização dos grupos de pacientes e funcionários estudados quanto à reatividade para o HBsAg, por enzimaímmunoensaio. Belém, 1996.

GRUPOS								
<hr/>								
		Hemodiálise		Diálise Peritoneal		Funcionários		
HBsAg	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)
Positivo	7	(8,2)	7	(13,0)	-	-	-	-
Negativo	78	(91,8)	47	(87,0)	12	(100,0)	19	(100,0)
Total	85	(100,0)	54	(100,0)	12	(100,0)	19	(100,0)

Dentre as trinta amostras que se apresentaram não reativas para o HBsAg, e mostraram resultado positivo ou inconclusivo para o anti-HBc, 21 (70%) foram positivas para o anti-HBs (Tabela 7).

Tabela 7 – Caracterização dos resultados para o anti-HBs em 30 amostras não reativas para o HBsAg e com resultado positivo ou inconclusivo para o anti-HBc. Belém, 1996.

Anti-HBs (resultado)							
		INCONCLUSIVO		NEGATIVO		POSITIVO	
Anti-HBc (resultado)	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)	
INCONCLUSIVO	-	-	-	-	2	(9,5)	
POSITIVO	2	(100,0)	7	(100,0)	19	(90,5)	
TOTAL	2	(100,0)	7	(100,0)	21	(100,0)	

Os resultados da pesquisa do anti-HCV por enzimaímmunoensaio, com kits dos quatro fabricantes estudados, encontram-se no Anexo 3. A prevalência para o anti-HCV, considerando-se os 85 indivíduos estudados, variou de 34,1 a 37,6%, entre os quatro kits utilizados, contudo, ao serem analisados somente os pacientes submetidos a tratamento dialítico (grupos HD e DP), tal prevalência situou-se entre 42,4 e 47% (Tabela 8 e 9). Foram selecionadas oito amostras (9,4%) que apresentaram resultado inconclusivo em pelo menos um dos kits examinados (Tabela 10). Destas, em duas (2,4%) foi possível demonstrar a presença do HCV-RNA.

A análise estatística utilizando o teste de Qui-Quadrado da Homogeneidade, demonstrou que os quatro kits utilizados constituíram grupos homogêneos em relação a detecção do anti-HCV ($p < 0,05$).

Tabela 8 – Comparação da freqüência do anti-HCV, entre os 85 indivíduos pesquisados, utilizando os quatro kits imunoenzimáticos estudados. Belém, 1996.

ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO	INCONCLUSIVO		NEGATIVO		POSITIVO	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
ORTHO™ HCV 3.0	2	(2,4)	52	(61,2)	31	(36,5)
UBI® HCV EIA 4.0	2	(2,4)	54	(63,5)	29	(34,1)
BioChem DETECT HCV™ v.3	1	(1,2)	54	(63,5)	30	(35,3)
ABBOTT® HCV EIA 3.0	3	(3,5)	50	(58,8)	32	(37,6)

Tabela 9 – Comparação da freqüência do anti-HCV, entre os 66 pacientes (HD + DP), utilizando os quatro kits imunoenzimáticos estudados. Belém, 1996.

ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO	ANTI-HCV (Resultado)					
	INCONCLUSIVO		NEGATIVO		POSITIVO	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
ORTHO™ HCV 3.0	2	(3,0)	33	(50,0)	31	(47,0)
UBI® HCV EIA 4.0	2	(3,0)	36	(54,5)	28	(42,4)
BioChem DETECT HCV™ v.3	1	(1,5)	36	(54,5)	29	(43,9)
ABBOTT® HCV EIA 3.0	2	(3,0)	33	(50,0)	31	(47,0)

Tabela 10 – Caracterização dos resultados de anti-HCV (por enzimaímunoensaio) e do HCV-RNA (por PCR), em oito amostras que apresentaram pelo menos um resultado inconclusivo para o anti-HCV. Belém, 1996.

Nº	Registro	ANTI-HCV (enzimaímunoensaio)				HCV-RNA
		ORTHO	UBI	BIOCHEM	ABBOTT	
#1	91184	Positivo	Negativo	Inconclusivo	Positivo	Positivo
#2	91187	Negativo	Inconclusivo	Negativo	Negativo	Negativo
#3	91198	Negativo	Negativo	Negativo	Inconclusivo	Negativo
#4	91221	Inconclusivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
#5	91227	Negativo	Negativo	Negativo	Inconclusivo	Negativo
#6	91230	Negativo	Inconclusivo	Negativo	Negativo	Negativo
#7	91233	Inconclusivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
#8	91239	Positivo	Negativo	Negativo	Inconclusivo	Negativo

A concordância de resultados entre os quatro kits imunoenzimáticos utilizados para a pesquisa do anti-HCV, ocorreu em 89,5% dos funcionários, enquanto que, entre os pacientes, tal fato ocorreu em 81,8% (83,3% no grupo DP

e 81,5% no grupo HD). Não houve diferença estatística à análise pelo teste exato de Fisher (Tabela 11).

Tabela 11 – Caracterização dos grupos de pacientes e funcionários estudados quanto à concordância dos resultados para o anti-HCV nos quatro kits utilizados. Belém, 1996.

		GRUPOS					
		Hemodiálise		Diálise Peritoneal		Funcionários	
Anti-HCV	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)	Nº exam. (%)
Com concordância	71 (83,5)	44 (81,5)	10 (83,3)	17 (89,5)			
Sem concordância	14 (16,5)	10 (18,5)	2 (16,7)	2 (10,5)			
Total	85 (100,0)	54 (100,0)	12 (100,0)	19 (100,0)			

Todas as amostras de funcionários e pacientes da unidade foram submetidas a amplificação do RNA do HCV pela técnica de PCR. O HCV-RNA não foi detectado em nenhuma amostra de funcionários da unidade, todavia, houve detecção em 25 (37,9%) pacientes, sendo que 24 (96%) eram submetidos a hemodiálise e apenas um (4%) realizava diálise peritoneal. Tal diferença demonstrou significância estatística ($p < 0,01$) à análise pelo teste exato de Fisher (Tabela 12).

Tabela 12 – Presença de HCV-RNA, pela técnica de PCR, nos grupos de pacientes e funcionários estudados. Belém, 1996.

		GRUPOS						
		Hemodiálise		Diálise Peritoneal		Funcionários		
HCV-RNA	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)
Presença	25	(29,4)	24	(44,4)	1	(8,3)	-	-
Ausência	60	(70,6)	30	(55,6)	11	(91,7)	19	(100,0)
Total	85	(100,0)	54	(100,0)	12	(100,0)	19	(100,0)

O desempenho dos quatro testes imunoenzimáticos estudados para pesquisa do anti-HCV, foi determinado baseado na relação com a presença do HCV-RNA detectado pela técnica de PCR. Tal análise foi realizada considerando-se tanto a população total estudada, constituída de 85 indivíduos, quanto apenas os pacientes submetidos a tratamento dialítico, que corresponde a 66 pacientes. Os resultados dos índices de sensibilidade, especificidade, valor preditivo do teste positivo e valor preditivo do teste negativo, por grupos, encontram-se nas Tabelas 13 e 14. À análise estatística, os resultados em números absolutos entre os quatro kits estudados, não mostrou diferença significativa ($p>0,05$) pelo teste do Qui-Quadrado.

Tabela 13 – Determinação dos índices de sensibilidade e especificidade dos quatro kits imunoenzimáticos estudados, em relação a presença do HCV-RNA detectado por PCR, na população total (grupos FC+HD+DP) e entre os pacientes (grupos HD+DP). Belém, 1996.

ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO	INDICES (%)			
	SENSIBILIDADE		ESPECIFICIDADE	
	GRUPOS		GRUPOS	
	FC+HD+DP*	HD+DP	FC+HD+DP	HD+DP
ORTHO™ HCV 3.0	87,5	87,5	83,1	75,0
UBI® HCV EIA 4.0	80,0	80,0	84,5	79,5
BioChem DETECT HCV™ v.3	83,3	83,3	83,3	78,1
ABBOTT® HCV EIA 3.0	84,0	84,0	80,7	74,4

* FC=Funcionários HD=Hemodiálise DP=Diálise Peritoneal

Tabela 14 – Determinação do Valor Preditivo Positivo e Valor Preditivo Negativo dos quatro kits imunoenzimáticos estudados, em relação a presença do HCV-RNA detectado por PCR, na população total (grupos FC+HD+DP) e entre os pacientes (grupos HD+DP). Belém, 1996.

ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO	INDICES (%)			
	Valor Preditivo Positivo		Valor Preditivo Negativo	
	GRUPOS		GRUPOS	
	FC+HD+DP*	HD+DP	FC+HD+DP	HD+DP
ORTHO™ HCV 3.0	67,7	67,7	94,2	90,9
UBI® HCV EIA 4.0	69,0	71,4	90,7	86,1
BioChem DETECT HCV™ v.3	66,7	69,0	92,6	88,9
ABBOTT® HCV EIA 3.0	65,6	67,7	92,0	87,9

* FC=Funcionários HD=Hemodiálise DP=Diálise Peritoneal.

Dentre as amostras positivas para o HCV-RNA, 22 (88%) foram reativas para o anti-HCV por pelo menos um dos quatro kits de ensaios imunoenzimáticos utilizados. Dezenove (76%) amostras foram positivas em todos os testes imunoenzimáticos (Tabela 15).

Em três (12%) portadores do HCV-RNA não foi possível fazer a detecção de anticorpos para o HCV (Tabela15), contudo a análise mensal seriada com kits do Ortho, determinou a presença do anti-HCV logo no mês seguinte em um dos pacientes, porém, entre os outros dois, não foi possível a detecção do anti-HCV mesmo após quatro meses consecutivos à análise inicial.

Tabela 15 – Caracterização dos grupos de pacientes portadores do HCV-RNA, em relação a positividade para o anti-HCV, por enzimaímunoensaio, nos quatro kits testados. Belém, 1996.

ANTI-HCV	GRUPOS					
			Hemodiálise		Diálise Peritoneal	
	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)
Positivo em todos os kits	19	(76,0)	18	(75,0)	1	(100,0)
Positivo em três kits	-	-	-	-	-	-
Positivo em dois kits	3	(12,0)	3	(12,5)	-	-
Positivo em um kit	-	-	-	-	-	-
Negativo	3	(12,0)	3	(12,5)	-	-
Total	25	(100,0)	24	(100,0)	1	(100,0)

A caracterização dos pacientes que apresentaram amplificação do HCV-RNA, em relação ao sexo e idade encontra-se nas Tabelas 16 e 17. Não houve correlação estatística entre o sexo e infecção pelo HCV ($p > 0,05$),

entretanto, utilizando-se o Teste-G, houve significância ($p < 0,05$) quando comparados pacientes com idade superior e inferior a cinquenta anos, em relação à detecção do HCV-RNA.

Tabela 16 – Correlação entre a pesquisa do HCV-RNA por PCR em relação ao sexo, nos 66 pacientes estudados. Belém, 1996.

SEXO	HCV-RNA (PCR)					
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
Masculino	24	(60,0)	16	(40,0)	40	(100,0)
Feminino	17	(65,4)	9	(34,6)	26	(100,0)

Tabela 17 – Correlação entre a pesquisa do HCV-RNA por PCR em relação à idade, nos 66 pacientes estudados. Belém, 1996.

IDADE (anos)	HCV-RNA (PCR)					
	Nº exam.	(%)	NEGATIVO		POSITIVO	
			Nº exam.	(%)	Nº exam.	(%)
0 -10	-	-	-	-	-	-
11-20	4	(6,1)	2	(4,9)	2	(8,0)
21-30	7	(10,6)	6	(14,6)	1	(4,0)
31-40	7	(10,6)	6	(14,6)	1	(4,0)
41-50	9	(13,6)	8	(19,5)	1	(4,0)
51-60	22	(33,3)	12	(29,4)	10	(40,0)
61-70	11	(16,7)	6	(14,6)	5	(20,0)
71-80	6	(9,1)	1	(2,4)	5	(20,0)
Total	66	(100,0)	41	(100,0)	25	(100,0)

Dentre os 25 pacientes portadores do HCV-RNA, 24 (96%) apresentavam história de transfusão sanguínea anterior a este estudo, sendo que,

todos pertenciam ao grupo HD. Apenas um paciente (4%), não apresentava história de transfusão de sangue ou derivados, pertencendo ao grupo submetido a diálise peritoneal.

A correlação entre a presença de infecção pelo vírus da hepatite C e alteração nos níveis de ALT e Gama-GT, está demonstrada nas Tabelas 18 e 19. Utilizando-se o teste de McNemar, não foi possível demonstrar diferença estatisticamente significativa ao serem analisadas as alterações no níveis de ALT e Gama-GT, em relação a presença do HCV-RNA nos pacientes estudados ($P > 0,05$).

Tabela 18 – Correlação entre a presença de HCV-RNA por PCR e a alteração nos níveis de ALT, em 65 pacientes estudados. Belém, 1996.

ALT	HCV-RNA (PCR)					
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
ALT normal (< 51 UI/L)	32	(65,3)	17	(34,7)	49	(100,0)
ALT aumentada (> 50 UI/L)	8	(50,0)	8	(50,0)	16	(100,0)

Tabela 19 – Correlação entre a presença de HCV-RNA por PCR e a alteração nos níveis de Gama-GT, em 65 pacientes estudados. Belém, 1996.

SEXO	HCV-RNA (PCR)					
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
Gama-GT normal (< 21 UI/L)	25	(69,4)	11	(30,6)	36	(100,0)
Gama-GT aumentada (> 20 UI/L)	16	(53,3)	14	(46,7)	30	(100,0)

Com relação ao tempo de tratamento dialítico, os pacientes estudados foram divididos em dois grupos: pacientes com tempo de tratamento superior e inferior a seis meses nesta unidade de diálise. A análise destes diferentes grupos em relação a positividade para o HBsAg, anti-HBc e HCV-RNA demonstrou significância estatística ($p < 0,01$), através do teste exato de Fisher e do teste do Qui-Quadrado da homogeneidade (Tabela 20, 21 e 22).

Tabela 20 – Correlação entre a pesquisa de HBsAg, por enzimaímmunoensaio, e o tempo de tratamento dialítico, em 65 pacientes estudados. Belém, 1996.

Tempo de tratamento	HBsAg (Enzimaímmunoensaio)					
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
Inferior a seis meses	34	(100,0)	-	-	34	(100,0)
Superior a seis meses	24	(77,4)	7	(22,6)	31	(100,0)

Tabela 21 – Correlação entre a pesquisa do anti-HBc, por enzimaímmunoensaio, e o tempo de tratamento dialítico, em 65 pacientes estudados. Belém, 1996.

Tempo de tratamento	Anti-HBc (Enzimaímmunoensaio)					
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
Inferior a seis meses	28	(82,4)	6	(17,6)	34	(100,0)
Superior a seis meses	11	(35,5)	20	(64,5)	31	(100,0)

Tabela 22 – Correlação entre a pesquisa do HCV-RNA, por PCR, e o tempo de tratamento dialítico, em 65 pacientes estudados. Belém, 1996.

Tempo de tratamento	HCV-RNA (PCR)					
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
Inferior a seis meses	27	(79,4)	7	(20,6)	34	(100,0)
Superior a seis meses	14	(43,8)	18	(56,2)	32	(100,0)

Em todas as amostras em que houve amplificação do HCV-RNA foi realizada a quantificação do número de cópias/mL; as quais apresentaram variação de 10^3 a $10^{6,26}$ com média de $10^{5,08}$ (+/- $10^{5,56}$) e mediana de $10^{4,25}$. A relação contendo o número de cópias/mL detectadas constitui o Anexo 4.

Para efeito de análise, as 25 amostras em que houve quantificação do número de cópias/mL de HCV-RNA amplificadas, foram divididas em três grupos

– grupo 1: com número de cópias maior que 10^3 e menor que 10^4 cópias/mL, correspondendo a dez amostras; grupo 2: com número de cópias acima de 10^4 e abaixo de 10^5 cópias/mL, também constituído de dez amostras; e grupo 3: constituído de cinco amostras, com número de cópias amplificadas acima de 10^5 cópias/mL. Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre estes grupos, em relação aos valores detectados para ALT e Gama-GT (Tabela 23 e 24).

Tabela 23 – Correlação entre o número de cópias/mL de HCV-RNA pela técnica de PCR e a alteração de ALT. Belém, 1996.

ALT	HCV-RNA (PCR)					
	GRUPO 1		GRUPO 2		GRUPO 3	
	10 ³ a 10 ⁴ cópias/mL		10 ⁴ a 10 ⁵ cópias/mL		Acima de 10 ⁵ cópias/mL	
	Nº.	(%)	Nº.	(%)	Nº.	(%)
ALT normal (< 51 UI/L)	8	(80,0)	7	(70,0)	2	(40,0)
ALT aumentada (>50 UI/L)	2	(20,0)	3	(30,0)	3	(60,0)
Total	10	(100,0)	10	(100,0)	5	(100,0)

Tabela 24 – Correlação entre o número de cópias/mL de HCV-RNA pela técnica de PCR e a alteração de Gama-GT. Belém, 1996.

Gama-GT	HCV-RNA (PCR)					
	GRUPO 1		GRUPO 2		GRUPO 3	
	10 ³ a 10 ⁴ cópias/mL		10 ⁴ a 10 ⁵ cópias/mL		Acima de 10 ⁵ cópias/mL	
	Nº.	(%)	Nº.	(%)	Nº.	(%)
Gama-GT normal (< 21 UI/L)	4	(40,0)	6	(60,0)	1	(20,0)
Gama-GT aumentada (>20 UI/L)	6	(60,0)	4	(40,0)	4	(80,0)
Total	10	(100,0)	10	(100,0)	5	(100,0)

4 DISCUSSÃO

Pacientes submetidos a tratamento dialítico têm sido frequentemente caracterizados como grupos de indivíduos com elevada incidência de infecção pelo vírus da hepatite C. Já em 1991, Couroucé *et al.*, em Paris, utilizando-se de testes de 1ª geração para pesquisa do anti-HCV, determinaram prevalência de 31% e incidência de 6% entre os hemodialisados estudados, em um período de seis meses. Estudo semelhante realizado em Hong Kong, com duração de 19 meses, apresentou incidência de 4,9% por ano, utilizando-se testes de 2ª geração (Chan *et al.*, 1993).

A introdução de novos antígenos levaram a um substancial aumento da sensibilidade, assim como da especificidade, embora em menor escala, aos testes sorológicos posteriores aos de primeira geração (Gretch, 1997). Estudos mais recentes utilizando testes imunoenzimáticos, denominados testes de terceira geração, e técnicas de biologia molecular, tem corroborado com tais afirmativas (Couroucé *et al.*, 1994; Dow *et al.*, 1994; Goffin *et al.*, 1994; Vernelen *et al.*, 1994; Dentico *et al.* 1995).

Ainda hoje, por sua facilidade de manuseio, inclusive com a possibilidade de automação, pouca variabilidade e relativamente baixo custo, o teste imunoenzimático permanece, até o momento, como o mais importante teste de triagem *para* a detecção de anticorpos para o HCV (Gretch, 1997). Apesar de

todas estas vantagens, mesmo os testes mais recentes disponíveis comercialmente, todos com constituição antigênica muito semelhantes, apresentam várias falhas. Podem ter uma prolongada janela de seronegatividade após a infecção; não diferenciar entre as infecções ativas e as resolvidas; ou podem ser falsamente positivos em pacientes com hipergamaglobulinemia ou com outras formas de hepatites crônicas, como as hepatites autoimunes (Nolte *et al.*, 1995). Resultados falsamente negativos podem ser encontrados, segundo Alter H. J. *et al.* (1989), em até 10% dos pacientes com infecção crônica pelo HCV.

No presente estudo foram utilizados quatro testes imunoenzimáticos de terceira geração para pesquisa do anti-HCV, os quais foram avaliados quanto a variabilidade entre si e em sua validade, medida pelas taxas de verdadeiros e falsos positivos e negativos e caracterizados quantitativamente mediante suas propriedades diagnósticas: a sensibilidade, a especificidade e a probabilidade dos resultados estarem corretos, levando em consideração a prevalência da infecção pelo HCV na população estudada, isto é, os valores preditivos. Estes índices foram calculados, tendo como diagnóstico de certeza da infecção em estudo a detecção do RNA do HCV pela PCR.

Após comparação, dos resultados do anti-HCV entre os quatro kits analisados, observou-se que a variação entre eles foi pequena, e não significativa à análise estatística, seja entre a totalidade da população estudada (34,1% a

37,6%), seja considerando apenas os pacientes dialisados (42,4% a 47%). Tais freqüências, embora inferiores às já descritas anteriormente (Cartágenes *et al.* 1993a), apresentam-se em valores cerca de vinte vezes superiores aos observados em doadores de sangue, desta mesma localidade (Soares *et al.*, 1993).

A concordância geral dos resultados foi de 83,5%, porém maior entre o grupo de funcionários (89,5%), onde concentrava-se maior proporção de amostras negativas, contudo, houve uma maior identificação entre os resultados encontrados entre dois pares de kits: Ortho-Abbott e Ubi-BioChem, sugerindo uma constituição antigênica mais próxima entre os integrantes de cada par.

Resultados inconclusivos foram detectados em todos os testes aproximadamente na mesma freqüência, porém em amostras distintas (Tabela 10). A proporção destes resultados, ou seja, situados na chamada zona cinzenta, foi semelhante à encontrada por Feucht *et al.* (1995) em soros de indivíduos com suspeita de hepatite, utilizando testes imunoenzimáticos de segunda geração.

Vale ressaltar, entretanto, que das oito amostras que apresentavam pelo menos um resultado inconclusivo, em duas foi detectado o HCV-RNA por PCR, sendo que na primeira (registro - 91184) existiam resultados positivos em dois kits (Ortho e Abbott), um resultado negativo no kit do Ubi, e um inconclusivo pelo kit do BioChem. Na segunda amostra (registro - 91221) havia três resultados

negativos, nos kits do Ubi, BioChem e Abbott, e um resultado inconclusivo, determinado no kit do Ortho, tendo sido este último kit o que mais próximo esteve aos resultados por PCR, pois uma nova amostra deste último paciente, coletada cerca de trinta dias após, já apresentava resultado positivo para o anti-HCV.

A sensibilidade e especificidade dos quatro kits imunoenzimáticos em estudo não mostraram diferenças significativas entre si, contudo alguns aspectos a respeito destas propriedades merecem análises mais detalhadas.

A sensibilidade do anti-HCV em relação à infecção pelo HCV variou de 80 a 87,5% (Tabela 13), tanto na população geral estudada, quanto somente entre os pacientes, todavia, abaixo dos 99,9% em doadores de sangue e 97% em portadores de doença hepática, detectados por Gretch (1997), utilizando testes de 3ª geração e de 93% em dialisados da Itália, com ELISA de 2ª geração, referidos por Castelnuovo *et al.* (1995).

Deixou-se, portanto, de identificar, neste estudo, na dependência do kit utilizado, 12,5 a 20% de indivíduos infectados pelo HCV (falsos-negativos), o que prejudicaria a tentativa de controle da transmissão deste agente na unidade de diálise, através da separação dos indivíduos anti-HCV positivos, como proposta por alguns autores. (Nordenfelt *et al.*, 1993; Blumberg *et al.* 1995), assim como poderia não detectar, em análise prévia ao transplante renal, um indivíduo infectado pelo HCV, importante fator no prognóstico deste paciente

(Pereira *et al.*, 1995b).

Ressalta-se, ainda que, em três pacientes portadores do HCV-RNA submetidos à hemodiálise (5,6%), o anti-HCV não foi detectado em nenhum dos quatro kits estudados. Em amostras destes indivíduos, colhidas em meses subseqüentes e testadas utilizando-se o kit do Ortho, demonstrou-se que, em duas delas o anti-HCV ainda não se apresentava detectável, mesmo decorrido quatro meses da avaliação inicial. Tal situação pode ocorrer devido a baixa sensibilidade do teste utilizado para detecção do anti-HCV, ao período de "janela imunológica" entre a infecção e a soroconversão, ao desaparecimento dos anticorpos para o HCV após certo período de tempo, a despeito da persistência da infecção por este agente, ou ainda, em virtude do estado de imunodepressão que caracteriza tal grupo de pacientes.

Os índices de especificidade, que apresentaram-se próximos ao da sensibilidade ao serem analisados todos os indivíduos estudados (80,7 a 84,5%), apresentaram-se, todavia, menos acentuados (74,4 a 79,5%) quando estudado somente o grupo de pacientes em tratamento dialítico, sugerindo uma perda na especificidade dos testes imunoenzimáticos, mesmo os mais modernos, frente a populações de alta prevalência de infecção pelo HCV. Considerando a sensibilidade e especificidade em conjunto, admite-se que a vaidade dos testes imunoenzimáticos foi em torno de 80%, inferior à faixa de 92 a 95% encontrada por Gretch (1997), estudando população de hepatopatas com alta prevalência do

HCV, contudo, não-portadores de comprometimento do sistema imunológico, estado habitualmente associado à doença renal crônica.

A probabilidade dos resultados, quer positivos ou negativos, fornecidos pelos diferentes kits imunoenzimáticos avaliados, preverem corretamente a infecção pelo HCV, isto é, seus respectivos valores preditivos positivo e negativo, mostraram pouca variabilidade entre si, contudo, o valor preditivo positivo, avaliado em toda a população, ou somente entre os dialisados, demonstrou confiabilidade, respectivamente, em apenas 65,5 a 69% e 67,7 a 71,4%, ou seja, a probabilidade de detectar a infecção pelo HCV face a um resultado positivo para o anti-HCV, através dos kits utilizados neste estudo, foi somente da ordem de 70%. Já o valor preditivo negativo apresentou-se muito mais elevado, com probabilidade de 90,7 a 94,2% e 86,1 a 90,9% em toda a população ou somente entre os pacientes dialisados, respectivamente, significando que um resultado anti-HCV negativo, embora não demonstre total certeza, apresentou, todavia, alta probabilidade de excluir a infecção pelo HCV no grupo estudado.

Tais resultados demonstram a fundamental importância na utilização do método imunoenzimático como teste de triagem em bancos de sangue, ao lidar com uma população com baixos índices de infecção pelo HCV, assim como enfatiza a necessidade da utilização de testes complementares, principalmente baseados em métodos de biologia molecular, para o esclarecimento da infecção

pelo HCV, em populações de alta prevalência deste agente, como aquelas frequentemente encontradas em unidades de diálise.

Embora a correlação entre a presença de infecção pelo HCV e a exacerbação dos níveis de aminotransferases tenha sido descrita, dentre outros por Fabrizzi *et al.* (1997), após análise de 506 pacientes do Norte da Itália submetidos a diálises, no presente estudo a proporção de pacientes com infecção pelo HCV que apresentaram aumento de ALT não diferiu estatisticamente do grupo de pacientes, que embora portadores do HCV, apresentavam ALT dentro dos limites de referência de normalidade. Resultados semelhantes, neste grupo, já haviam sido documentados em relação à soroconversão para o anti-HCV. (Cartágenes *et al.*, 1994). Alguns outros autores (Muller *et al.*, 1992; Brunson *et al.*, 1993) também não encontraram relação entre o aumento das aminotransferases e a presença de infecção pelo HCV.

Yasuda *et al.* (1995) advogam que os valores de referência para as aminotransferases em pacientes submetidos a tratamento dialítico, deveriam ser revistos, visto que os valores das aminotransferases séricas encontram-se geralmente mais baixos neste grupo do que na população em geral, em decorrência, provavelmente, da deficiência de vitamina B6, que funcionaria como co-enzima nesta reação enzimática. Segundo estes autores, o limite superior da normalidade para a ALT não deveria ser superior a 25U/L, podendo inclusive, situar-se entre 15-20 U/L. Guh *et al.* (1995) também sugerem a revisão dos

valores de normalidade para as aminotransferases na população de hemodialisados.

Baseado neste fato, Caramelo *et al.* (1996), estudando pacientes de três unidades de diálise da Espanha, encontraram diferença significativa ao analisarem pacientes hemodialisados que apresentavam valores de aminotransferases acima ou abaixo de 24U/L, o que corresponderia a média de ALT encontrada neste grupo nos últimos doze meses, acrescido à dois desvios padrão.

Com base nestes aspectos se forem re-analizados os resultados deste trabalho, no que diz respeito à dosagem de aminotransferases, demonstrase que dentre os quarenta e nove pacientes com ALT normais, 33 apresentavam ALT abaixo de 25 U/L, dos quais, oito apresentavam-se como portadores do HCV, enquanto que 25 eram HCV-RNA negativos; contudo, dos 16 que apresentavam valores de ALT situados entre 25 e 50 U/L, nove apresentavam-se infectados pelo HCV, e em sete não houve detecção do HCV-RNA. A análise estatística através do teste do Qui-Quadrado mostrou diferença significativa entre estes grupos, corroborando, dentre outros, com os resultados de Yasuda *et al.* (1995) e Caramelo *et al.* (1996).

Com relação à infecção pelo vírus hepatite B, foram encontrados 10,6% dos pacientes estudados (grupos HD e DP) como portadores do HBV,

sendo todos submetidos à hemodiálise, qual seja, 13% dos hemodialisados. Esta alta prevalência apresenta-se próxima aos valores encontrados por Szmuness *et al.* (1974) e Mayor *et al.* (1979) durante a década de 1970, antes da adoção pelas unidades de saúde de medidas efetivas para prevenção contra o HBV, nos Estados Unidos.

A ocorrência de significância estatística entre maior tempo de tratamento dialítico e a positividade para o HBsAg, anti-HBc e anti-HCV, e além disso, a prevalência de 44,4% para o anti-HBc entre os hemodialisados, apresentar-se próxima ao detectado para o anti-HCV neste grupo, sugere que ambos os agentes apresentem formas semelhantes de transmissão dentro da unidade, a despeito das medidas até então utilizadas na tentativa de controle de sua transmissão.

Quanto à prevalência do HCV nesta população, ressalta-se que a mesma foi zero entre os funcionários da unidade, embora, a presença do anti-HCV tenha variado de zero a 5,3%, na dependência do kit analisado. A maioria dos trabalhos envolvendo profissionais da área de saúde, incluindo profissionais que atuam em unidades de diálises, relatam baixos índices de infecção pelo HCV neste grupo (Jeffers *et al.*, 1990; Fujiyama *et al.*, 1992; Niu *et al.*, 1993), embora as medidas de proteção individuais e coletivas devam sempre ser adotadas de modo irrestrito.

A prevalência de infecção pelo HCV entre os pacientes foi de 37,9%, sendo de 44,4% entre os hemodialisados e de 8,3% entre os pacientes submetidos a diálise peritoneal. Selgas *et al.* (1996) afirmam que a incidência de hepatite C entre os pacientes submetidos a diálise peritoneal é muito baixa. Luengrojanakul *et al.* (1994), na Tailândia, detectaram 16,4% portadores do HCV entre 146 hemodialisados, porém não houve detecção do HCV entre os 55 pacientes submetidos a diálise peritoneal. Lee *et al.* (1996) ao analisarem 155 pacientes submetidos a diálise peritoneal, detectaram a presença de anti-HCV (2ª geração) em 6,5%, sendo que, o maior fator de risco encontrado neste grupo foi a presença de história anterior de hemodiálise, ocorrido em 70% dos portadores. Estes aspectos demonstram que o grupo de hemodialisados apresenta-se muito mais exposto a infecção pelo HCV que os submetidos a diálise peritoneal.

Irie *et al.* (1994) estudando 485 pacientes renais crônicos submetidos a hemodiálises sistemáticas, detectaram 38,6% de prevalência do anti-HCV. Neste grupo, observaram correlação entre a positividade *para o* anti-HCV e história anterior de hemotransfusão, assim como, com a maior quantidade de unidades de sangue transfundidas, e ainda, com o maior tempo de tratamento dialítico. Em 65 pacientes renais crônicos, que não eram submetidos a hemodiálise, a prevalência do anti-HCV foi significativamente menor (4,6%), embora superior ao detectado entre os funcionários da unidade (1,6%). Com isso, concluíram que a maior parte dos pacientes adquiria a infecção após o início do tratamento dialítico.

No presente trabalho, a história prévia de transfusão sanguínea foi caracterizada em 24 pacientes (96%) portadores do HCV. Em virtude de a grande maioria dos pacientes estudados (84,8%) apresentarem história anterior de transfusão de sangue ou derivados (embora semelhantes aos 87% relatados por Jeffers *et al.* (1990), ou aos 74% referidos por McHutchison *et al.*,1992), houve dificuldade de se fazer uma correlação estatística entre o uso anterior de sangue e a presença de infecção pelo HCV. Ressalta-se que, o único paciente portador de infecção pelo HCV deste estudo que não apresentava história de transfusão de sangue, também não era submetido à hemodiálise, principais fatores relacionados a transmissão do HCV entre os dialisados.

Corroborando com dados da literatura (Fujiyama *et al.*, 1992), não foi detectado diferença entre infecção pelo HCV em relação ao sexo, entre os indivíduos estudados. Houve diferença significativa, entretanto, ao serem analisados, quanto a idade, pacientes acima e abaixo de cinqüenta anos, no entanto, este aspecto deve ser explicado devido as variáveis idade e tempo de tratamento dialítico apresentarem-se diretamente proporcionais, neste grupo de pacientes.

Em relação aos pacientes analisados neste estudo, observou-se correlação estatística entre infecção pelo HCV e tempo de tratamento dialítico superior a seis meses, sugerindo que a transmissão deste agente ocorra, em grande parte, devido ao tratamento dialítico a que tais pacientes são submetidos.

Okuda *et al.* (1995) em estudo retrospectivo por 42 meses, com 730 pacientes submetidos e hemodiálise, detectaram em 49 (6,7%) pacientes, soroconversão para o anti-HCV sem história de transfusão de sangue nos seis meses precedentes à conversão, além de redução na incidência de hepatite C neste grupo, após a adoção de medidas preventivas na unidade de diálise. Naghettini *et al.* (1997), em estudo soroepidemiológico com 173 dialisados de Goiânia, detectou prevalência de 35,3% para o anti-HCV e correlação direta com a permanência no tratamento e o uso de hemodiálise.

Justifica-se, portanto a manutenção de estudos soroepidemiológicos nesta unidade de diálise do Estado do Pará, caracterizada por altos índices de infecção pelo HCV, com a utilização, inclusive, de técnicas de biologia molecular, para avaliação dos níveis de viremia e caracterização dos genótipos do HCV predominantes nesta unidade, com vistas a uma melhor caracterização da infecção, e um controle mais eficaz na transmissão deste agente, em pacientes submetidos a tratamento dialítico.

5 CONCLUSÕES

1 - Os testes imunoenzimáticos de 3^a geração para detecção do anti-HCV comparados neste estudo, apresentaram desempenho muito semelhantes, ao serem utilizados como teste de triagem para infecção pelo HCV, em uma unidade de diálise;

2 - Todos os testes imunoenzimáticos estudados apresentaram falha na detecção de indivíduos portadores do HCV, principalmente entre o grupo de hemodialisados, com maior prevalência para este agente;

3 - Há necessidade de adoção pelas unidades de diálise, de testes laboratoriais baseados em métodos de biologia molecular, com objetivo de detectarem com maior precisão, e em menor período de tempo, os indivíduos infectados pelo HCV;

4 - Há necessidade de revisão dos valores de referência de normalidade para as aminotransferases entre os pacientes portadores de doença renal crônica, afim de que estas possam ser melhor utilizadas como marcadores indiretos de infecção por agentes hepatotrópicos;

5 - Houve detecção de alta prevalência de portadores de infecção pelo HCV e HBV nesta unidade de diálise;

6 - Houve maior prevalência de infecção pelo HCV em pacientes submetidos a hemodiálise, do que entre os submetidos a diálise peritoneal, demonstrando maior exposição dos hemodialisados à este agente;

7 - Houve uma relação direta entre a prevalência de infecção pelo HCV com o aumento da idade dos pacientes e maior tempo de tratamento dialítico, sugerindo que a transmissão deste agente dá-se, em grande parte, na unidade de diálise;

8 - Não foi possível quantificar a importância das transfusões sanguíneas na transmissão do HCV e HBV no grupo estudado. Novos estudos com este objetivo deverão ser realizados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLANDER, T., MEDIN, C., JACOBSON, S.H., GRILLNER, L., PERSSON, M.A.A. Hepatitis C transmission in a hemodialysis unit: molecular evidence for spread of virus among patients not sharing equipment. **Journal of Medical Virology**, **43**: 415-9, 1994.
- ALTER, H.J. Descartes before the horse: I clone, therefore I am: the hepatitis C virus in current perspective. **Annals of Internal Medicine**, **115**: 644-9, 1991.
- ALTER, H.J., HOLLAND, P.V., MORROW, A.G., PURCELL, R.H., FEINSTONE, S.M., MORITSUGU, Y. Clinical and serological analysis of transfusion-associated hepatitis. **The Lancet**, **2**: 838-41, 1975.
- ALTER, H.J., PURCELL, R.H., HOLLAND, P.V., POPPER, H. Transmissible agent in non-A non-B hepatitis. **The Lancet**, **1**: 459-65, 1978.
- ALTER, H.J., PURCELL, R.H., SHIH, J.W., MELPOLDER, J.C., HOUGHTON, M., CHOO, Q.L., KUO, G. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. **The New England Journal of Medicine**, **321**: 1494-1500, 1989.
- ALTER, M.J., Hepatitis C: a sleeping giant. **The American Journal of Medicine**, **91**: 112-5, 1991.
- ALTER, M.J., FAVERO, M.S., MAYNARD, J.E. Impact of infection control strategies on the incidence of dialysis-associated hepatitis in the United States. **The Journal of Infectious Diseases**, **153**: 1149-51, 1986.

- ALVES, D.M., Surto de hepatite C em uma unidade de hemodiálise no Estado do Pará, Brasil - Resultados preliminares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEFROLOGIA. 16. Rio de Janeiro, 1992. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Nefrologia, 1992.
- ARICI, C., GREGIS, G.P., MARCHESI, D., MINGARDI, G., MECCA, G., BELLAVITA, P. Effectiveness of a preventive programme for non-A, non-B hepatitis in a large dialysis unit [letter]. **Nephrology, Dialysis and Transplantation**, 5: 902-3, 1990.
- ASOCIACIÓN NEFROLÓGICA DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES – CONSEJO DE HEMODIÁLISIS. Normas de bioseguridad universales para su aplicación en los servicios de hemodiálisis. Conclusiones de las primeras jornadas de bioseguridad en diálisis. **Revista de Nefrología, Diálisis y Transplante**, 35:1-18, 1994.
- BENSABATH, G., CARTÁGENES, P.R.B., DIAS, L.B., CRESCENTE, J.A.B., MIRANDA, E.C.B.M. Hepatites por vírus. In: **Doenças Infecciosas e Parasitárias: enfoque amazônico**. LEÃO, R.N.Q. (coord.). 1º ed., Belém, Cejup, 1997, cap. 20, p. 331.
- BLAGG, C.R., SCRIBNER, B.H. Dialysis: Medical, psychosocial, and economic problems unique to the dialysis patient. In: **The Kidney**. BRENNER, B.M., & RECTOR Jr., F.C. (eds.). 1º ed., Philadelphia, W.B. Saunders, 1976, cap.42, p. 1706.
- BLUMBERG, A., ZEHNDER, C., BURCKARDT, J.J. Prevention of hepatitis C infection in hemodialysis units. A prospective study. **Nephrology, Dialysis and**

Transplantation, 10: 230-3, 1995.

BRADLEY, D.W. Hepatitis C virus: Background and strategies for cloning a major etiologic agent of PT-NANBH. In: **Viral hepatitis and liver diseases**. Hollinger, F.B., Lemon, S.M. & Margolis, H.S. (eds.). Baltimore, Williams & Wilkins, 1991, p. 320-8.

BRIND, A.M., CODD, A.A., COHEN, B.J., GABRIEL, F.G., COLLINS, J.D., JAMES, O.F.W., BASSENDINE, M.F. Low prevalence of antibody to hepatitis C virus in North East England. **Journal of Medical Virology, 32:** 243-8, 1990.

BRUNSON, M.E., LAU, J., DAVIS, G.L., SCORNIK, J., HOWARD, R.J., PFAFF, W.W. Non-A non-B hepatitis and elevated serum aminotransferases in renal transplant patients. Correlation with hepatitis C infection. **Transplantation, 56:** 1364-7, 1993.

CAMPS, D.H., AZCONA, S., BERTOLA, S., KOHN, I., NOGUERA, E., GARZON-MACEDA, F., BONGIORNO, E., MASSARI, P., DE ARTEAGA, J. Prevalencia de anticuerpos anti-hepatitis por virus C en hemodializados cronicos. **Medicina (Buenos Aires), 52:** 511-5, 1992.

CARAMELO, C., BARTOLOMÉ, J., ALBALATE, M., DE SEQUERA, P., NAVAS, S., BERMEJILLO, T., OLIVA, H., MARRIOT, E., ORTIZ, A., TUNÓN, C.R., CASADO, S., CARRENO, V. Undiagnosed hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: value of HCV RNA and liver enzyme levels. **Kidney International, 50:** 2027-31, 1996.

CARTÁGENES, P.R.B., ALVES, D.M., SOARES, M.C.P., BENSABATH, G. Marcadores sorológicos das hepatites B e C em uma unidade de diálise do

- Estado do Pará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HEPATOLOGIA. 12, Salvador, 1993. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Hepatologia, 1993a. p. 91.
- CARTÁGENES, P.R.B., ALVES, D.M., SOARES, M.C.P., BENSABATH, G. Redução dos índices de infecção pelo HCV em uma unidade de diálise em Belém/Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 28: 1, 1995a.
- CARTÁGENES, P.R.B., SOARES, M.C.P., BENSABATH, G., ALVES, D.M. Estudo comparativo entre a freqüência do anticorpo anti-HCV e o tempo de tratamento em pacientes submetidos a hemodiálise no Estado do Pará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HEPATOLOGIA. 12, Salvador, 1993. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Hepatologia, 1993b. p. 88.
- CARTÁGENES, P.R.B., SOARES, M.C.P., BENSABATH, G., ALVES, D.M. Variação das aminotransferases concomitante à conversão sorológica para o anti-HCV em hemodialisados no Estado do Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 27: 365, 1994.
- CARTÁGENES, P.R.B., SOARES, M.C.P., BENSABATH, G., ALVES, D.M., MIGONE, S.R.C. Análise dos marcadores sorológicos das hepatites B e C em duas unidades de diálise em Belém/Pará. **GED: Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva**, 14: 149, 1995b.
- CASTELNOVO, C., LUNGHI, G., De VECCHI, A., GRANCINI, A., COMO, G., GRAZIANI, G., SCALAMOGNA, A., PONTICELLI, C. Comparison of three different tests for assessment of hepatitis C virus in dialysis patients.

Peritoneal Dialysis International, 15: 241-5, 1995.

CENDOROGLO-NETO, M., TEDESCO Jr., H.S., SILVA Jr., A.P., MANZANO, S.I.R., SILVA, A.E.B., DRAIBE, S.A., AJZEN, H., PESTANA, J.O.M. Viral hepatitis B and HCV infection among renal transplant patients in Brazil.

Transplantation Proceedings, 24: 3087-8, 1992.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. What are the recommendations for control of hepatitis C in chronic hemodialysis centers?

Hepatitis Surveillance, 55: 5- 8, 1994.

CHA, T., BEALL, E., IRVINE, B., KOLBERG, J., CHIEN, D., KUO, G., URDEA, M. At least five related, but distinct, hepatitis C viral genotypes exist.

Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 89: 4942-6, 1992.

CHAN, T.M., LOK, A.S.F., CHENG, I.K.P., CHAN, R.T. Prevalence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: A longitudinal study comparing the results of RNA and antibody assays. **Hepatology, 17:** 5-8, 1993.

CHAN, S.W., McOMISH, F., HOLMES, E.C., DOW, B., PEUTHERER, J.F., FOLLET, E., YAP, P.L., SIMMONDS, P. Analysis of a new hepatitis C virus type and its phylogenetic relationship to existing variants. **Journal of General Virology, 73:** 1131- 41, 1992.

CHOO, Q.L.; KUO, G.; WEINER, A.J.; OVERBY, L.R.; BRADLEY, D.W.; HOUGHTON, M. Isolation of a cDNA derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. **Science, 244:** 359-62, 1989.

COMBES, B., SHOREY, J., BARRERA, A., STASTNY, P., EIGENBRODT, E.H., HULL, A.R. Glomerulonephritis with deposition of Australia antigen-antibody

- complexes in glomerular basement membrane. **The Lancet**, **2**: 234, 1971.
- COREY, L., STAMM, W.E., FEORINO, P.M., BRYAN, J.A., WESELEY, S., GREGG, M.B., SOLANGI, K. HBsAg-negative hepatitis in a hemodialysis unit: Relation to Epstein-Barr virus. **The New England Journal of Medicine**, **293**: 1273-8, 1975.
- COUROUCÉ, A.M., BOUCHARDEAU, F., GIRAULT, A., LE MARREC, N. Significance of NS3 and NS5 antigens in screening for HCV antibody (letter). **The Lancet**, **343**: 853-4, 1994.
- COUROUCÉ, A.M., CHAUVEAU, P., LE MARREC, N., NARET, C., DELONS, S. Infection par le virus de l'hépatite C dans une unité d'hémodialyse parisienne. **La Presse Médicale**, **20**: 609, 1991.
- DE MITRI, M.S., POUSSIN, K., BACCARINI, P., PONTISSO, P., D'ERRICO, A., SIMON, N., GRIGIONI, W., ALBERTI, A., BEAUGRAND, M., PISI, E., BRÉCHOT, C., PATERLINI, P. HCV-associated liver cancer without cirrhosis. **The Lancet**, **345**: 413-5, 1995.
- DENTICO, P., BUONGIORNO, R., VOLPE, A., CARLONE, A., CARBONE, M., MANNO, C., PROSCIA, F., PASTORE, G., SCHIRALDI, O. Prevalence and incidence of hepatitis C virus (HCV) in hemodialysis patients: study of risk factors. **Clinical Nephrology**, **38**: p. 49-52, 1992.
- DENTICO, P., VOLPE, A., BUONGIORNO, R., MANNO, C., CARABELLESE, S., MONNO, L., PASTORE, G. HCV third generation test in hemodialysis patients. **Italian Journal of Gastroenterology**, **27**: 300-2, 1995.
- DOW, B.C., FOLLET, E.A.C., JORDAN, T., McOMISH, F., DAVIDSON, J.,

- GILLON, J., YAP, P.L., SIMMONDS, P. Testing of blood donations for hepatitis C virus. **The Lancet**, **343**: 477-8, 1994.
- EKNOYAN, G., GYORKEY, F., DICHOSO, C., MARTINEZ-MALDONADO, M., SUKY, W.N., GYORKEY, P. Renal morphological and immunological changes associated with acute viral hepatitis. **Kidney International**, **1**: 413-9, 1972.
- ENOMOTO, N., TAKADA, A., NAKAO, T., DATE, T. There are two major types of hepatitis C virus in Japan. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, **170**: 1021-5, 1990.
- EPSTEIN, M. The kidney in liver disease. In: **The Liver: Biology and Pathobiology**. ARIAS, I.M., BOYER, J.L., FAUSTO, N., JAKOBY, W.B., SCHACHTER, D.A., SHAFRITZ, D., 3^a ed., New York, Raven Press, 1994, cap. 65, p. 1235.
- ESTEBAN, J.I., LÓPEZ-TALAVERA, J.C., GENESCÀ, J., MADDOZ, P., VILADOMIU, L., MUÑIZ, E., MARTIN-VEGA, C., ROSELL, M., ALLENDE, H., VIDAL, X., GONZÁLEZ, A., HERNANDEZ, J.M., ESTEBAN, R., GUARDIA, J. High rate of infectivity and liver disease in blood donors with antibodies to hepatitis C virus. **Annals of Internal Medicine**, **115**: 443-9, 1991.
- FABRIZI, F., LUGHI, G., ANDRULLI, S., PAGLIARI, B., MANGANO, S., FARANNA, P., PAGANO, A., LOCATELLI, F. Influence of hepatitis C virus (HCV) viraemia upon serum aminotransferase activity in chronic dialysis patients. **Nephrology, Dialysis and Transplantation**, **12**: 1394-8, 1997.
- FABRIZI, F., LUGHI, G., GUARNORI, I., RAFFAELE, L., ERBA, G., PAGANO, A., LOCATELLI, F. IgM antibody response to hepatitis C virus in end-stage renal

- disease. **Nephrology, Dialysis and Transplantation**, **11**: 314-8, 1996.
- FAVERO, M.S., HARWOOD, S., IWARSON, S. Strategies for control of hepatitis in health-care workers. In: HOLLINGER, F.B., LEMON, S.M. & MARGOLIS, H.S. **Viral hepatitis and liver diseases**. Baltimore, Williams & Wilkins, 1991, p. 828.
- FEINSTONE, S.M., KAPIKIAN, A.Z., PURCELL, R.H., ALTER, H.J., HOLLAND, P.V. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. **The New England Journal of Medicine**, **292**: 767-70, 1975.
- FEUCHT, H.H., ZOLLNER, B., POLYWKA, S., LAUFS, R. Study on reliability of commercially available hepatitis C virus antibody tests. **Journal of Clinical Microbiology**, **33**: 620-4, 1995.
- FOCACCIA, R. Hepatites virais. In: **Veronesi: Tratado de Infectologia**. VERONESI, R. & FOCACCIA, R. (eds.), São Paulo, Atheneu, 1997, p. 287.
- FOCACCIA, R. & SOUZA, F.V. de. Hepatite C. In: **Veronesi: Tratado de Infectologia**. VERONESI, R. & FOCACCIA, R. (eds.), São Paulo, Atheneu, 1997, p. 315.
- FUJIYAMA, S., KAWANO, S., SATO, S., TANAKA, M., GOTO, M., TAURA, Y., SATO, T., KAWAHARA, T., MIZUNO, K. Prevalence of hepatitis C virus antibodies in hemodialysis patients and dialysis staff. **Hepato-Gastroenterology**, **39**: 161-5, 1992.
- GALBRAITH, R.M., DIENSTAG, J.L., PURCELL, R.H., GOWER, H., ZUCKERMAN, A.J., WILLIAMS, R. Non-A non-B hepatitis associated with chronic liver disease in hemodialysis unit. **The Lancet**, **1**: 951-3, 1979.

- GITNICK, G., WEISS, S., OVERBY, L.R., LING, C.M., CHAIREZ, R., PARSA, K. Non-A non-B hepatitis: a prospective study of a hemodialysis outbreak with evaluation of a serologic marker in patients and staff. **Hepatology**, **3**: 625-30, 1983.
- GIULIVI, A., AYE, M.T., GRAY, E., SCALLA, V., GILL, P., CHENG, G. Anti-hepatitis C virus (HCV) screening at Canadian Red Cross center: significance of a positive c100 HCV enzyme-linked immunosorbent assay. **Transfusion**, **32**: 309-11, 1992.
- GOFFIN, E., PIRSON, Y., CORNU, C., JADOUL, M., STRIHOU, C. van Y. de. Significance of NS3 and NS5 antigens in screening for HCV antibody (letter). **The Lancet**, **343**: 854, 1994.
- GRETCH, D. Diagnostic tests for hepatitis C. In: NIH CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON MANAGEMENT OF HEPATITIS C. Maryland, 1997. **Program and abstracts...** Maryland: National Institutes of Health, 1997. p. 45-55.
- GUH, J.Y., LAI, Y.H., YANG, C.Y., CHEN, S.C., CHUANG, W.L., HSU, T.C., CHEN, H.C., CHANG, W.Y., TSAI, J.H. Impact of decreased serum transaminase levels on the evaluation of viral hepatitis in hemodialysis patients. **Nephron**, **69**: 459-65, 1995.
- HADLER, S.C., MARGOLIS, H.S. Viral hepatitis. In: **Viral infections of humans: epidemiology and control**. EVANS, ALFRED S., 3^a ed., New York, Plenum Medical Book, 1989, cap. 13, p. 377.
- HARDY, N.M., SANDRONI, S., DANIELSON, S., WILSON, W.J. Antibody to

- hepatitis C virus increases with time on hemodialysis. **Clinical Nephrology**, **38**: 44-8, 1992.
- HOUGHTON, M., SELBY, M., WEINER, A., CHOO, Q.L. Hepatitis C virus: structure, protein products and processing of the polyprotein precursor. **Current Studies in Hematology and Blood Transfusion**, **61**:1-11, 1994.
- HOUGHTON, M., WEINER, A., HAN, J., KUO, G., CHOO, Q.L. Molecular biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis, development and control of viral disease. **Hepatology**, **14**: 381-8, 1991.
- INSTITUTO EVANDRO CHAGAS. **Relatório Quinquenal (1991-1995)**. Belém, 1996, p. 122-4.
- IRIE, Y., HAYASHI, H., YOKOZEKI, K., KASHIMA, T., OKUDA, K. Hepatitis C infection unrelated to blood transfusion in hemodialysis patients. **Journal of Hepatology**, **20**: 557-9, 1994.
- JADOUL, M., CORNU, C., STRIHOU, C. van Y., and the UCL COLLABORATIVE GROUP. Incidence and risk factors for hepatitis C seroconversion in hemodialysis: A prospective study. **Kidney International**, **44**: 1322-6, 1993.
- JANOT, C., COUROUCÉ, A.M., MANIEZ, M. Antibodies to hepatitis C virus in French blood donors. **The Lancet**, **2**: 796-7, 1989.
- JEFFERS, L.J., PEREZ, G.O., DE MEDINA, M.D., ORTIZ-INTERIAN, C.J., SCHIFF, E.R., REDDY, K.R., JIMENEZ, M., BOURGOIGNIE, J.J., VAAMONDE, C.A., DUNCAN, R., HOUGHTON, M., CHOO, G.L., KUO, G. Hepatitis C infection in two urban hemodialysis units. **Kidney International**, **38**: 320-2, 1990.

- KAPOOR, M., EL-RASHAID, K., AL-MUFTI, S., SANAD, N.A., KOSHY, A. Is dialysis environment more important than blood transfusion in transmission of hepatitis C virus during hemodialysis ? **Vox Sang**, **65**: 331, 1993.
- KAROHL, C., MANFRO, R.C., SENGER, M.B., THOMÉ, F.S., GONÇALVES, L.F.S., RIGATTO, M., PROMPT, C.A. Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica de Porto Alegre. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, **17**: 40-6, 1995.
- KOHARA, K.T., KOHARA, M., YAMAGUSHI, K., MAKI, N., TOYOSHIMA, A., MIKI, K., TANAKA, S., HATTORI, N., NOMOTO, A. A second group of hepatitis C viruses. **Virus Genes**, **5**: 243-54, 1991.
- KOLFF, W.J. First clinical experience with the artificial kidney. **Annals of Internal Medicine**, **62**: 608-19, 1965.
- KUHNL, P., SEIDL, S., STANGEL, W., BEYER, J., SIBROWSKI, W., FLIK, J. Antibody to hepatitis C virus in German blood donors. **The Lancet**, **2**: 234, 1989.
- KUO, G.; CHOO, Q.L.; ALTER, H.J.; GITNICK, G.L.; REDEKER, A.G.; PURCELL, R.H.; MIYAMURA, T.; DIENSTAG, J.L.; ALTER, M.J.; STEVENS, C.E.; TEGTMEIER, G.E.; BONINO, F.; COLOMBO, M.; LEE, W.S.; KUO, C.; BERGER, K.; SHUSTER, J.R.; OVERBY, L.R.; BRADLEY, D.W.; HOUGHTON, M. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A non-B hepatitis. **Science**, **244**: 362-4, 1989.
- LAU, J.Y.N., DAVIS, G.L., KNIFFEN, J., QIAN, K.P., URDEA, M.S., CHAN, C.S., MIZOKAMI, M., NEUWALD, P.D., WILBER, J.C. Significance of serum

- hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. **The Lancet**, **341**: 1501-4, 1993.
- LEE, G.S., ROY, D.K., FAN, T.Y., THANALETCHUMI, K., WOO, K.T. Hepatitis C antibodies in patients on peritoneal dialysis: prevalence and risk factors. **Peritoneal Dialysis International**, **16**: 424-8s, 1996.
- LI, X.M., REDDY, K.R., JEFFERS, L.J., PARKER, T., MEDINA, M. de, SCHIFF, E.R. Indeterminate hepatitis C. **The Lancet**, **341**: 835, 1993.
- LOK, A.S.F., CHIEN, D., CHOO, Q.L., CHAN, T.M., CHIU, E.K.W., CHENG, I.K.P., HOUGHTON, M., KUO, G. Antibody response to core, envelope and nonstructural hepatitis C virus antigens: comparison of immunocompetent and immunosuppressed patients. **Hepatology**, **18**: 493-6, 1993.
- LUENGROJANAKUL, P., VAREESANGTHIP, K., CHAINUVATI, T., MURATA, K., TSUDA, F., TOKITA, H., OKAMOTO, H., MIYAKAWA, Y., MAYUMI, M. Hepatitis C virus infection in patients with chronic liver disease or chronic renal failure and blood donors in Thailand. **Journal of Medical Virology**, **44**: 287-92, 1994.
- MAGGIORE, Q., CATALANO, C. Viral hepatitis in dialysis units: A changing scenario. **Contributions to Nephrology**, **61**: 240-53, 1988.
- MARTIN, P. Hepatitis C genotypes: The key to pathogenicity? **Annals of Internal Medicine**, **122**: 227-7, 1995.
- MAYOR, G.H. HOURANI, M.R., GREENBAUM, D.S., PATTERSON, J.P. Prevalence of hepatitis B in 27 Michigan hemodialysis centers. **American Journal of Public Health**, **69**: 581-4, 1979.

- MEDINA, M. de, SCHIFF, E. R. Hepatitis C: Diagnostic assays. **Seminars in Liver Disease, 15:** 33-40, 1995.
- McHUTCHISON, J.G., PERSON, J.L., GOVINDARAJAN, S., VALINLUCK, B., GORE, T., LEE, S.R., NELLES, M., POLITO, A., CHIEN, D., DINELLO, R., QUAN, S., KUO, G., REDEKER, A. G. Improved detection of hepatitis C virus antibodies in high-risk populations. **Hepatology, 15:** 19-25, 1992.
- MORELLI, O.H. Palabras finales y conclusiones de las Jornadas Nefrológicas del Litoral 29-30 Noviembre de 1991. **Revista de Nefrologia, Diálise y Transplantes, 31:** 1-8, 1992.
- MORI, S., KATO, N., YAGYU, A., TANAKA, T., IKEDA, Y., PETCHCLAI, B., CHIEWSILP, P., KURIMURA, T., SHIMOTOHNO, K. A new type of hepatitis C virus in patients in Thailand. **Biochemical and Biophysical Research Communications, 183:** 334-42, 1992.
- MOSCONI, G., CAMPIERI, C., MINIERO, R., COLI, L., ORSI, C., LA MANNA, G., DE SANCTIS, L.B., STEFONI, S., SPROVIERI, G., BONOMINI, V. Epidemiology of hepatitis C in a population of hemodialysis patients. **Nephron, 61:** 298-9, 1992.
- MULLER, G.Y., ZABALETA, M.E., ARMINIO, A., COLMENARES, C.J., CAPRILES, F.I., BIANCO, N.E., MACHADO, I.V. Risk factors for dialysis-associated hepatitis C in Venezuela. **Kidney International, 41:** 1055-8, 1992.
- NAGHETTINI, A.V., DAHER, R.R., MARTIN, R.M.B., DOLES, J., VANDERBORGHT, B., YOSHIDA, C.F.T., ROUZERE, C. Soroprevalência do vírus da hepatite C na população de diálise de Goiânia, GO. **Revista da**

Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 30: 113-7, 1997.

NEVES, P.L., AMORIM, J.P. Should patients with hepatitis C virus antibodies in chronic hemodialysis be isolated ? **American Journal of Kidney Diseases, 20:** 442, 1992.

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. **American Journal of Kidney Diseases, 22:** 568-73, 1993.

NOLTE, F.S., THURMOND, C., FRIED, M.W. Preclinical evaluation of Amplicor hepatitis C virus test for detection of hepatitis C virus RNA. **Journal of Clinical Microbiology, 33:** 1775-8, 1995.

NORDENFELT, E., LOFGREN, B., WIDELL, A., HANSSON, B.G., ZHANG, Y.Y., HAGSTAM, K.E., KURKUS, J. Hepatitis C virus in hemodialysis patients in Southern Sweden: epidemiological, clinical and diagnostic aspects. **Journal of Medical Virology, 40:** 266-70, 1993.

OGUCHI, H., MIYASAKA, M., TOKUNAGA, S., HORA, K., ICHIKAWA, S., OCHI, T., YAMADA, K., NAGASAWA, M., KANNO, Y., AIZAWA, T., WATANABE, H., YOSHIZAWA, S., SATO, K., TERASHIMA, M., YOSHIE, T., OGUCHI, S., TANAKA, E., KIYOSAWA, K., FURUTA, S. Hepatitis virus infection (HBV and HCV) in eleven Japanese hemodialysis units. **Clinical Nephrology, 38:** 36-43, 1992.

OKAMOTO, H., KURAI, K., OKADA, S., YAMAMOTO, K., IIZUKA, H., TANAKA, T., FUKUDA, S., TSUDA, F., MISHIRO, S. Full-length sequence of a hepatitis C virus genome having poor homology to reported isolates: comparative study

- of four distinct genotypes. **Virology**, **188**: 331-41, 1992.
- OKUDA, K., HAYASHI, H., KOBAYASHI, S., IRIE, Y. Mode of hepatitis C infection with blood transfusion among chronic hemodialysis patients. **Journal of Hepatology**, **23**: 28-31, 1995.
- PATTISON, C.P., MAYNARD, J.E., BERQUIST, K.R., WEBSTER, H.M. Serological and epidemiological studies of hepatitis B in hemodialysis units. **The Lancet**, **2**: 172-4, 1973.
- PAWLOTSKY, J.M., DHUMEAUX, D., BAGOT, M. Hepatitis C virus in dermatology: a review. **Archives of Dermatology**, **131**: 1185-93, 1995.
- PEREIRA, B.J.G., WRIGHT, T.L., SCHMID, C.H., LEVEY, A.S. A controled study of hepatitis C transmission by organ transplantation. **The Lancet**, **345**: 484-7, 1995a.
- PEREIRA, B.J.G., WRIGHT, T.L., SCHMID, C.H., LEVEY, A.S. The impact of pretransplantation hepatitis C infection on the outcome of renal transplantation. **Transplantation**, **60**: 799-805, 1995b.
- PERES, L.V.C. **Hepatite pelo vírus C em hemofílicos no Estado do Pará**. Tese de Mestrado. São Paulo, Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, 1996. 106 p.
- PINHO, J.R.R., BASSIT, L., SÁEZ-ALQUÉZAR, A. Estrutura dos vírus das hepatites. In: **Hepatites agudas e crônicas**. SILVA, L.C. (ed.), 2^a ed., São Paulo, Sarvier, 1995, cap. 2, p. 9-25.
- van der POEL, C.L., CUYPERS, H.T., REESINK, H.W. Hepatitis C virus six years on. **The Lancet**, **344**: 1475-9, 1994.

- RODRIGUEZ, M.I., ESTAY, R., SOTO, J.R., WOLFF, C., PLUBINS, L., CHILD, R., ARMAS, R. Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en una unidad de hemodialisis. **Revista Médica do Chile**, **121**: 152-5, 1993.
- SAÉZ, L.R., RODRIGUEZ-GARCIA, M., Riestra-Menendez, S. Hepatitis C virus: modes of transmission. In: **International symposium on lymphoblastoid alpha-interferon**. 2, Proceedings, DIANZANI, F., VALTUEÑA, J.P. (eds.), 1ª ed., London, Current Medical Literature, 1995, cap. 3, p. 18-26.
- SELGAS, R., BAJO, M.A., JIMENEZ, C., SANCHEZ, C., DEL PESO, G., CACHO, G., DIAZ, C., FERNANDEZ-REYES, M.J., DE ALVARO, F. Peritoneal dialysis in liver disorders. **Peritoneal Dialysis International**, **16**: 215-9s, 1996.
- SHIMIZU, Y.K., FEINSTONE, S.M., KOHARA, M., PURCELL, R.H., YOSHIKURA, H. Hepatitis C virus: Detection of intracellular virus particles by electron microscopy. **Hepatology**, **23**: 205-9, 1996.
- SILVA, A.E., LOPES, E.P., FIGUEIREDO, V.M., ARAÚJO, M., LANZONI, V.P., GRANERO, L.C., FERRAZ, M.L. Anti-HCV IgM na infecção crônica pelo vírus da hepatite C. **GED: Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva**, **14**: 150, 1995.
- SILVA, L.C., GRANATO, C.F.H. Importância clínica dos marcadores virais. In: **Hepatites Agudas e Crônicas**. SILVA, L.C. (eds.), 2ª ed., São Paulo, Sarvier, 1995, cap. 3, p. 26-39.
- SIMMONDS, P., HOLMES, E.C., CHA, T.A., CHAN, S.W., McOMISH, F., IRVINE, B., BEALL, E., YAP, P.L., KOLBERG, J., URDEA, M.S. Classification of

- hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. **Journal of General Virology**, **74**: 2391-9, 1993.
- SIRCHIA, G., BELLOBUONO, A., GIOVANETTI, A., MARCONI, M. Antibodies to hepatitis C virus in Italian blood donors. **The Lancet**, **2**: 797, 1989.
- SOARES, M.C.P., BENSABATH, G., CARTÁGENES, P.R.B., COSTA, M.F., COSTA, J.R.M., PEREIRA, L.M.C.M. Prevalência de anticorpos para o vírus da hepatite C em doadores de sangue do Estado do Pará. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL. 29, Fortaleza, 1993. **Anais...**Fortaleza: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 1993. p. 156.
- SZMUNESS, W., PRINCE, A.M., GRADY, G.F., MANN, M.K., LEVINE, R.W., FRIEDMAN, E.A., JACOBS, M.J., JOSEPHSON, A., RIBOT, S., SHAPIRO, F.L., STENZEL, K.H., SUKY, W.N., VYAS, G. Hepatitis B infection: A point-prevalence study in 15 hemodialysis centers. **The Journal of American Medical Association**, **227**: 901-6, 1974.
- VASCONCELOS, H.C.F.F., YOSHIDA, C.F.T., VANDERBORGHT, B.O.M., SCHATZMAYR, H.G. Hepatitis B and C prevalences among blood donors in the South region of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **89**: 503-7, 1994.
- VANDERBORGHT, B.O.M., ROUZERE, C., GINUINO, C.F., MAERTENS, G., VAN HEUVERSWYN, H., YOSHIDA, C.F.T. 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**, **37**: 75-9, 1995.
- VERNELEN, K., CLAEYS, H., VERHAERT, H., VOLCKAERTS, A., VERMYLEN, C. Significance of NS3 and NS5 antigens in screening for HCV antibody (letter). **The Lancet**, **343**: 853, 1994.
- WATSON, H.G., LUDLAM, C.A., REBUS, S., ZHANG, L.Q., PEUTHERER, J.F., SIMMONDS, P. Use of several second generation serological assays to determine the true prevalence of hepatitis C virus infection in haemophiliacs treated with non-virus inactivated factor VIII and IX concentrates. **British Journal of Haematology**, **80**: 514-8, 1992.
- WEILAND, O. & SCHVARCZ, R. Hepatitis C: Virology, epidemiology, clinical course and treatment. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, **27**: 337-42, 1992.
- YASUDA, K., OKUDA, K., ENDO, N., ISHIWATARI, Y., IKEDA, R., HAYASHI, H., YOKOZEKI, K., KOBAYASHI, S., IRIE, Y. Hipoaminotransferasemia in patients undergoing long-term hemodialysis: clinical and biochemical appraisal. **Gastroenterology**, **109**: 1295-1300, 1995.
- ZAAIJER, H.L., MIMMS, L.T., CUYPERS, H.T.M., REESINK, H.W., van der POEL, C.L., TASKAR, S., LELIE, P.N. Variability of IgM response in hepatitis C virus infection. **Journal of Medical Virology**, **40**: 184-7, 1993.
- ZHANG, H.Y., KURAMOTO, I.K., MAMISH, D., SAZAMA, K., HOLLAND, P.V., ZELDIS, J.B. Hepatitis C virus in blood samples from volunteer donors. **Journal of Clinical Microbiology**, **31**: 606-9, 1993.

ANEXOS

PRÓ-RIM: FICHA DE COLETA DE INFORMAÇÕES

REGISTRO: _____ DATA DA COLETA: (/ /)

NOME: _____ SEXO: ()

DATA DO NASCIMENTO: (/ /)

DATA DO INÍCIO DO TRATAMENTO NO PRÓ-RIM: (/ /)

REALIZAVA DIÁLISE EM OUTRO SERVIÇO ? ()SIM ()NÃO

TIPO DE TRATAMENTO ATUAL: ()HD()DP

ESQUEMA DE TRATAMENTO: ()2^a/4^a/6^a ()3^a/5^a/sab
()MANHÃ()TARDE

DOENÇA DE BASE: _____

JÁ REALIZOU TRANSFUSÃO (plasma inclusive)? ()SIM ()NÃO

QUANTAS VEZES? _____

JÁ APRESENTOU QUADRO DE ICTERÍCIA? ()SIM ()NÃO

JJN	91226	HD	16	14	26	325000
JMFF	91227	HD	25	35	17	260000
MCS	91228	HD	43	120	57	213000
MCSF	91229	HD	11	8	12	201000
MAS	91230	HD	33	59	167	220000
NPM	91231	HD	14	10	19	257000
OCA	91232	HD	30	14	186	361000
RFS	91233	HD	21	23	43	245000
TRL	91234	HD	23	16	12	298000
CSJC	91238	DP	35	32	12	296000
ASP	91239	DP	15	14	6	290000
AJA	91240	DP	31	136	73	296000
PCSN	91241	DP	23	26	12	201000
RSA	91242	DP	96	99	106	NR*
EP	91324	HD	102	103	47	208000
LFT	91349	DP	6	21	20	205000
DSS	91513	DP	NR	NR	15	NR

***NR=Não realizado**

anexo 3

ANS	91156	HD	PO	PO	PO	PO	
AAC	91157	DP	NE	NE	NE	NE	
FMLA	91158	HD	PO	PO	PO	PO	
ISD	91159	HD	PO	PO	PO	PO	
JDSM	91160	HD	PO	PO	PO	PO	
JCSP	91161	HD	PO	PO	PO	PO	
JBC	91162	HD	PO	PO	PO	PO	
LGC	91163	HD	PO	NE	NE	PO	
MDLS	91164	HD	PO	PO	PO	PO	
MNML	91165	HD	PO	PO	PO	PO	
MPTS	91166	HD	PO	PO	PO	PO	
MZO	91167	HD	PO	PO	PO	PO	
MPS	91168	HD	PO	PO	PO	PO	
PS	91169	HD	PO	PO	PO	PO	
AJM	91170	FC	NE	NE	NE	NE	
AGR	91171	FC	NE	NE	NE	NE	
AFS	91172	FC	NE	NE	NE	NE	
DCB	91173	FC	NE	NE	NE	NE	
DMA	91174	FC	NE	PO	PO	PO	
HRR	91175	FC	NE	NE	NE	NE	
JMSO	91176	FC	NE	NE	NE	NE	
MAFS	91177	FC	NE	NE	NE	NE	
MAGM	91178	FC	NE	NE	NE	NE	
MNBM	91179	FC	NE	NE	NE	NE	
NSS	91180	FC	NE	NE	NE	NE	
CBS	91181	HD	NE	NE	NE	NE	
AQF	91182	HD	PO	PO	PO	PO	
ETS	91183	HD	PO	PO	PO	PO	
JLV	91184	HD	PO	NE	IN	PO	
GVPS	91185	HD	NE	NE	NE	NE	
NSL	91186	DP	PO	PO	PO	PO	
JFS	91187	HD	NE	IN	NE	NE	
RFS	91188	HD	PO	PO	PO	PO	
SVCR	91189	DP	PO	PO	PO	PO	
MBC	91190	HD	PO	PO	PO	PO	
MALP	91191	DP	PO	PO	PO	PO	
MMAA	91192	DP	PO	PO	PO	PO	
MNOS	91193	HD	NE	NE	NE	NE	
FMC	91194	HD	NE	NE	NE	NE	
PPS	91195	HD	PO	PO	PO	PO	
JSC	91196	HD	PO	PO	PO	PO	
MSO	91197	FC	NE	NE	NE	NE	

NOME	REGISTRO	GRUPO	ORTHO	UBI	BIOCHEM	ABBOTT
JBLS	91198	FC	NE	NE	NE	IN
ECSB	91199	FC	NE	NE	NE	NE
LSS	91200	FC	NE	NE	NE	NE
DFLC	91201	FC	NE	NE	NE	NE
AJS	91202	FC	NE	NE	NE	NE
SOC	91203	FC	NE	NE	NE	NE
AST	91208	DP	PO	PO	PO	PO
MAS	91209	HD	NE	PO	PO	NE
AJSVF	91210	DP	NE	NE	NE	NE
AGTS	91211	HD	NE	NE	NE	NE
CAOS	91212	DP	NE	NE	NE	NE
CFD	91213	DP	NE	NE	PO	PO
HFCS	91214	HD	PO	PO	PO	PO
JMSS	91215	HD	PO	NE	NE	PO
JM	91216	HD	NE	NE	NE	NE
MAS	91217	HD	NE	NE	NE	NE
MMC	91218	HD	NE	NE	NE	NE
MLM	91219	HD	NE	NE	NE	NE
MCF	91220	HD	NE	NE	NE	NE
PSLJ	91221	HD	IN	NE	NE	NE
PPCM	91222	HD	NE	NE	NE	NE
RVS	91223	HD	NE	NE	NE	NE
TBS	91224	HD	NE	NE	NE	NE
JGA	91225	HD	NE	NE	NE	NE
JJN	91226	HD	NE	NE	NE	NE
JMFF	91227	HD	NE	NE	NE	IN
MCS	91228	HD	NE	NE	NE	NE
MCSF	91229	HD	NE	NE	NE	NE
MS A	91230	HD	NE	IN	NE	NE
NPM	91231	HD	NE	NE	PO	NE
OCA	91232	HD	NE	NE	NE	NE
RFS	91233	HD	IN	NE	NE	NE
TRL	91234	HD	NE	NE	NE	NE
CSJC	91238	DP	NE	NE	NE	NE
ASP	91239	DP	PO	NE	NE	IN
AJA	91240	DP	NE	NE	NE	NE
PCSN	91241	DP	NE	NE	NE	NE
RSA	91242	DP	PO	PO	PO	PO
EP	91324	HD	PO	PO	PO	PO
LFT	91349	DP	NE	NE	NE	NE
VSSF	91350	FC	NE	NE	NE	NE
DSS	91513	DP	NE	NE	NE	NE

anexo 4

NOME	REGISTRO	GRUPO	Nº CÓPIAS HCV-RNA
ANS	91156	HD	24783
FMLA	91158	HD	1640
JDSM	91160	HD	14055
JCSP	91161	HD	1000
JBC	91162	HD	57739
MDLS	91164	HD	3509
MPTS	91166	HD	104286
MPS	91168	HD	19147
PS	91169	HD	4052
AQF	91182	HD	4702
ETS	91183	HD	8204
JLV	91184	HD	1000
NSL	91186	HD	13238
RFS	91188	HD	1000
SVCR	91189	HD	17745
MBC	91190	HD	51011
PPS	91195	HD	99545
JSC	91196	HD	3931
AMS	91209	HD	153226
HFCS	91214	HD	69455
JMSS	91215	HD	6176
JM	91216	HD	1814597
MAS	91217	HD	105508
PSLJ	91221	HD	69146
RSA	91242	DP	374790