



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

**LETÍCIA DE SOUZA NÓBREGA**

**ASSOCIAÇÃO DO VÍRUS DA HEPATITE C COM O GRUPO SANGUÍNEO ABO e  
Rh(D) EM DOADORES DE SANGUE DA FUNDAÇÃO HEMOPA, PARÁ, BRASIL**

**Belém - Pará  
2012**

LETÍCIA DE SOUZA NÓBREGA

**ASSOCIAÇÃO DO VÍRUS DA HEPATITE C COM O GRUPO SANGUÍNEO ABO e Rh(D) EM DOADORES DE SANGUE DA FUNDAÇÃO HEMOPA, PARÁ, BRASIL**

Dissertação de Mestrado apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical, da Universidade Federal do Pará, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador:

Prof. Dr. José Ângelo Barletta Crescente

Belém – Pará  
2012

**Dados Internacionais de Catalogação-na- Publicação (CIP) –  
Biblioteca do Núcleo de Medicina Tropical/UFPA, Belém-PA**

---

Nóbrega, Leticia de Souza.

Associação do vírus da Hepatite C com o grupo sanguíneo ABO e Rh(D) em doadores de sangue da Fundação HEMOPA, Pará, Brasil / Leticia de Souza Nóbrega; orientador, José Ângelo Barletta Crescente. – 2012

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará. Núcleo de Medicina Tropical. Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais. Belém, 2012.

1. Hepatite C. 2. Doadores de Sangue. 3. Grupos sanguíneos I. Crescente, José Ângelo Barletta, orient. II. Título.

CDD: 22. ed. 616.3623



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

LETÍCIA DE SOUZA NÓBREGA

**ASSOCIAÇÃO DO VÍRUS DA HEPATITE C COM O GRUPO SANGUÍNEO ABO  
EM DOADORES DE SANGUE DA FUNDAÇÃO HEMOPA, PARÁ, BRASIL**

Dissertação de Mestrado apresentada para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Aprovado em: 25 de Junho de 2012

**Banca Examinadora:**

---

Prof Dr José Ângelo Barletta Crescente  
*Orientador/(UFPA/NMT)*

---

Profª Drª Luísa Carício Martins  
*Membro/(UFPA/NMT)*

---

Prof. Dra. Tereza Cristina de Oliveira Corvelo  
*Membro (UFPA/Instituto de Ciências Biológicas)*

---

Prof. Dr. José Alexandre Lemos  
*Membro/(UFPA/Instituto de Ciências Biológicas)*

---

Profª Drª Maísa Silva de Souza  
*Suplente/(UFPA/NMT)*

*Aos meus pais,  
Gerson e Ione Nóbrega,  
Por tanto amor e dedicação a minha vida.*

*Ao meu marido,  
Wandemir José Vieira Guimarães,  
Pelo incentivo, paciência e colaboração.*

*A minha filha,  
Giovanna Maria Nóbrega Guimarães,  
Por ter me trazido tanta felicidade.*

## AGRADECIMENTOS

À Prof<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Luísa Carício, pela sabedoria e dedicação com a qual supervisionou este trabalho, sendo sensível às diversas situações que lhes foram apresentadas e ainda pelo incentivo, que tornou possível a conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Ângelo Barletta Crescente pela aceitação de orientação deste trabalho e cooperação.

À Fundação Hemopa que permitiu que este sonho se tornasse realidade.

Aos funcionários da Fundação Hemopa: GETIN (em especial à Adriana e Ana Cléia), NEPES e GEDIH, pela disponibilidade e colaboração na coleta dos dados.

As minhas amigas Camila e Samantha, pelas cooperações no desenvolvimento deste trabalho.

À bibliotecária do NMT, Valdenira de Jesus Moreira, pela paciência e contribuição na elaboração do referencial teórico.

À Socorro Cardoso, da Secretaria Acadêmica PPGDT-NMT, pela atenção que me foi dispensada durante a realização do curso de mestrado.

À Deus, pela saúde, fé e perseverança que tem me dado e por ter me iluminado durante esta caminhada.

Ao meu marido, Wandemir José Vieira Guimarães, pelo apoio incondicional e que de forma especial me deu força e coragem para desempenhar mais esta etapa na minha vida.

Aos meus pais, a quem honro pelo esforço, que com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida, apoiando-me nos momentos de dificuldades.

A minha filha, Giovanna Maria Nóbrega Guimarães, que embora não tenha nenhum conhecimento deste, por ser tão bebê, trouxe força, perseverança e alegria para minha vida.

A todos os professores que muito contribuíram para a minha formação.

A todos, cujos nomes não foram citados, mas que direta e indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

**“Os problemas significativos que enfrentamos não podem ser resolvidos no mesmo nível de pensamento em que estávamos quando os criámos.”**

**Albert Einstein**



## RESUMO

Vários estudos têm demonstrado associação de sistemas de grupos sanguíneos com diversas patologias. Neste contexto este trabalho teve como objetivo investigar associação entre o vírus HCV e os grupos sanguíneos ABO e Rh em doadores de sangue da Fundação Hemopa no período de 2000 a 2010. Entre janeiro de 2000 a dezembro de 2010 foram analisadas 565.614 amostras de indivíduos que doaram sangue no Hemopa, sendo destes 1064 apresentaram teste reagente para pesquisa sorológica do HCV, 1246 inconclusivos e 563304 negativos. Entretanto, foram incluídos neste estudo somente os doadores de sangue que não possuíam qualquer tipo de co-infecção para nenhuma outra patologia pesquisada, de naturalidade paraense e pele de cor parda. Após, a seleção destes critérios gerou-se um tamanho amostral de 838 (0,15%) soropositivos, 1181 (0,21%) inconclusivos e 551.991 (99,64%) soronegativos de um total de 554.010 doadores de sangue. Para o diagnóstico sorológico da hepatite C foram empregados testes sorológicos de ELISA (Ensaio Imunoenzimático) de 4ª geração para detecção de anticorpos específicos anti-HCV no soro dos doadores e nas amostras de resultado positivo pela sorologia (ELISA) foi realizado extração do RNA viral. Os grupos sanguíneos ABO e Rh foram determinados através das pesquisas de antígenos A e/ou B, de anticorpos anti-A e/ou anti-B e de antígeno Rh(D) na amostra sanguínea do indivíduo. Ao longo destes anos observou-se que a soroprevalência de anticorpos HCV específico nos doadores de sangue vem sofrendo redução, variando de 132 a 38 casos sororeagentes. A maioria dos doadores estavam entre a faixa etária de 30 a 49 anos (57,64%), pertencendo predominantemente ao sexo masculino 74,5% (624/838) e procedentes de Belém 72,5% (607/838). Comparando a distribuição dos fenótipos do sistema de grupo sanguíneo ABO e Rh entre o grupo de doadores sororeagentes e não reagentes ao HCV, verificou-se que não há variação significativa na frequência destes fenótipos entre os doadores reagentes e não reagentes na pesquisa de anticorpos HCV específicos. Dos doadores de sangue que apresentaram resultado de PCR, quando comparado com os grupos sanguíneos ABO e Rh dos pacientes não se observou associação entre eles.

Palavras-chave: Vírus da hepatite C, Soroprevalência, Doadores de sangue, grupo sanguíneo ABO

## ABSTRACT

Several studies have demonstrated association of blood group systems with different pathologies. Therefore, this work aimed to investigate the association between HCV and blood groups ABO and Rh blood donors Hemopa Foundation from 2000 to 2010. Between January 2000 and December 2010 were analyzed 565,614 samples from individuals who donated blood in Hemopa, and 1064 showed these test reagent for HCV serologic survey, 1246 inconclusive and 563.304 negative. However, this study included only those blood donors who did not have any kind of co-infection to any other pathology researched, naturally Pará and brown skin. After the selection of these criteria led to a sample size of 838 (0.15%) seropositive in 1181 (0.21%) inconclusive and 551,991 (99.64%) seronegative for a total of 554.010 blood donors. For serological diagnosis of hepatitis C were used serological test ELISA (enzyme immunoassay) 4th generation for detection of specific anti-HCV in the serum of donors and the samples positive by serology (ELISA) was carried out extraction of viral RNA. The ABO and Rh blood groups were determined by the research of antigens A and / or B, anti-A and / or anti-B antibodies and Rh (D) antigens in the blood sample from the individual. Over the years we found that the seroprevalence of HCV-specific antibodies in blood donors has undergone reduction, ranging from 132 to 38 cases reactive serum. Most donors were between the age group 30-49 years (57.64%), belonging to the predominantly male 74.5% (624/838) and coming from Belém 72.5% (607/838). When the distribution of the phenotypes of the ABO and Rh blood groups systems between the donor reactive serum and non-reactive to HCV, it was found that no significant variation in the frequency of these phenotypes donor reagents and reactants in the non-HCV-specific antibodies. Donor blood PCR results showed that when compared to Rh and ABO blood groups of patients there was no association between them.

**Keywords:** Hepatitis C vírus, Seroprevalence, Blood donors, ABO blood group

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01-	Genoma do vírus da hepatite C.....	23
Figura 02-	Mecanismo molecular de replicação do vírus da hepatite C.....	24
Figura 03-	Genoma do vírus da hepatite C.....	25
Figura 04-	Prevalência do HCV em % no Mundo, 2005.....	27
Figura 05-	Soroprevalência do anti-HCV de acordo com as macroregiões brasileiras, Brasil 2002.....	28
Figura 06-	Modelo de proteínas transportadoras de antígenos.....	40
Figura 07-	Estrutura bioquímica dos antígenos ABO.....	42
Figura 08-	Substância precursora da hemácia e Formação do antígeno H....	43
Figura 09-	Biossíntese dos antígenos ABO e H no eritroblasto.....	43
Figura 10-	Esquema da biossíntese dos antígenos ABO, H e Lewis em células da mucosa salivar.....	45
Figura 11-	Estrutura do locus do gene ABO e sequências nucleotídicas dos alelos A, B e O.....	46
Figura 12-	Representação esquemática dos genes <i>ABO</i> (linha superior) e as proteínas (transferases) codificadas por eles (linha inferior).....	48
Figura 13-	Reação de hemaglutinação em gel centrifugação.....	49
Figura 14-	Modelo da proteína Rh na membrana das hemácias.....	53
Figura 15-	Modelo esquemático dos genes RhD e RhCE.....	54
Figura 16-	Representação esquemática das proteínas relacionadas ao sistema Rh e o complexo formado por elas na membrana eritrocitária.....	55
Gráfico 1-	Prevalência anual do HCV entre dos doadores de sangue da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.....	72
Gráfico 2-	Distribuição da amostra quanto à faixa etária dos doadores de sangue HCV reagentes da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.....	73

Gráfico 3-	Distribuição da amostra quanto ao gênero de doadores de sangue da Fundação Hemopa com teste reagente para o marcador sorológico anti-HCV, no período de 2000 a 2010.....	74
------------	--	----

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1-	Prevalência estimada de Hepatite C e número de infectados por região da OMS.....	27
Tabela 2-	Distribuição da amostra quanto à procedência dos doadores de sangue HCV reagentes da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.....	75
Tabela 3-	Distribuição da amostra quanto à procedência e os sistemas de grupos sanguíneos ABO e Rh(D) dos doadores de sangue HCV reagentes da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.....	76
Tabela 4-	Associação entre os fenótipos de grupo sanguíneo ABO com os resultados do teste imunoenzimático (Elisa) dos doadores de sangue da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.....	77
Tabela 5-	Distribuição da amostra quanto ao sistema de grupo sanguíneo Rh(D) de doadores de sangue da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.....	78
Tabela 6-	Associação entre os fenótipos de grupos sanguíneos ABO e RH com os resultados do teste de PCR dos doadores de sangue da Fundação Hemopa.....	79

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
µL	Microlitro
A	Amperes
Açúcar A	N-Acetilgalactosamina
Açúcar B	D-Galactose
ALT	Alanina aminotransferase
C	Core
CDC	Centers for Disease Control and Prevention of Disease
cDNA	DNA complementar
CENPREN	Centro de Prevenção e Tratamento da Dependência Química
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (ácido desoxirribonucléico)
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Enzima B	D-Galactosiltransferase
enzimas A	N-acetilgalactosamil transferase
EUA	Estados Unidos da América
G	Gramma
Gal β	Galactose
GlcNac	N-acetil-glucosamina
GP	Glicoproteína
GSVM	Banco de Sangue Ganesh Shankar Vidyarthi Memorial
HCC	Carcinoma hepatocelular
HCV	Vírus da Hepatite C
HEMOPA	Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Pará
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IgG	Imunoglobulina de classe G
IRES	Sítio interno de entrada do ribossomo
IVDU	Usuários de drogas intra-venosas
kb	Quilobases
LACEN	Laboratório Central do Estado do Pará
LDL	Proteínas de baixa densidade
LISS	Solução de baixa força iônica
Min	Minuto
mL	Mililitro
MS	Ministério da Saúde
N	Normal
NF-kB	Fator nuclear Kappa B
Nm	Nanômetro
nM	Nanômetro
°C	Graus Celsius ou graus centígrados
OMS	Organização Mundial de Saúde
RE	Retículo endoplasmático
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (ácido ribonucléico)
RPM	Rotações por minuto
RT-PCR	<i>Polimerase chain reaction in real time</i> (reação em cadeia da

	polimerase em tempo real)
s	Segundo
SGS	Sistema de grupo sanguíneo
TF	Thomsen-Friedenreich
TGF- $\beta$	Fator de transformação de crescimento
TMA	Amplificação mediada por transcrição
UFPA	Universidade Federal do Pará
UTR	Regiões não traduzidas
UV	Ultravioleta
V	Volts
VLDL	Proteínas de densidade muito baixa
WGO	World Gastroenterology Organization
WHO	World Health Organization
$\chi^2$	Qui-quadrado

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>2.</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>20</b>
<b>3.</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>22</b>
3.1.	VÍRUS DA HEPATITE C.....	22
3.1.1.	<b>Classificação e morfologia.....</b>	<b>22</b>
3.1.1.1.	<b>Organização genômica e replicação viral.....</b>	<b>23</b>
3.2.	EPIDEMIOLOGIA DA HEPATITE C.....	27
3.2.1.	<b>Transmissão e fatores de risco.....</b>	<b>29</b>
3.3.	PATOGENIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE C.....	33
3.4.	DIAGNÓSTICO DA HEPATITE C.....	35
3.4.1.	<b>Diagnóstico sorológico da hepatite C.....</b>	<b>35</b>
3.4.2.	<b>Deteção dos ácidos nucleicos do HCV por biologia molecular e determinação do genótipo do vírus (genotipagem).....</b>	<b>36</b>
3.5.	SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO ABO.....	39
3.5.1	<b>Biossíntese do sistema de grupo sanguíneo ABO no eritroblasto.....</b>	<b>41</b>
3.5.2.	<b>Biossíntese do sistema de grupo sanguíneo ABO no tecido.....</b>	<b>44</b>
3.5.3.	<b>Genética do sistema de grupo sanguíneo ABO.....</b>	<b>46</b>
3.5.4.	<b>Tipificação sorológica e determinação molecular do sistema de grupo sanguíneo ABO.....</b>	<b>48</b>
3.6.	SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO Rh.....	50
3.6.1.	<b>Histórico.....</b>	<b>50</b>
3.6.2.	<b>Genética do sistema de grupo sanguíneo Rh.....</b>	<b>51</b>



3.6.3.	<b>Estrutura da proteína Rh.....</b>	<b>52</b>
3.6.4.	<b>Estrutura do complexo Rh.....</b>	<b>54</b>
3.6.5.	<b>Função do sistema de grupo sanguíneo Rh.....</b>	<b>55</b>
3.6.6.	<b>Anticorpos do sistema de grupo sanguíneo Rh.....</b>	<b>56</b>
3.7.	<b>ASSOCIAÇÃO DO SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO ABO e Rh COM OUTRAS DOENÇAS E COM O HCV.....</b>	<b>57</b>
<b>4.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>61</b>
4.1.	OBJETIVO GERAL.....	61
4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	61
<b>5.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>62</b>
5.1.	CASUÍSTICA.....	62
5.1.1.	<b>Desenho do estudo.....</b>	<b>62</b>
5.1.2.	<b>Local do estudo.....</b>	<b>62</b>
5.1.3.	<b>Caracterização da amostra.....</b>	<b>62</b>
5.1.4.	<b>Critérios de inclusão e exclusão.....</b>	<b>63</b>
5.1.4.1.	<b>Critérios de inclusão.....</b>	<b>63</b>
5.1.4.2.	<b>Critérios de exclusão.....</b>	<b>63</b>
5.2.	MÉTODOS.....	63
5.2.1.	<b>Obtenção do material biológico.....</b>	<b>63</b>
5.2.2.	<b>Diagnóstico sorológico da hepatite C.....</b>	<b>64</b>
5.2.3.	<b>Detecção dos ácidos nucleicos do vírus da hepatite C por biologia molecular.....</b>	<b>66</b>
5.2.4.	<b>Determinação do grupo sanguíneo ABO e Rh (D).....</b>	<b>68</b>
5.3.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	70

<b>6.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>71</b>
<b>7.</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>80</b>
<b>8.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>85</b>
<b>9.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>86</b>
	<b>APÊNDICE.....</b>	<b>99</b>
	<b>ANEXO.....</b>	<b>100</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O vírus da hepatite C (HCV) é responsável pela segunda causa mais comum de hepatite viral e é uma das infecções Flaviviridae mais importantes do mundo, com significativos problemas clínicos (LEIVEVEN E PEGASYS, 2004).

Há 06 genótipos conhecidos (1-6) e segundo Zein e Persing (1996) há mais de cem subtipos. Estes diferentes genótipos do HCV encontram-se associados com estudos epidemiológicos, taxas de resposta ao tratamento anti-viral, desenvolvimento de vacina e manejo clínico da infecção (LIEW et al., 2004).

Em consonância com dados sobre prevalência da Organização Mundial de Saúde (OMS) (1999) estima-se que 3% da população mundial, em torno de 170 milhões de pessoas, estejam infectadas com o HCV. De acordo com o Ministério da Saúde (2008) a cronificação ocorre em 70-85% dos casos, que corresponde a cerca de 130 milhões de pessoas e adicionalmente, um quarto a um terço destes, podem evoluir para formas histológicas graves ou cirrose no período de 20 anos, caso não haja intervenção terapêutica, enquanto o restante evolui de forma mais lenta e talvez nunca desenvolva hepatopatia grave.

Desta forma, o HCV é causa significativa de morbidade e mortalidade global, responsável por aproximadamente 25% de doença crônica do fígado, carcinoma hepatocelular (HCC) (WHITE et al., 2008) e cerca de um a dois milhões de óbito ao ano (AQUINO et al., 2008). Nos Estados Unidos (EUA), o HCV é a indicação mais freqüente para o transplante hepático (MALLETTTE et al., 2008).

Sistemas de grupos sanguíneos são antígenos de superfície celular expressos segundo padrões de herança bem determinados. O grupo sanguíneo ABO é determinado pela presença de antígenos A e B na superfície hemácia, e de anticorpos anti-A e/ou anti-B no soro. Os anticorpos anti-A e anti-B são normalmente do tipo IgM, e não estão presentes em

recém-nascidos, mas aparecem no primeiro ano de vida. É possível que os anticorpos sejam produzidos contra antígenos alimentares e ambientais (bactérias, antígenos virais ou planta), que são semelhantes em estrutura aos antígenos A e B (HOSOI, 2008).

A distribuição do grupo sanguíneo ABO é frequentemente associada à susceptibilidade e resistência a certas doenças, infecciosas (parasitárias, bacterianas e virais) e não infecciosas (LENKA et al., 1981; BEHAL et al., 2010) estando relacionados com prognóstico do carcinoma gástrico, tumor pulmonar de pequenas células, carcinoma de esôfago, susceptibilidade a dermatofitoses, dermatite seborreica, lúpus eritematoso sistêmico, câncer de mama, entre outras (TAMEGA et al., 2009).

A expressão dos antígenos também exhibe mudanças dinâmicas durante o desenvolvimento e patogênese da doença, por exemplo, no câncer prostático em que tem sido documentado perda dos antígenos A/B (YAMAMOTO, 2004).

Os grupos sanguíneos ABO têm sido associado com fibrose severa na infecção crônica por hepatite C (POUJOL-ROBERT et al., 2006).

## 2. JUSTIFICATIVA

No Brasil, estudos de prevalência para o HCV na população em geral ainda são escassos (AQUINO et al., 2008). Estima-se que a soroprevalência em doadores de sangue seja de aproximadamente 1,6%, caracterizando o Brasil como uma área de baixa endemicidade. A importância do HCV na região Norte do Brasil faz-se devido a taxa de prevalência ser a mais alta de todas as regiões brasileiras e os valores mais elevados acontecem nos estados do Acre (5,9%) e Pará (0,2 – 2,0%) (FONSECA, 2004; FONSECA, 1999; OLIVEIRA-FILHO, 2010a) o que tem suscitado estudos soropidemiológicos em doadores de sangue na região.

Behal et al. (2010) em seu estudo sobre: “A variação do sistema de grupo sanguíneo ABO no hospedeiro pode estar associada com a suscetibilidade à infecção pelo vírus da hepatite C”, relata que o sistema de grupo sanguíneo ABO parece ter alguma relação na patogenicidade do HCV ou alguma imunodeficiência, associada a severidade para certas complicações da doença.

Entretanto, Naeini et al. (2010), também estudando hepatite viral crônica e sua relação com os sistemas de grupos sanguíneos ABO e Rh, observou que estes sistemas sanguíneos não exercem influência no desenvolvimento da infecção pelo HCV.

Nas bases de dados pesquisadas foram encontrados poucos estudos epidemiológicos do HCV na região Norte e nenhum associando a infecção por HCV com os sistemas de grupos sanguíneos ABO e Rh. Desta forma no limite do nosso conhecimento e da literatura consultada, este é o primeiro estudo a analisar a possibilidade de associação de grupos sanguíneos ABO e Rh com o HCV, realizado no Brasil.

Portanto diante do impacto da infecção causada pelo HCV e suas doenças associadas e ainda, devido variações na resposta imune à um agente infeccioso estarem

frequentemente associadas com a idade, sexo e vários outros fatores relacionados ao hospedeiro, este estudo visa investigar a hipótese de que idade, sexo e grupo sanguíneo podem estar associados com o status de anticorpos anti-HCV, com ênfase na interação de grupos sanguíneos e o risco de desenvolver a infecção.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. VÍRUS DA HEPATITE C

##### 3.1.1. Classificação e morfologia

Em 1989 o HCV foi inicialmente isolado a partir do soro de um indivíduo com hepatite não-A e não-B, por Choo et al. (1989) e logo após sua clonagem foi descoberto, nos EUA, que este vírus era causa de aproximadamente 90% das hepatites rotuladas de não-A e não-B (CHEN E MORGAN, 2006).

O HCV possui como ácido nucléico uma molécula de RNA de fita simples, polaridade positiva, classificado em gênero *Hepacivirus*, família *Flaviviridae* (LINDENBACH E RICE, 2005), espécie *Hepatitis C virus*, cujo genoma contém 9.400 nucleotídeos e codifica uma poliproteína de pouco mais de 3.000 aminoácidos (BURATTI et al., 1998).

A partícula viral observada através da microscopia eletrônica constitui-se de partículas esféricas de até 100 nm de diâmetro, envelopadas, que, após degradação com detergentes são convertidas em partículas menores lembrando nucleocapsídeos com um diâmetro de 30-40 nm (ANDRE et al., 2002) (Figura 01). As frações de baixa densidade do vírion contém proteínas apoB e apoE, triglicérides e colesterol, que são partículas de componentes de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL). Além disso, recentemente foi demonstrado que bloqueio do receptor de LDL pode bloquear a entrada do HCV (OWEN et al., 2009), indicando que o receptor de LDL é um co-receptor para entrada do HCV (JOYCE E TYRRELL, 2010).

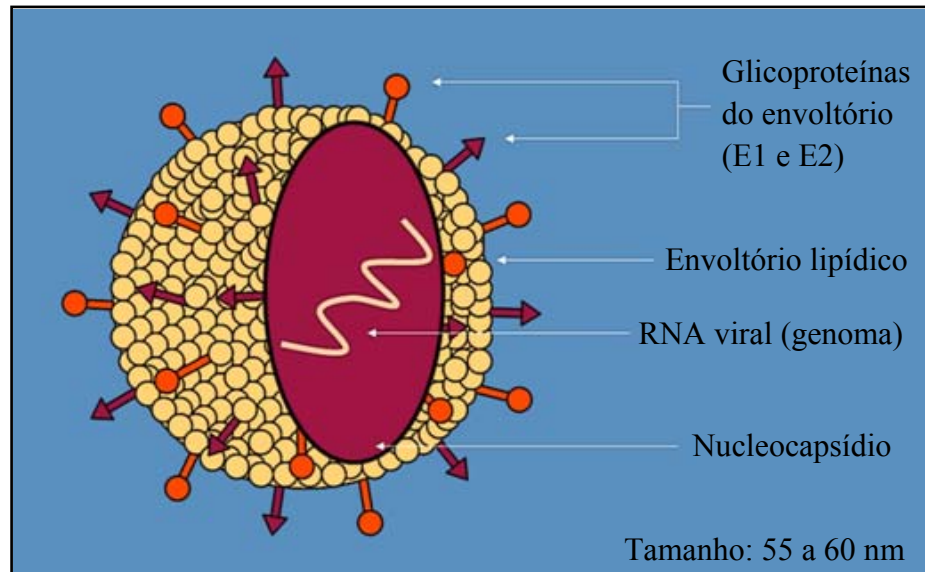


Figura 01: Genoma do vírus da hepatite C  
(Fonte: ANAYA, 2009)

### 3.1.2. Organização genômica e replicação viral

O genoma do HCV pesa aproximadamente 9,6 kb e codifica uma poliproteína com aproximadamente 3000 aminoácidos (BURATTI et al., 1998). É ladeado por regiões não traduzidas (UTR) nas extremidades 5' e 3' do genoma viral, e duas regiões: a região de estrutura (core, E1, E2) e a região não-estrutural (NS2, NS3, NS4, NS5) (SIMMONDS et al., 1993).

A rápida replicação viral e falta de mecanismo de reparo pela RNA polimerase são razões pelas quais o genoma do HCV sofre freqüentes mutações, originando populações quasiespécies (BUKH et al., 1995). Estas variações dos genomas do HCV mostram sequência com considerável divergência que o classificam em seis genótipos, 1, 2, 3, 4 e 6, sendo que estes podem ainda ser subdivididos em vários subtipos (SIMMONDS et al., 2005).

As variações na sequência do genoma do HCV apresentam diversidade de 31-33% entre os genótipos e 20-25% entre os subtipos (SIMMONDS et al., 2005). Os genótipos



são classificados com base em variações na região não-estrutural do genoma viral NS-5 (SIMMONDS et al., 1993).

Os diferentes genótipos estão associados a variações nas manifestações clínicas, à evolução da doença e a resposta ao tratamento (CAVALHEIRO, 2007a).

A replicação viral (Figura 02) origina-se com a penetração do vírus no citoplasma da célula hospedeira por endocitose, o vírus terá seu RNA liberado das estruturas que o protegem (proteínas do envelope viral – E1, E2 e core) (SIZOVA et al., 1998), porém não interage com genoma hospedeiro (LEONG E LEONG, 2005).

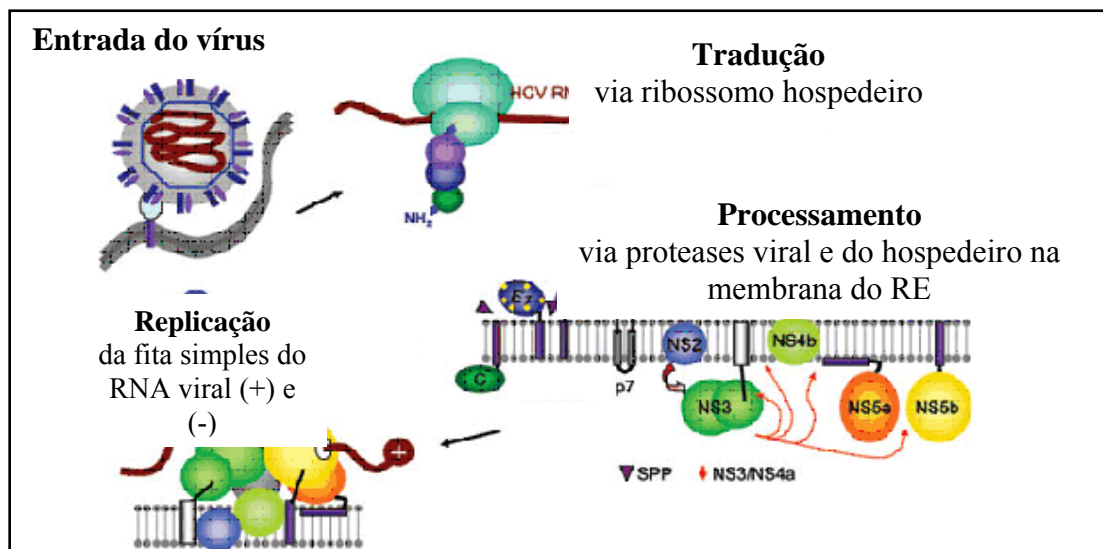


Figura 02: Mecanismo molecular de replicação do vírus da hepatite C.  
(Fonte: [http://www.crib.uclm.es/virologia/virologia\\_en.php](http://www.crib.uclm.es/virologia/virologia_en.php))

As UTRs 5' e 3' são necessárias para a replicação e o início da tradução (BURATTI et al., 1998).

O RNA do vírus alcançará os ribossomos presentes no retículo endoplasmático (RE) da célula do hospedeiro através da região 5' UTR que contém extensa estrutura secundária como o Sítio Interno de Entrada do Ribossomo (IRES), que dirige tradução do

HCV (SIZOVA et al., 1998; BURATTI et al., 1998), promovendo a síntese de uma poliproteína precursora com: três proteínas estruturais, nucleocapsídeo ou core (C) e glicoproteínas do envelope viral E1 (gp31) e E2 (gp70); além de seis proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) (SIMMONDS et al., 1993).

Esta poliproteína única e longa codificada pelo genoma do HCV apresenta a seguinte ordem dos genes: 5'-C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-3' (LINDENBACH E RICE, 2005) que é clivada por ação de proteases celulares formada pelas proteínas codificadas pelos genes NS3 e NS4A, que associada com uma RNA polimerase (codificada pelo gene NS5B) formará um complexo de replicação, que irá realizar a cópia da fita de RNA positiva para uma fita simples de RNA negativa e produzir o capsídeo viral e várias proteínas não estruturais (SIZOVA et al., 1998; JOYCE E TYRRELL, 2010) (Figura 03).

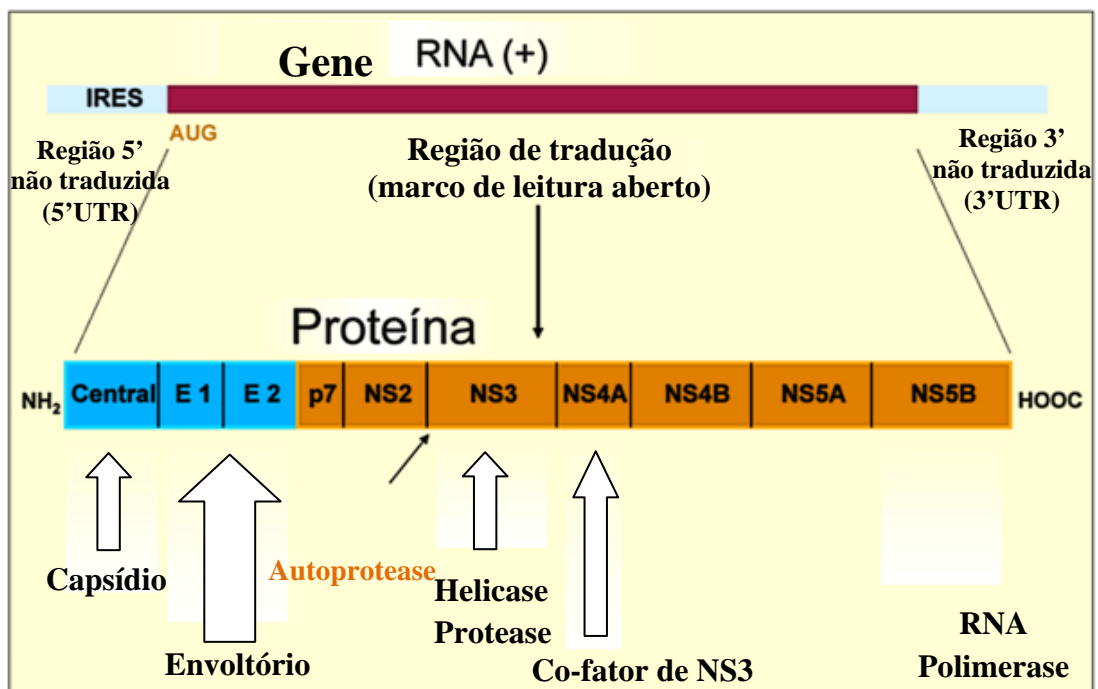


Figura 03: Genoma do vírus da hepatite C.  
(Fonte: ANAYA, 2009)

A proteína p7 desempenha função essencial para a montagem e liberação do vírion nas doenças infecciosas (BROHM et al., 2009).

Na infecção persistente o vírus rapidamente se distribui célula-a-célula através da falta de resposta de células T imunes ao antígeno, com produção de  $10^{10}$ - $10^{12}$  cópias/dia e meia-vida de 2-3 horas (NEUMANN et al., 1998).

### 3.2. EPIDEMIOLOGIA DA HEPATITE C

Em 1999, a WHO estimou uma prevalência mundial (Figura 04) de cerca de 3%, com o vírus afetando 170 milhões de pessoas em todo o mundo (Tabela 1) (SY E JAMAL, 2006).

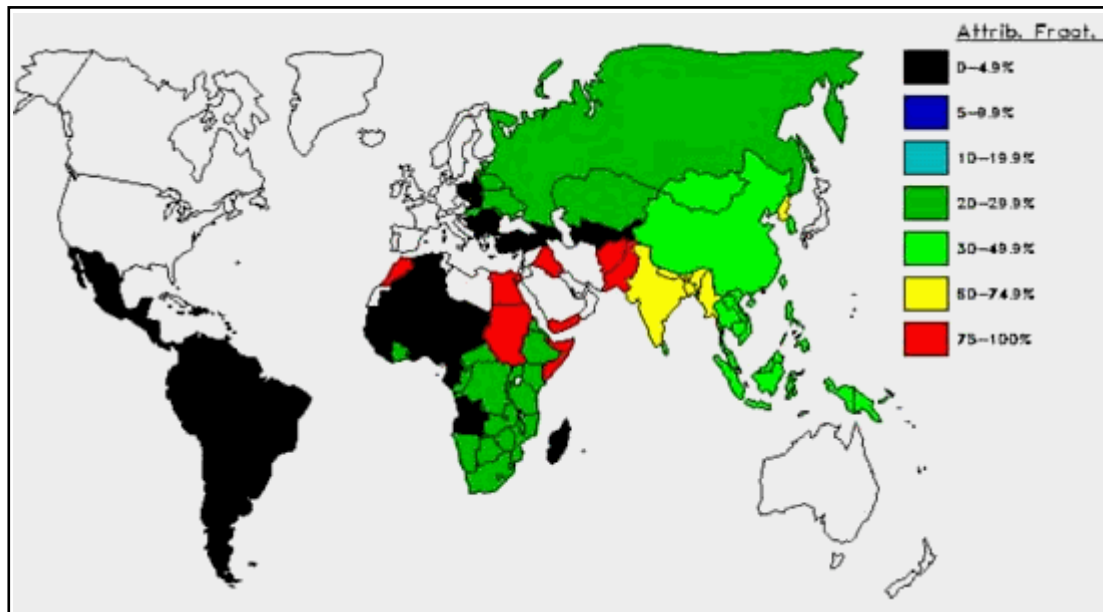


Figura 04: Prevalência do HCV em % no Mundo, 2005  
(Fonte: WGO - World Gastroenterology Organization.  
Disponível em: < <http://www.omge.org/>>. Acessado em: 16/09/07)

Região da OMS	População Total (Milhões)	Hepatitis C Taxa de Prevalência %	População Infectada (Milhões)	Número de países por região da OMS onde os dados não estão disponíveis
Africa	602	5.3	31.9	12
América	785	1.7	13.1	7
Mediterrâneo	466	4.6	21.3	7
Oriental				
Europa	858	1.03	8.9	19
Sudeste Asiático	1500	2.15	32.3	3
Pacífico	1600	3.9	62.2	11
Ocidental				
Total	5811	3.1	169.7	57

Tabela 1: Prevalência estimada de Hepatite C e número de infectados por região da OMS.  
(Fonte: SY E JAMAL, 2006)

Na Europa a prevalência geral do HCV é de 1%, porém sofre variações entre os países (TOUZET et al., 2000). Na Inglaterra, de acordo com o Departamento de Saúde do governo em 2002, no mínimo 200.000 indivíduos adultos são portadores do vírus (SY E JAMAL, 2006).

Ainda segundo a OMS a prevalência na América é de 1,7% e no Brasil, varia principalmente com as características demográficas e sócio-econômicas da população estudada apresentando casuística de 1%-2%, sendo a região Sul a que apresenta maior endemicidade (FERREIRA E SILVEIRA, 2004) 2,45%, seguida da região Norte com 2,3%, região Sudeste 1,2% e finalmente as regiões Nordeste e Centro-Oeste com percentual idêntico de 0,6% (CLEMENS et al., 2000) (Figura 05).

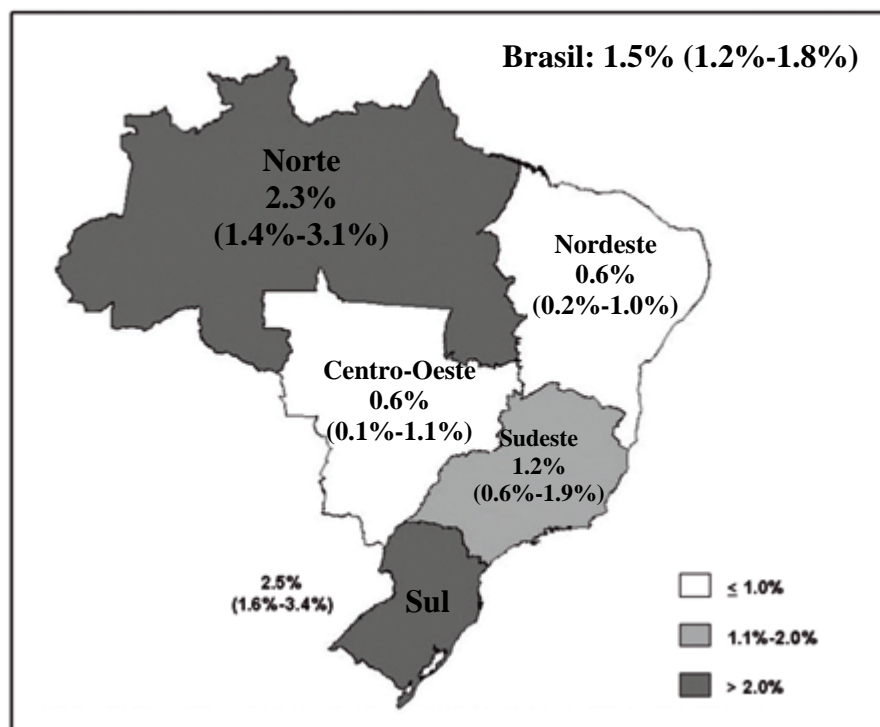


Figura 05: Soroprevalência do anti-HCV de acordo com as macroregiões brasileiras, Brasil 2002.

(Fonte: TOLEDO JR. et al., 2005)

Para candidatos a doação de sangue, o HCV foi encontrado em 2,1% na região Norte, 1,4% no Sudeste, 1,2% no Nordeste, 1% no Centro-Oeste, e 0,6% no Sul (FONSECA, 1999), porém este tipo de amostra pode subestimar a real prevalência do vírus porque além dos doadores serem geralmente uma população altamente selecionada (ALTER et al., 1999), o próprio banco de sangue padroniza um ponto de corte geralmente inferior ao utilizado na população não doadora de sangue.

Alguns estudos têm indicado que o genótipo 1 está associado com doença hepática mais grave (TELFER et al., 1995; ROFFI et al., 2001), mas este não foi um achado consistente. Além das diferenças clínicas, os diferentes genótipos têm diferentes distribuições geográficas. Genótipos 1, 2 e 3 predominam no Norte da Europa e América do Norte, enquanto o tipo 4 é encontrado no Oriente Médio e Norte da África, tipo 5 na África do Sul e tipo 6 em partes do Extremo Oriente (GIANGRANDE, 1998). No Brasil, o genótipo 1 é predominante, sendo identificados em 70% da população infectada, seguido pelos genótipos 3 (25%) e 2 (em cerca de 5%). Na região Sul, o perfil é diferenciado, a prevalência do genótipo 3 sendo comparável à do genótipo 1 (CAVALHEIRO et al., 2002; CAMPIOTTO et al., 2005).

### **3.2.1. Transmissão e fatores de risco**

Em um percentual significativo de casos não é possível identificar a via de infecção, porém estudos mostram que o HCV é transmitido principalmente através da via parental, por exposição ao sangue contendo o vírus (ALTER, 1997).

As transfusões sanguíneas antes de 1992 tem sido uma das principais causas da transmissão do HCV, devido estes pacientes, assim como os hemofílicos, serem submetidos a grande quantidade de procedimentos hemoterápicos, porém, atualmente, devido utilização de

testes de triagem de última geração, a transmissibilidade por transfusões foi reduzida na maioria dos países desenvolvidos (SY E JAMAL, 2006). Donahue et al. (1992) demonstraram que nos EUA a incidência de hepatite C pós-transfusional é de 0,57% por paciente (0,03% por unidade de sangue). Entretanto, esta incidência é maior em outras áreas do mundo, como por exemplo, o estudo de Soza et al. (2004) observaram que pacientes chilenos com hepatite C crônica, o fator de risco mais comum era a transfusão sanguínea em 54% *versus* apenas 5% em usuários de drogas intra-venosas (IVDU). E no Brasil um estudo no banco de sangue em Santa Catarina, mostrou queda significativa no risco de contrair hepatite C, porém o menor risco ainda era quase 10 vezes maior do que o de países desenvolvidos (KUPEK, 2004).

Estudos observam que a coexistência de infecções por HCV e outra sexualmente transmissível (por exemplo, o Vírus da Imunodeficiência Humana-HIV), resulta em maior probabilidade de cronicidade e maior replicação viral, acelerando a progressão para cirrose e ocorrência do HCC (LEONG E LEONG, 2005; CHEN E MORGAN, 2006).

Pacientes dialisados apresentam maior taxa de infecção pelo HCV, sendo registrado, na década de 90, taxas de prevalência do anti-HCV de 10-50% (MEDIN et al., 1993) e de soroconversão na ausência de outros fatores de risco, de 1,38-1,9% / ano (FABRIZI et al., 1999). Estudos apontam que a transmissão nestes pacientes é geralmente hospitalar, apresentando os possíveis fatores de risco: falhas na desinfecção de dispositivos entre os pacientes, compartilhamento de frascos para infusões de uso único, técnica de esterilização inadequada, limpeza máquinas de diálise impróprias e pequena distância entre cadeiras (ZAMPIERON et al., 2004).

Outro grupo populacional com prevalência significativa de HCV são os transplantados renais (em torno de 33,3%), que também realizam procedimentos de diálise

(ANGELICO et al., 1997). E ainda pacientes receptores de órgãos sólidos ou tecidos transplantados de um doador infectado (CHEN E MORGAN, 2006).

Segundo o Ministério da Saúde em 2008 a transmissão do vírus da Hepatite C tem sido fortemente associada ao uso de drogas intravenosas ilícitas (cocaína, anabolizantes e complexos vitamínicos), inaláveis (cocaína) ou pipadas (crack) que compartilham os equipamentos de uso (agulhas). As notificações de hepatite C, a partir do uso de drogas intravenosas, encontram-se em ascensão nos EUA (SY E JAMAL, 2006), e sua importância não pode ser subestimada uma vez que a prevalência do HCV em pessoas que adquiriram o HIV por meio do uso de drogas intravenosas alcançaram taxas de 90% (SULKOWSKI E THOMAS, 2003). A maioria dos países com população jovem tem que lidar com estes usuários como a principal causa de propagação do vírus HCV, principalmente porque muitos não sabem que estão infectados, portanto a triagem do HCV e o tratamento destes indivíduos são extremamente importantes (SY E JAMAL, 2006).

De acordo com o Ministério da Saúde (2008) existem ainda outras formas de transmissão do vírus por via parenteral, como, exposições ocupacionais, procedimentos médico-cirúrgicos, odontológicos, imunizações, acupuntura ou pessoas com tatuagens, piercings, especialmente a relacionada com o corte ou material perfurocortante que pode transmitir o vírus de um indivíduo a outro, ou pessoas que apresentem outras formas de exposição percutânea (por exemplo, podólogos, manicures, etc., que não obedecem às normas de biossegurança) (NGUYEN et al., 2010).

Entre as formas não-parentais de transmissão do vírus HCV, deve-se enfatizar o sexo (STRAUSS, 2001). De acordo com o Ministério da Saúde (2008) o papel da atividade sexual na transmissão de HCV permanece obscuro e representa menos de 1% em parceiros estáveis. O número de parceiros sexuais e a idade na primeira relação sexual apresentam



significativa correlação com o HCV (ALTER, 1999; PEREZ et al., 2005). Uma hipótese é que muitos dos pacientes com hepatite C podem ter parceiros sexuais IVDU (GOLDBERG et al., 2001). Não há evidências de transmissão do HCV entre casais monogâmicos (VANDELLI et al., 2004) e ainda não há dados sobre a incidência de hepatite C entre homem que faz sexo com homem (ALARY et al., 2005). Entretanto, o Ministério da Saúde (2008) e todos esses dados, corroboram que a transmissão sexual do HCV é ainda rara, mas por alguma razão é maior entre aqueles com prática sexual de risco (sem uso de preservativo) (SY E JAMAL, 2006).

A transmissão “*in-house*” deve ser considerada como um fator de confusão quando ela está relacionada com a transmissão entre os casais, pois se deve considerar que higiene pessoal, tais como compartilhamento de lâminas de barbear descartáveis, escova de dente, alicates de unha são importantes fatores de risco para transmissão do HCV em um domicílio (CAVALHEIRO, 2007b).

A transmissão vertical é rara quando comparada à hepatite B. Entretanto, já se demonstrou que gestantes com elevada carga viral do HCV ou co-infectadas pelo HIV apresentam maior risco de transmissão da doença para os recém-nascidos (MS, 2008).

Segundo o Centers for Disease Control and Prevention of Disease (CDC), os fatores de risco mais comuns para infecção aguda por HCV nos EUA no período de 1991 - 1995 foram de drogas de alto risco (60%) e comportamentos sexuais (20%). Outros modos de transmissão (profissionais, hemodiálise, família e perinatal) representaram aproximadamente 10% das infecções. Um fator de risco potencial pode ser identificado em cerca de 90% das pessoas com infecção pelo HCV. Nos 10% restantes, a fonte de infecção não pode ser identificada, embora a maioria das pessoas dessa categoria estejam associadas com baixo nível socioeconômico (ALTER, 1997).

### 3.3. PATOGENIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE C

O período de incubação do vírus é em média sete semanas, variando de 2 a 22 semanas, e os sinais e sintomas podem variar de subclínicos até fulminantes, podendo apresentar febre, cefaléia, mal-estar, vômitos, náuseas, mialgia, fadiga, anorexia, adinamia, colúria, hipocolia fecal, alteração das aminotransferases e, em poucos casos, icterícia (MS, 2008).

A grande capacidade mutagênica do vírus propicia o constante escape à intensa resposta imunológica desenvolvida pelo hospedeiro. Cerca de 85% dos indivíduos infectados evoluem para a cronicidade, com ciclos repetidos de apoptose no fígado e deposição de colágeno, eventualmente e lentamente, apresentando um amplo espectro clínico, desde formas assintomáticas com enzimas normais até a hepatite crônica intensamente ativa, cirrose, fibrose, insuficiência hepática e hepatocarcinoma (STRAUSS, 2001; JOYCE E TYRRELL, 2010).

Acreditava-se que a apoptose dos hepatócitos era mediada pela resposta imune adaptativa contra células infectadas pelo HCV (NELSON, 2001), no entanto, descobriu-se recentemente que a apoptose é específica para células HCV infectadas (WALTERS et al., 2009). Sugere-se que o HCV não só tem efeito citopático sobre os hepatócitos, mas também que os hepatócitos infectados podem iniciar fibrose pela ativação da sinalização de TGF- $\beta$ , que, na presença de células estreladas, leva a deposição de colágeno (JOYCE E TYRRELL, 2010).

A apoptose é mediada por um conjunto de fatores, indução do retículo endoplasmático, estresse oxidativo e baixa regulação de proteínas anti-apoptóticas NF- $\kappa$ B e Bcl-xl em hepatócitos infectados (JOYCE E TYRRELL, 2010).

A hepatite C se cronifica pela persistência do HCV RNA no sangue por no mínimo 6 meses após a fase aguda e o HCC ocorre cerca de 27 anos após a cirrose ter sido estabilizada (CASTELLS et al., 1995).

Atualmente, apesar de não existir indícios de que o HCV por si só seja oncogênico, observa-se que o HCC pode eventualmente se desenvolver em indivíduos não-cirróticos e infectados por HCV, assim um efeito oncogênico direto não pode ser excluído (LEONG E LEONG, 2005).

Dentre os possíveis mecanismos carcinogênicos estão proteínas dos vírus (proteína NS3, proteína NS5A e proteína do núcleo viral) que se ligam as proteínas do hospedeiro através de três vias, insulina, TGF- $\beta$  e JAK / STAT (JOYCE E TYRRELL, 2010). Por exemplo, na via TGF- $\beta$ , BCL6 se liga a NS5A, sendo BCL6 um repressor transcricional (WANG et al., 2008).

Destarte estudos recentes têm indicado que a patogênese da infecção pelo HCV possui vários mecanismos interligados e que o vírus tem influência direta e significativa sobre a patologia no fígado. Assim o resultado da infecção por HCV é provavelmente um reflexo das múltiplas vias afetadas, agravada pela variabilidade genética do vírus e do hospedeiro. As interligações entre as vias afetadas pelo HCV fornecem metas para potencial intervenção terapêutica, por exemplo, o rompimento de interações com HCV altamente ligados a proteínas “hub” pode ser suficiente para abrandar a evolução da doença mais grave ou permitir mecanismos de erradicação da infecção (JOYCE E TYRRELL, 2010).

### 3.4. DIAGNÓSTICO DA HEPATITE C

#### 3.4.1. Diagnóstico sorológico da hepatite C

O diagnóstico da infecção aguda pelo HCV é problemático, porque a pesquisa de anticorpos não diferencia infecção aguda de crônica e a soroconversão muitas vezes não é registrada (ALBERTI et al., 2002; STRADER et al., 2004). A infecção crônica por HCV resulta na indução de forte resposta imune humoral (LIANG et al., 2000) e os anticorpos anti-HCV podem ser detectados facilmente em ensaios sorológicos utilizando-se peptídeos sintéticos ou proteínas recombinantes (SCHIFF et al., 1999).

Na prática, existem duas categorias de ensaios para o diagnóstico dos tipos virais de HCV: sorotipagem e genotipagem (PAWLOTSKY et al., 1997; STÉPHANE E PAWLOTSKY, 2007). O ensaio imunoenzimático, conhecido também como o método indireto (sorotipagem), comercializado apenas para pesquisa, diferencia os seis genótipos de HCV, e não os subtipos. Ele apresenta anticorpos genótipo-específicos para diferentes genótipos HCV na região NS4 do genoma. Este teste omite a determinação da quantidade de partículas virais circulantes e apresenta menor sensibilidade e especificidade no diagnóstico de genótipos HCV, quando comparado com genotipagem (CAVALHEIRO, 2007a).

Segundo o Ministério da Saúde (2008) o teste imunoenzimático denominado Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) rotineiramente utilizado desde o início dos anos 90, é um teste para detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C (anti-HCV), que adquiriu maior sensibilidade e especificidade ao passar de testes de primeira para segunda e terceira gerações (ELISA II ou III), reduzindo a janela imunológica de 33-129 dias da 2ª geração, para 40 a 70 dias na 3ª geração (STRAUSS, 2001).

Embora extremamente útil para o diagnóstico das hepatites crônicas, especialmente nos pacientes com alterações de transaminases e epidemiologia sugestiva de HCV, o ELISA costuma apresentar resultado negativo nos primeiros meses após a contaminação, dificultando o diagnóstico etiológico nas fases iniciais da hepatite aguda pelo HCV ou mesmo falseando um resultado negativo em doadores de sangue contaminados por apresentarem-se na janela imunológica não sendo possível detectar a presença de anticorpos no sangue dos infectados, pois estes estão em baixas titulações. Por outro lado, persiste a possibilidade de resultado falsamente positivo em doadores de sangue ou qualquer grupo de indivíduos com baixo valor preditivo de contaminação pelo HCV (STRAUSS, 2001; MS, 2008).

Assim sendo, nos casos ou grupos com valor preditivo alto para a infecção pelo HCV, a reatividade do teste pelo ELISA possui valor diagnóstico definitivo. Os testes positivos na triagem devem ser confirmados por outros, como o ensaio de Imunoblot (RIBA e INNOLIA) (STRAUSS, 2001).

Os exames sorológicos para anticorpos anti-HCV são úteis para fins de triagem, no entanto, os pilares dos testes laboratoriais para hepatite C são as abordagens moleculares (JEROME E GRETCH, 2004).

#### **3.4.2. Detecção dos ácidos nucléicos do HCV por biologia molecular e determinação do genótipo do vírus (genotipagem)**

A importância da verificação do RNA viral nos pacientes com hepatite C crônica consiste, nos testes qualitativos, na confirmação de testes de triagem positivos, que comprovam a presença de viremia por detecção do RNA; na definição do genótipo do HCV, que é necessário para selecionar o tratamento adequado e estimar o tempo do tratamento; nas

exposições recentes; nas fases iniciais da hepatite aguda; nos imunossuprimidos e em pacientes de risco com reatividade para o anti-HCV e ALT normal enquanto que os testes moleculares quantitativos são úteis para, medição da carga viral no início da terapia e após 12 semanas de tratamento, que é necessário para decidir sobre a necessidade de manutenção do tratamento; fornecer informações prognósticas sobre a probabilidade de resposta terapêutica e permitir o acompanhamento da eficácia do tratamento; e, finalmente, demonstração da presença ou ausência do RNA viral (teste qualitativo) no final do tratamento ou no final da *follow-up* (CARITHERS et al., 2000; JEROME E GRETCH, 2004).

A genotipagem (método direto) analisa as seqüências de várias regiões do genoma na diferenciação dos genótipos e subtipos do HCV. Portanto, depende da quantidade de partículas virais presentes na amostras para análise. Estas técnicas são: seqüenciamento, hibridização com sondas genótipo-específicos e reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) (LAPERCHE et al., 2005; STÉPHANE E PAWLITSKY, 2007).

O genoma do HCV geralmente aparece nos fluidos corpóreos de pacientes infectados em níveis muito baixos para ser detectado por técnicas simples e direta baseado em hibridização molecular. Sua detecção e quantificação requer métodos de forte amplificação que podem ser introduzidos como “target amplification,” como aplicado no PCR e “amplificação mediada por transcrição” (TMA), ou como “amplificação do sinal” como aplicado no método “branched DNA” (bDNA), que amplifica o sinal da presença do genoma sendo menos sensível que a PCR. O ensaio mais comumente utilizado para quantificação de RNA viral é baseado na PCR ou técnica bDNA (MORISHIMA E GRETCH, 1999; CARITHERS et al., 2000; STRAUSS, 2001).

O Ministério da Saúde (2008) refere a janela imunológica para testes de biologia molecular compreendendo 22 dias.

A genotipagem é útil também para investigação de surtos de infecções e compreensão da epidemiologia e virologia do HCV, além de prever a resposta à terapia, e permitir decisões racionais em relação à duração do tratamento (JEROME E GRETCH, 2004). Vários métodos de segmentação de diferentes regiões do genoma do HCV foram utilizados para a avaliação de genótipos. O método mais preciso é o sequenciamento de uma região apropriada de codificação que é bastante divergente para permitir a discriminação de tipos e subtipos (NOLTE, 2001; PAWLOTSKY, 2002). As três regiões mais estudadas são o núcleo, E1 e NS5B (BUKH et al., 1995).

A 5'UTR é a região de escolha para a detecção qualitativa e quantitativa do RNA viral, devido elevado nível de conservação e sensibilidade. Por esta razão, ela foi utilizada, na maioria das vezes, por laboratórios de análises clínicas para genotipagem de rotina do HCV (MURPHY et al., 2007).

No entanto, devido a este elevado nível de conservação, a 5'UTR apresenta limitações na capacidade de diferenciar os genótipos, por exemplo genótipo 6 do 1 e, subtipos dos genótipos 1, 2, 3, 4, 5, 6, entre eles, subtipos 6a e 6b dos do subtipo do 1 e subtipo 2c de 2a (STUYVER et al., 1996; CHINCHAI et al., 2003; MELLOR et al., 2007). Destarte um grande número de subtipos que, muitas vezes compartilham a mesma seqüência 5'UTR têm sido descritos (SIMMONDS et al., 1994; BUKH et al., 1995; CORBET et al., 2003; TAMALET et al., 2003; CANTALOUBE et al., 2006).

### 3.5. SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO ABO

O sistema de grupo sanguíneo (SGS) ABO foi o primeiro a ser descoberto e o responsável por esta grande contribuição foi o cientista austríaco Karl Landesteiner em 1900 quando observou que o soro de seres humanos saudáveis apresentavam um efeito aglutinante tanto sobre hemácias de animais e como de outros seres humanos. No ano seguinte, em 1901, Landsteiner reconheceu dois antígenos eritrocitários, A e B, através da separação e mistura de células e soros de vários indivíduos. Aos muitos indivíduos não possuíam os antígenos A e B foram definidos como grupo C, mas posteriormente receberam a denominação de grupo O (SMART E ARMSTRONG, 2008). Em 1902 DesCasterllo e Sturli descobriram o quarto tipo sanguíneo, AB (HOSOI, 2008).

Este sistema consiste em um conjunto de antígenos, que são determinados geneticamente por moléculas de carboidratos localizados na superfície da membrana das hemácias (BONIFÁCIO E NOVARETTI, 2009), fazendo parte desta membrana (Figura 06), assim como das células epiteliais e endoteliais e em muitos outros tecidos, além de se apresentarem solúveis no plasma (FONSECA, 2006). Embora os antígenos do sistema de grupo sanguíneo ABO sejam os mais importantes na prática transfusional e de transplantes de órgãos, não têm a fisiologia elucidada (BONIFÁCIO E NOVARETTI, 2009).



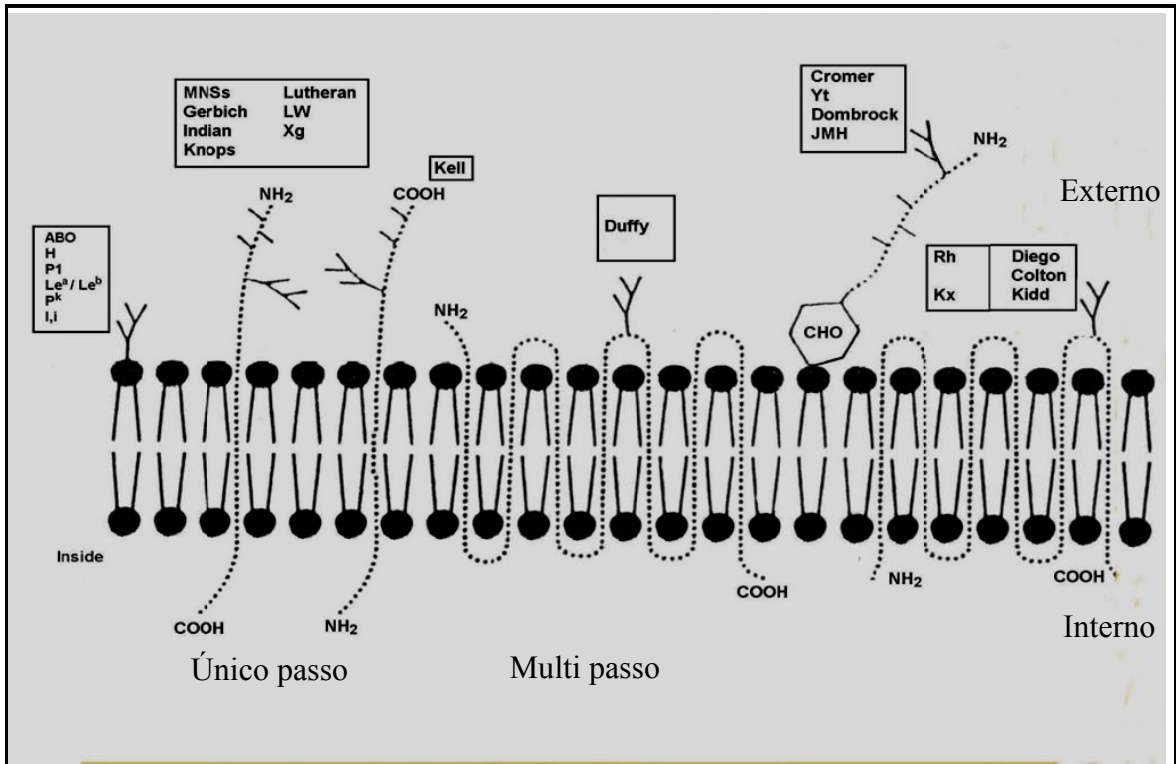


Figura 06: Modelo de proteínas transportadoras de antígenos  
 Fonte: REID E LOMAS-FRANCIS, 1997

O grupo sanguíneo ABO é determinado pela presença de antígenos A e B na superfície das hemácias, e de anticorpos anti-A ou anti-B no soro. Assim, indivíduos com tipo sanguíneo A possuem hemácias com antígenos A e soro contendo anticorpo anti-B. Da mesma forma, sangue tipo B possui antígeno B e anticorpos anti-A. O tipo de sangue AB contém ambos os antígenos A e B, mas sem anticorpos. O tipo de sangue O não possui os antígenos A e B, porém contém o antígeno H, precursor de todos e os anticorpos anti-A e anti-B (FONSECA, 2006; HOSOI, 2008).

Os antígenos de carboidratos A, B, H estão presentes em outras superfícies celulares, além dos eritrócitos, e também são encontrados em outros animais (cachorro, gato, coelho, vaca, ovelha, hamster, macaco, chimpanzé, orangotango), bactérias (YAMAMOTO, 2004; BONIFÁCIO E NOVARETTI, 2009).

Os subtipos de ABO são chamados de subgrupos e/ou variantes, sendo distinguidos pela diminuição da quantidade dos respectivos antígenos nas hemácias; o grupo A se subdivide em A<sub>1</sub> (90% das pessoas) e A<sub>2</sub> (10%), embora exista outros fenótipos fracos de A (como A<sub>3</sub>, A<sub>x</sub>, A<sub>end</sub>, A<sub>m</sub>, A<sub>el</sub> A<sub>y</sub>, etc); o grupo B também possui subgrupos, B, B<sub>3</sub>, B<sub>x</sub>, B<sub>m</sub>, B<sub>el</sub>; o tipo sanguíneo AB possui nove subtipos A<sub>x</sub>B, A<sub>1</sub>B<sub>x</sub>, A<sub>m</sub>B, A<sub>1</sub>B<sub>m</sub>, A<sub>el</sub>B, A<sub>1</sub>B<sub>el</sub>, cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>, cisA<sub>2</sub>B, cisA<sub>1</sub>B<sub>3</sub>. (HOSOI, 2008).

Os anticorpos anti-A e anti-B são normalmente Tipo IgM, e não estão presentes em recém-nascidos, mas aparecem no primeiro ano de vida. É possível que os anticorpos sejam produzidos contra alguns antígenos de alimentos e do ambiente (antígenos de bactérias, vírus ou de plantas), que são semelhantes em estrutura aos antígenos A e B (ASPINALL E MONTEIRO, 1996).

### 3.5.1. Biossíntese do sistema de grupo sanguíneo ABO no eritroblasto

Os genes dos sistemas ABO e Hh são correlatos, mas independentes. Nos eritroblastos a expressão dos genes ABO depende da ação deste outro gene, o gene *H* (*FUT1*), que não codifica diretamente a produção dos antígenos ABO. A síntese de antígenos do SGS ABO é controlada por enzimas denominadas glicosiltransferases específicas que acrescentam carboidratos a uma substância precursora básica conhecida como o antígeno H, que é uma cadeia de carboidratos presente na membrana das hemácias (Figura 07) (GIRELLO E KUHN, 2002; SMART E ARMSTRONG, 2008; LALUEZA-FOX et al., 2008).

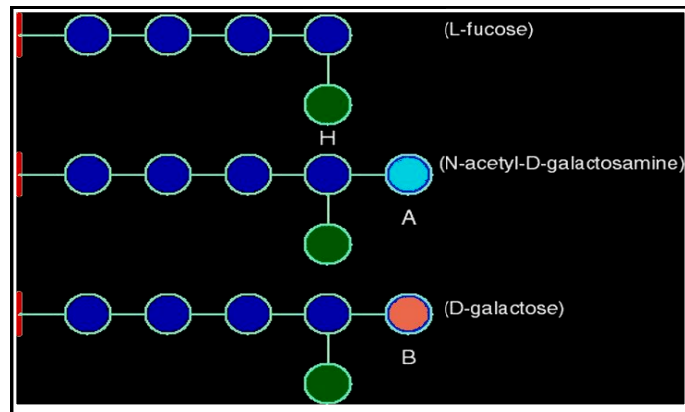


Figura 07: Estrutura bioquímica dos antígenos ABO.  
Fonte: GIRELLO E KUHN, 2002.

O gene *H* através de sua enzima 2-L-fucosiltransferase adiciona uma L-fucose no carbono 2 da  $\beta$ -Galactose da substância precursora, formando o antígeno H (Figura 08) e permitindo a atuação das transferases A e B. Em seguida, as enzimas A (N-acetilgalactosamil transferase produzida pelo gene A) ou B (D-Galactosiltransferase produzida pelo gene B) (de acordo com a determinação genética) transportam o açúcar A (N-Acetilgalactosamina) ou B (D-Galactose) ao carbono 3 da mesma  $\beta$ -Galactose do antígeno H, resultando na expressão dos antígenos A ou B, respectivamente, nas hemácias. Indivíduos com tipo sanguíneo AB possuem hemácias com os antígenos A e B (Figura 09) (HARMENING, 1992; SMART E ARMSTRONG, 2008).

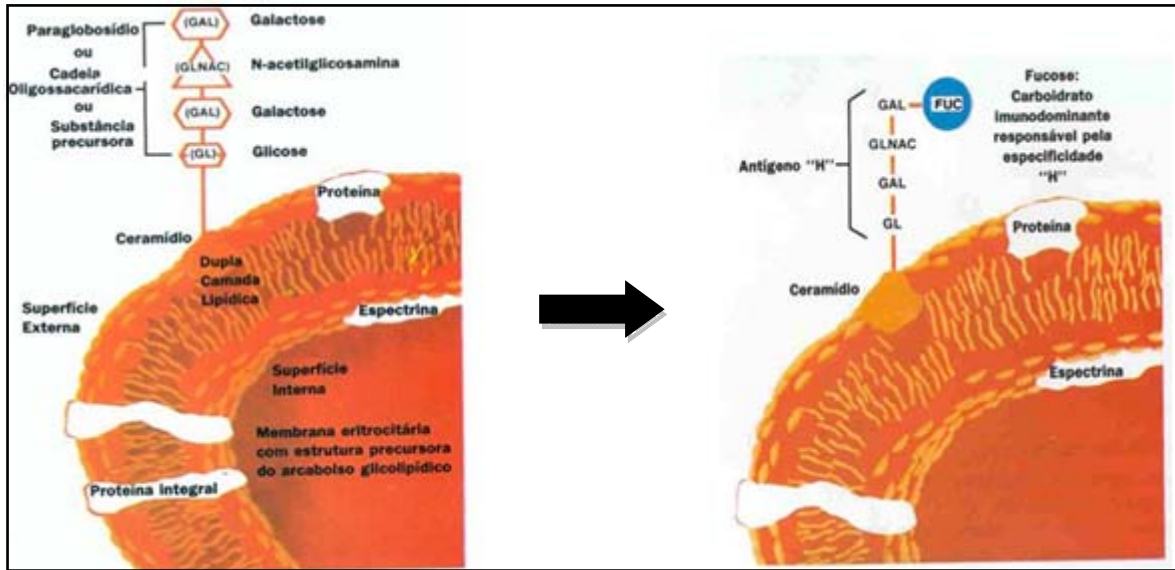


Figura 08: Substância precursora da hemácia e Formação do antígeno H.  
 Fonte: HARMENING, 1992.

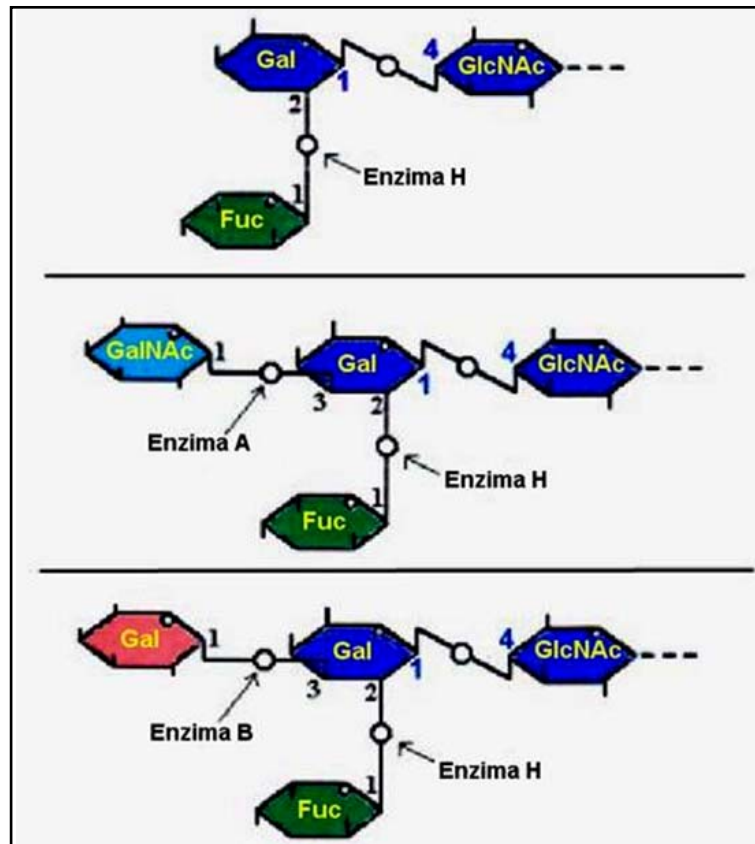


Figura 09: Biossíntese dos antígenos ABO e H no eritroblasto.  
 Fonte: HARMENING, 1992.

O gene *O* codifica uma glicosiltransferase anômala que é incapaz de modificar o antígeno H. Desta forma o antígeno A é expresso quando as duas enzimas estão presentes, as transferases A e H, o antígeno B é expresso quando as enzimas transferases B e H estão presentes, enquanto que no grupo O apenas a transferase H está presente. A expressão dos antígenos A, B ou AB resulta em uma relação de mascaramento dos antígenos H (SMART E ARMSTRONG, 2008).

Independentemente disso, a síntese do antígeno H das hemácias é controlada pela 2- $\alpha$ -L-fucosiltransferase codificada pelo gene H (FUT-1) do locus H localizado no cromossomo 19 (19q13.3), sendo apenas este tipo de cadeia precursora produzida nos eritroblastos, denominada de cadeia oligossacarídeo tipo 2 (definida pela presença de ligações 1-4 entre a galactose (Gal  $\beta$ ) e N-acetil-glucosamina (GlcNAc) [Gal $\beta$  (1-4) GlcNAc]. (D'ADAMO E WHITNEY, 1997; GIRELLO E KUHN, 2002).

### 3.5.2. Biossíntese do sistema de grupo sanguíneo ABO no tecido

A rota biossintética dos antígenos ABH nos tecidos é controlada por outro par de genes alelos denominado secretores (*Se/se*). O gene secretor *SE* (FUT-2) codifica uma glicosiltransferase semelhante a 2- $\alpha$ -L-fucosiltransferase que adicionará uma fucose à substância precursora, sintetizando o antígeno H solúvel sobre cadeia precursora do tipo 1 [Gal $\beta$  (1-3) GlcNAc] (ORIO, 1995; GIRELLO E KUHN, 2002). Este tipo de cadeia apresenta ligação livre no carbono 4 da N-acetilglucosamina (GlcNAc), onde será ligado uma fucose através da enzima 4- $\alpha$ -fucosiltransferase que foi produzida pelo gene *Lewis* (*FUC3*), codificando o antígeno Le<sup>a</sup> (GIRELLO E KUHN, 2002).

O gene secretor *Se* produz a enzima 2- $\alpha$ -L-fucosiltransferase, que liga outra L - fucose ao carbono 2 da  $\beta$ -Galactose (antígeno H), produzindo um antígeno Le<sup>b</sup> (H tipo 1). Os

antígenos ABO ligam-se ao carbono 3 da  $\beta$ -Galactose pela ação de duas enzimas específicas, da mesma maneira que nas hemácias (figura 10) (CORVELO et al., 2002).

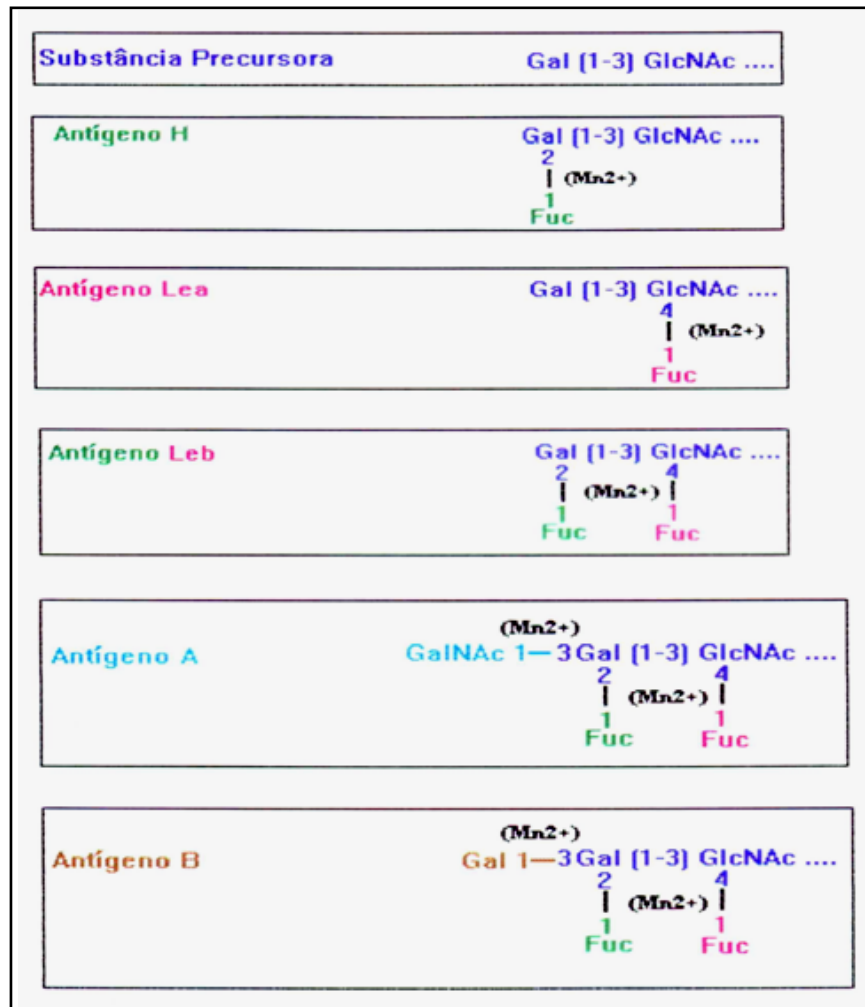


Figura 10: Esquema da biossíntese dos antígenos ABO, H e Lewis em células da mucosa salivar.

Fonte: GIRELLO E KUHN, 2002.

### 3.5.3. Genética do sistema de grupo sanguíneo ABO

Os genes ABO estão localizados no braço longo do cromossomo autossômico 9 (9q34.1-q34.2) (YAMAMOTO et al., 1995; BONIFÁCIO E NOVARETTI, 2009) e o sistema é controlado por um único locus do gene ABO que está organizado em sete exons distribuídos em mais de 18 kb de DNA genômico. Os éxons variam em tamanho de 28 a 691 nucleotídeos. O éxon 7 contém as maiores seqüências de codificação e o éxon 6 possui a deleção encontrada na maioria dos alelos O (figura 11) (YAMAMOTO et al., 1995, YAMAMOTO, 2004).

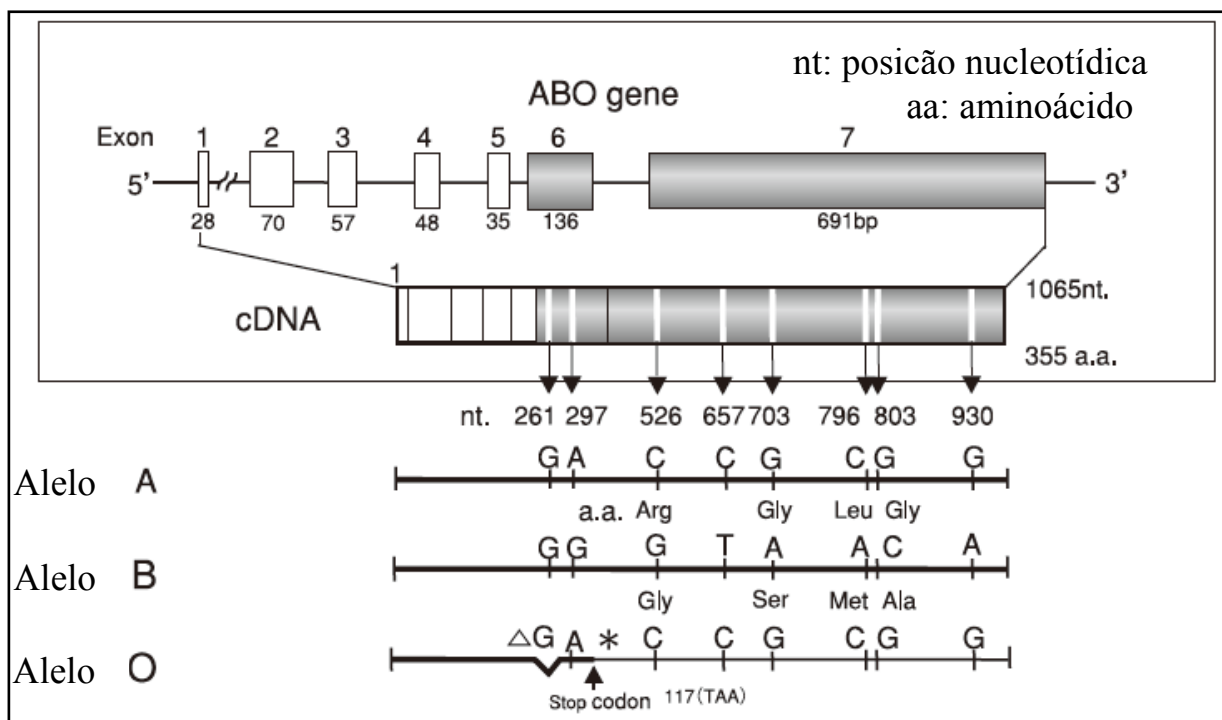


Figura 11: Estrutura do locus do gene ABO e seqüências nucleotídicas dos alelos A, B e O  
Fonte: HOSOI, 2008

A herança do sistema ABO é controlado por vários alelos:  $A^1$ ,  $A^2$ , B, O e uma série de alelos raros  $A^3$ ,  $A^x$ , e  $A^m$  e outros. O alelo O (que não produz um produto antigênico) é recessivo para os alelos A e B, que são codominantes entre si (SMART E ARMSTRONG, 2008).

Outras análises do gene ABO têm mostrado que, no nível da sequência de nucleotídeos, existem numerosos haplótipos entre os seres humanos (BLUMENFELD E PATNAIK, 2004). Os principais alelos A e B (A101 e B101, respectivamente) diferem por quatro substituições de nucleotídeos nas posições 526C>G, 703G>A, 796C>A e 803G>C gerando uma proteína resultante aminoácidos convertidos Arg176Gly, Gly235Ser, Leu266Met e Gly268Ala (posições de nucleotídeos são numeradas a partir do primeiro nucleotídeo do éxon 1). Ocorre ainda três trocas silenciosas 297A>G, 657C>T, E 930G>A (sem troca de aminoácidos na proteína) (figura 15). Estas substituições determinam as especificidades das glicosiltransferases. O alelo A codifica transferase A que catalisa a adição de GalNAc, o alelo B codifica transferase B catalisando a adição de Gal, respectivamente, na ligação terminal de Gal  $\alpha$ 1? 3 do antígeno H. (YAMAMOTO, 2004).

Entre humanos, o mais frequente entre todos os alelos ABO é o alelo O, recessivo e silencioso. Os haplótipos O, O01 e O02, apresentam uma sequência de nucleotídeos quase idêntica ao do gene A, porém compartilham uma única mutação nonsense específica do tipo deleção do nucleotídeo guanina na posição 261 do éxon 6 ( $\Delta$ 261) que cria um prematuro “*stop*” códon e resulta em uma proteína truncada sem atividade enzimática, ou seja, não funcional (figura 12) (YAMAMOTO, 2004), e, portanto, o antígeno H permanece sem modificações adicionais na superfície de suas células, sendo considerado um gene silencioso ou amorfo. Os haplótipos O01 diferem dos haplótipos O02, em pelo menos, seis substituições de nucleotídeos, incluindo a posição 297 no éxon 6, que antes era adenina e depois é guanina (LALUEZA-FOX et al., 2008).



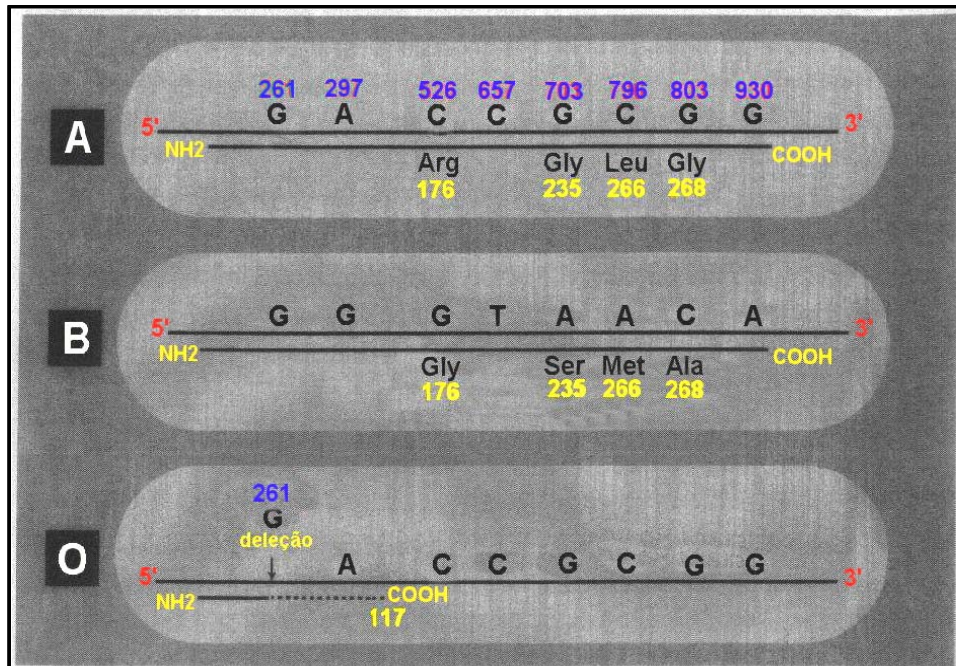


Figura 12: Representação esquemática dos genes *ABO* (linha superior) e as proteínas (transferases) codificadas por eles (linha inferior).

Fonte: GIRELLO E KUHN, 2002.

#### 3.5.4. Tipificação sorológica e determinação molecular do sistema de grupo sanguíneo

##### ABO

O fenótipo ABO é mostrado por exames laboratoriais de hemaglutinação em uma amostra de sangue, mas isso não é necessariamente o genótipo do indivíduo (SMART E ARMSTRONG, 2008).

Segundo o Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos do Ministério da Saúde – Portaria nº 1353 de 14/06/2011, o grupo ABO deve ser determinado testando-se os glóbulos vermelhos com reagentes anti-A, anti-B e anti-A,B para pesquisa da presença ou ausência de antígenos A e/ou B, sendo chamado de classificação direta. Caso sejam usados anti-soros monoclonais, a utilização do soro anti-A,B não é obrigatória. A classificação reversa deve ser sempre realizada, testando-se o soro ou plasma com suspensão de glóbulos

vermelhos conhecidos A1 e B e, opcionalmente, A2 e O, para detecção da presença ou ausência de anticorpos anti-A e/ou anti-B (figura 13) (SMART E ARMSTRONG, 2008).

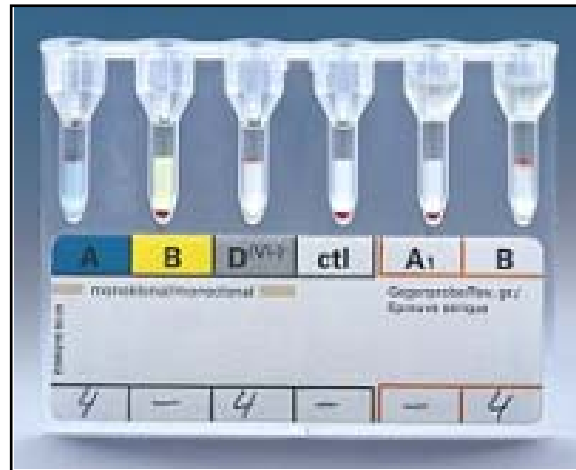


Figura 13: Reação de hemaglutinação em gel centrifugação.  
Fonte: GIRELLO E KUHN, 2002.

Os subgrupos são classificados devido exibirem diferentes padrões e graus de aglutinação (YAMAMOTO, 2004).

Embora cada indivíduo tenha dois genes ABO, testes sorológicos não revelam o alelo O em fenótipos A e B, nem reconhece um alelo que produza uma forma fraca de A se estiver presente um alelo que produza antígeno A de alta frequência simultaneamente. O genótipo pode, contudo, ser determinado por análise de DNA do gene ou pode ser determinado por estudos familiares (SMART E ARMSTRONG, 2008).

### 3.6. SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO Rh

#### 3.6.1. **Histórico**

O sistema de grupo sanguíneo Rh foi descoberto por Landsteiner e Wiener, em 1940, juntamente com o trabalho de Levine e Stetson, em 1939 (DANIELS E BROMILOW, 2007).

Os primeiros relatos sobre a importância deste sistema começaram por volta de 1600 como uma possível causa de icterícia severa e morte fetal referida como "eritroblastose fetal", em que uma mulher francesa deu à luz a gêmeos: um estava hidrópico e o outro icterico, falecendo mais tarde por *kernicterus* (RACE E SANGER, 1975).

Levine et al. em 1939 observou a primeira correlação de um anticorpo anti-eritrocitário envolvido contra o antígeno Rh, por meio da investigação de uma reação hemolítica transfusional em uma puérpera, devido à transfusão de hemácias ABO compatível de seu marido, após dar à luz a um natimorto (LEVINE E STETSON, 1939). O soro desta mulher aglutinava as hemácias de seu marido e cerca de 80% dos doadores caucasianos ABO compatíveis. Demonstrou-se que este novo anticorpo era independente do sistema ABO sugerindo que a mulher havia sido imunizada provavelmente por um antígeno fetal de origem paterna (NARDOZZA et al., 2010).

No ano seguinte, Landsteiner e Wiener (1940) descreveram um anticorpo obtido por meio da imunização de cobaias e coelhos com hemácias de *macaco rhesus*. Este soro aglutinava cerca de 85% das hemácias humanas testadas e o determinante correspondente foi denominado de fator Rh. O estudo com 60 famílias mostrou que o Rh positivo era herdado como um caráter dominante.

Também em 1940, Wiener e Peters observaram a mesma especificidade no soro de pessoas com ausência do mesmo determinante e que tinham recebido transfusões ABO compatíveis no passado.

No ano seguinte, Levine et al. encontraram anticorpos similares nos soros de várias puérperas e estes apresentavam reações semelhantes ao soro de animal anti-Rhesus.

Posteriormente, Fisk e Foord (1942) demonstraram a diferença entre o anti-Rh humano e animal e concluíram que não se tratava do mesmo anticorpo, porém a nomenclatura Rh foi mantida.

### **3.6.2. Genética do sistema de grupo sanguíneo Rh**

O SGS Rh é considerado o segundo mais importante para a prática transfusional, depois do sistema ABO (DANIELS E BROMILOW, 2007).

Atualmente é considerado um complexo sistema multialélico composto de mais de: 51 antígenos e 200 alelos para o gene RHD (HUANG, 2010). Também observa-se a presença muito rara de genes variantes, como Rh null, em que há ausência de todos os antígenos do sistema nas hemácias; D parcial; DEL, D fraco, Alelos não funcionais e outros (FLEGEL, 2011).

Os antígenos Rh são codificados por genes altamente homólogos RHD e RHCE. A proteína RhD expressa o antígeno D e a proteína RhCE expressa os antígenos CE em várias combinações (ce, Ce, cE ou CE). Muitos genes de RH carregam mutações pontuais, ou possuem rearranjos e intercâmbios entre RHD e RHCE que resultam de eventos de conversão gênica. O gene RHCE codifica proteínas híbridas que têm RHCE com aminoácidos específicos em RhD, ou RhD com resíduos específicos em RHCE. Estas, podem gerar novos

antígenos no sistema de grupo sanguíneo Rh, e alterar ou diminuir a expressão do antígenos convencionais (FLEGEL, 2007a; FLEGEL, 2011).

Os genes RHD e RHCE estão localizados no braço curto do cromossomo 1, locus 34-36 (1p34-35p) e, provavelmente são derivados de uma duplicação de um gene ancestral comum, pois apresentam 93,8% de homologia e se diferenciam em 35/36 aminoácidos (8,4% de divergência) (FLEGEL, 2007b).

Cada um dos genes RhD e RHCE contém 10 éxons, com uma sequência total de aproximadamente 60.000 pb. A maior diferença está no íntron 4, em que o RHD contém uma deleção de 600 pb em relação ao RHCE. Eles estão em orientação opostas pelos terminais 3' e separados por uma sequência de 30.000pb (WAGNER E FLEGEL, 2004).

### **3.6.3. Estrutura da proteína Rh**

Os polipeptídeos RhD e RhCE são não glicosilados, hidrofóbicos, cada um com peso molecular de 30 a 32 KD, compostas de 417 aminoácidos que se distribuem em seis segmentos extracelulares, 12 transmembranosos e sete intracelulares (WAGNER E FLEGEL, 2004). Os epítomos específicos que definem os antígenos do sistema Rh estão localizados nas alças extracelulares das proteínas (figura 14). A proteína RhAG possui uma estrutura similar às proteínas Rh. Análises estruturais recentes têm sugerido que o complexo de proteínas Rh forma uma estrutura trimérica (FLEGEL et al., 2009).

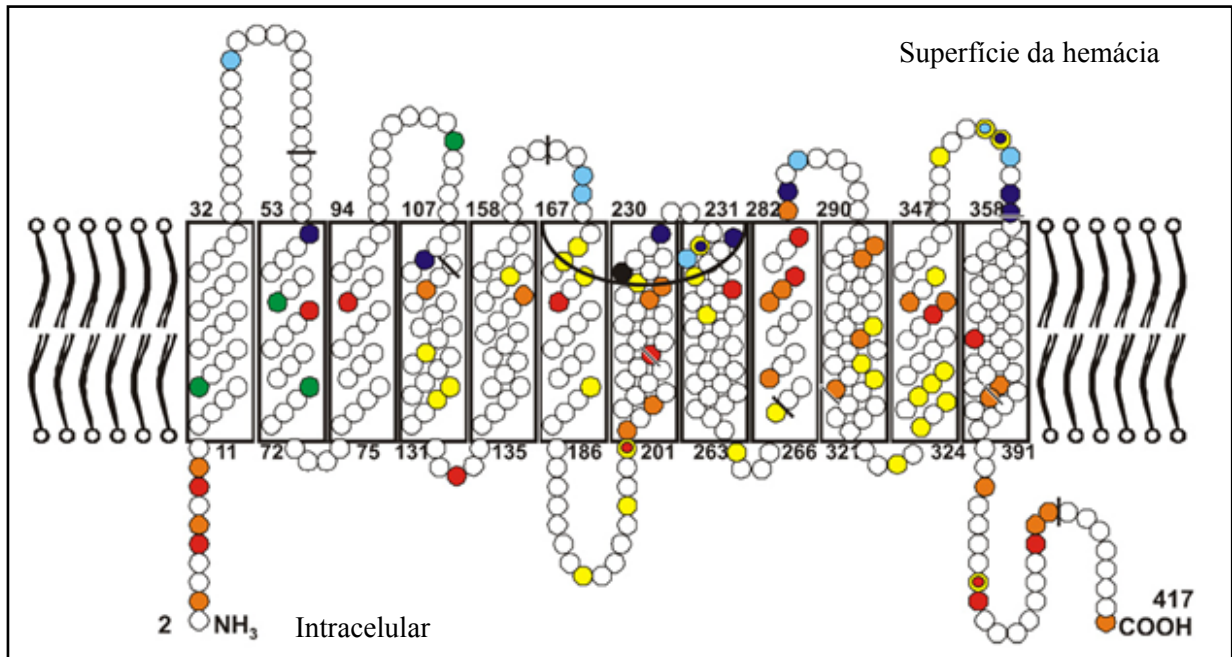


Figura 14: Modelo da proteína Rh na membrana das hemácias.  
Fonte: FLEGEL et al., 2009.

Os indivíduos Rh(D) positivos possuem genes RHD e RHCE, mas os Rh(D) negativos possuem unicamente o gene RHCE. O haplótipo D negativo, mais comum em todas as populações, é causado pela deleção total do gene RHD (figura 15). No entanto, alguns indivíduos Rh(D) negativo podem abrigar um alelo não-funcional RHD denominado pseudogene RHD (RHD $\psi$ ) e outros possuem um gene híbrido (SHAO E XIONG, 2004).

Poucos casos de indivíduos Rh(D) negativos podem resultar de: rearranjos gênicos, pontos de mutação levando a códon de parada prematuro ou inserções de nucleotídeos (NARDOZZA et al., 2010).

Entretanto, o fenótipo RhD negativo é mais comumente causado pela homozigose de um haplótipo no qual o gene RHD foi deletado. Essa deleção ocorre nos *Rhesus boxes* em uma região idêntica de 1463 pb, provavelmente causada por um alinhamento cromossomal

defeituoso durante a meiose, resultando em um *crossing-over* desigual entre os *Rhesus boxes* (WAGNER E FLEGEL, 2000).

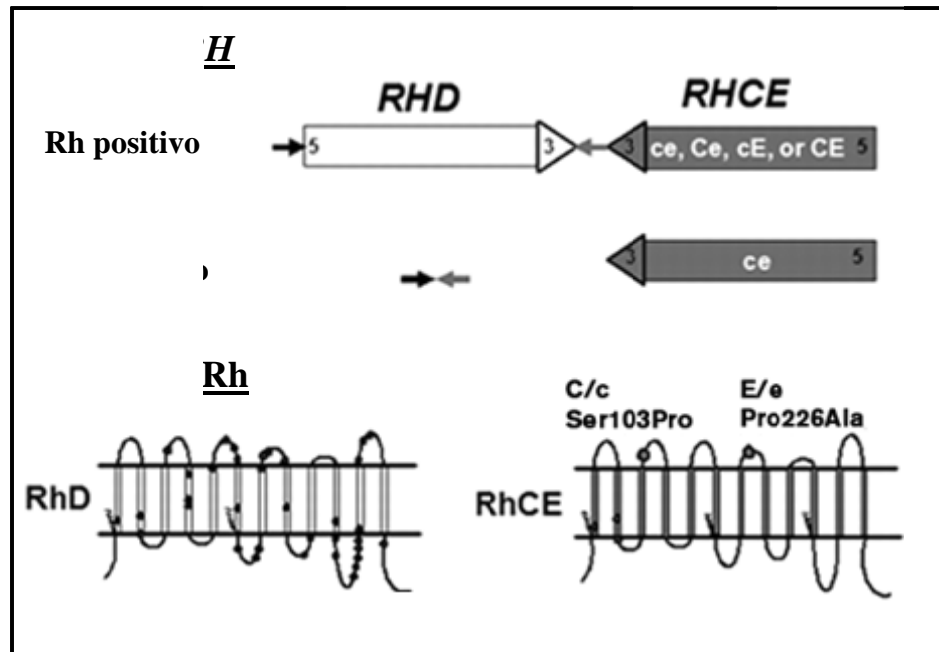


Figura 15: Modelo esquemático dos genes RhD e RhCE.  
Fonte: CHOU E WESTHOFF, 2009.

#### 3.6.4. Estrutura do complexo Rh

A expressão dos antígenos Rh na superfície dos eritrócitos depende da presença da glicoproteína associada ao Rh (RHAG/RH50), produto do gene RHAG localizado no cromossomo 6 (6p12-p21), formamando o chamado "complexo Rh" (KIM et al., 2006). Esse complexo Rh é firmemente ligado ao citoesqueleto da membrana eritrocitária. Outras proteínas adicionais como LW, glicoproteína *Duffy*, banda 3 e proteína associada a integrina (CD47) estão ligadas ao complexo Rh, porém não são necessárias para a sua expressão (figura 16) (NARDOZZA, 2010).

As proteínas RhD, RhCE e RhAG são proteínas de membrana integrais e também estão associadas ao complexo Rh (TILLEY et al., 2010).

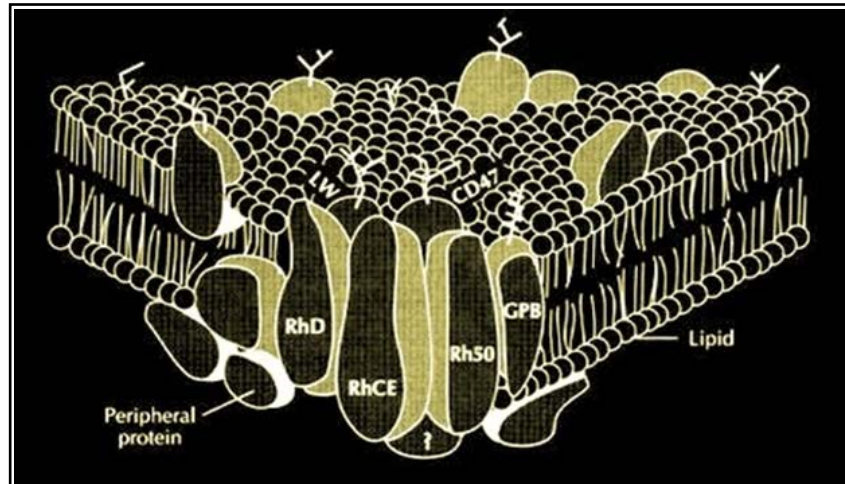


Figura 16: Representação esquemática das proteínas relacionadas ao sistema Rh e o complexo formado por elas na membrana eritrocitária.

Fonte: GIRELLO E KUHN, 2002.

### 3.6.5. Função do sistema de grupo sanguíneo Rh

Até o momento, a função de RHD e RHCE surge associada com a integridade da membrana, e possivelmente com o transporte de gases como o dióxido de carbono. Por outro lado, a glicoproteína associada ao Rh (RHAG) pode transportar amônia (MARINI et al., 2000). Além disso, RHAG pode contribuir para a troca de gases através da membrana de plasma, e suas mutações estão associadas com estomatocitose hereditária (BRUCE, 2009).



### 3.6.6. Anticorpos do sistema de grupo sanguíneo Rh

O sistema Rh apresenta um grande interesse clínico devido seus anticorpos estarem envolvidos em destruição eritrocitária imunomediadas, isto é, reação transfusional hemolítica e doença hemolítica perinatal (DHPN) (SIMSEK et al., 1995).

Os anticorpos aos vários antígenos Rh aparecem usualmente depois da exposição aos antígenos do feto que não são reconhecidos pela mãe durante a gravidez - DHPN, mas às vezes podem aparecer de forma natural, ou ainda, envolvidos em reações transfusionais graves (DANIELS et al., 2002; GARRATTY, 1998).

A DHPN por anticorpos anti-D ocorre em gestações Rh(D) negativo em que os anticorpos anti-D são desenvolvidos: pela ausente ou inadequada profilaxia; ou pela pré-aloimunização materno-fetal transplacentária, com passagem de células fetais na mulher grávida (FLEGEL, 1998).

### 3.7. ASSOCIAÇÃO DOS SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABO E Rh(D) COM OUTRAS DOENÇAS E COM O HCV

O grupo sanguíneo ABO demonstra ter alguma associação com doenças infecciosas (JEFFERYS E KENNETH, 2005) e não-infecciosas (UMIT et al., 2008); e resistência contra certas doenças infecciosas (BEHAL et al., 2010). Infecções parasitárias, bacterianas e virais também têm sido encontrado mais em pessoas com determinados grupos sanguíneos (LENKA et al., 1981). Na maioria das pessoas os antígenos A e B são secretados pelas células e estão presentes na circulação sanguínea. Parece que não-secretores são suscetíveis a uma variedade de infecções (NAEINI et al., 2010). A possível patogênese para esta vulnerabilidade é que, muitos organismos que podem se ligar a polissacarídeos nas células e os antígenos solúveis do sangue podem bloquear essa ligação (JEFFERYS E KENNETH, 2005).

No que diz respeito à associação dos antígenos ABO com outras doenças, recentemente foram publicadas evidências de que variações nas glicosiltransferases ABO aumentam o risco para infestações por *Plasmodium falciparum* (ROWE et al., 2007; FRY et al., 2008). Em particular, tem sido sugerido que o alelo O protege contra a malária grave (FRY et al., 2008). Ao mesmo tempo, ele pode ser mais susceptível a infecções por *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* e para as formas graves do cólera (ANSTEE, 2010).

A distribuição dos antígenos ABO também é associada com eventos trombóticos. Tem sido observado risco aumentado de tromboembolismo venoso e arterial em indivíduos de grupo sanguíneo não-O (NAEINI et al., 2010).

Boren et al. (1993) relata que o antígeno Lewis, Le<sup>b</sup> (que tem estreita associação com o sistema ABO), atua como receptor de *Helicobacter pylori*. A relação negativa do grupo sanguíneo AB com infecção por *H. pylori* foi relatado por Kanbay et al. (2005).

Indivíduos de grupo sanguíneo O parecem exercer um efeito protetor impedindo o crescimento e a propagação de tumores e de estar associado com maior tempo de sobrevivência em pacientes com câncer (JAFF, 2010).

Entretanto indivíduos de grupo sanguíneo A apresentam resposta imune humoral menos agressiva contra o marcador do carcinoma, o antígeno Thomsen-Friedenreich (TF), um dissacarídeo que compõe o núcleo do complexo de glicoproteínas O glicosiladas (SLOVIN et al., 2005), presente nas membranas celulares de várias células normais, incluindo células epiteliais, hemácias e linfócitos, e responsável pela adesão e metástase do câncer através de interações células endoteliais e tumor, e outras interações, tais como galactinas ou outras lectinas em sítios de crescimento do tumor metastático, ou seja, no endotélio vascular, fígado, medula óssea e linfonodos (JAFF, 2010).

Em pacientes leucêmicos foi reportado grande número de polimorfismos ABO ainda não descritos na literatura, tendo sido postulado que os antígenos ABO apresentam algum papel potencial no processo de leucemogênese (NOVARETTI et al., 2008).

No estudo de Koregol et al. (2010) foi observado que indivíduos do grupo sanguíneo A e O apresentaram um percentual significativamente mais elevado de gengivite e periodontite, respectivamente, enquanto que nos indivíduos do grupo sanguíneo AB foi verificado o menor percentual de doenças periodontais. Em relação ao sistema de grupo sanguíneo Rh a distribuição das doenças periodontais foi significativamente mais elevada em indivíduos Rh positivo.

Na pesquisa de Pérez-Ruiz et al. (2011) o grupo sanguíneo A também foi considerado como um fator de risco para desenvolvimento de esclerose múltipla e o fator Rh(D)+ obteve maior frequência entre os casos e os controles.

Alguns estudos relatam associação dos antígenos ABO com a gravidade da fibrose na infecção pelo HCV (POUJOL-ROBERT et al., 2006; ARMELLE et al., 2006).

Também tem sido relatada uma redução significativa dos pacientes do grupo sanguíneo O que evoluem do quadro de hepatite viral aguda para hepatite crônica e parece que esses pacientes são mais resistentes às sequelas das hepatites virais agudas, porém não está claro se o grupo sanguíneo ABO possui papel na progressão da hepatite viral à forma crônica da doença (ERIN et al., 2008). Assim indivíduos do grupo sanguíneo A demonstraram maior frequência de hepatite viral aguda que naqueles com grupo sanguíneo O (ZUCKERMAN E McDONALD, 1963).

Muitos estudos examinaram a associação entre os alelos ABO e uma variedade de doenças, principalmente focalizado sobre os agentes infecciosos que podem usar os antígenos A e B como receptores, ou, no caso do alelo O, a ausência dos antígenos A e B. O alelo O pode proporcionar uma vantagem seletiva uma vez que também produz anti-A e anti-B (ANSTEE, 2010; POUJOL-ROBERT et al., 2006; LALUEZA-FOX et al., 2008; BEHAL et al., 2010; NAEINI et al., 2010).

Em estudo de caso controle realizado no Iran com objetivo de determinar a frequência dos grupos sanguíneos ABO e Rh com hepatite viral crônica B e C para descobrir se estes fatores do hospedeiro podem desempenhar um papel na evolução destas infecções, porém não foi encontrado diferença estatisticamente significativa entre grupos sanguíneos com hepatite viral crônica (NAEINI et al., 2010).

Entretanto para Chang et al. (2001) no estudo de coorte em Taiwan indivíduos com grupo sanguíneo O apresentaram maior prevalência do HCV.

E em outro estudo, realizado na Índia, indivíduos com grupo sanguíneo AB foram considerados menos suscetíveis à infecção pelo HCV, porém deve investigar se os antígenos

desempenham um papel na ligação do HCV com células mononucleares ou outras células do sangue periférico, ou se glicosiltransferases, responsáveis pela formação dos antígenos de grupos sanguíneos, criam um stress que bloqueiam a replicação do HCV (BEHAL et al., 2010).

Embora o mecanismo exato subjacente da associação do grupo sanguíneo com a infecção pelo HCV não seja claro, é plausível supor que os antígenos de grupo sanguíneo possam influenciar na susceptibilidade do HCV através de sua afinidade mediada pelo receptor de ligação (BEHAL et al., 2010).

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. OBJETIVO GERAL**

Investigar associação entre o vírus HCV e o grupo sanguíneo ABO e Rh em doadores de sangue da fundação Hemopa no período de 2000 a 2010.

### **4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar a soroprevalência do HCV nos doadores de sangue;
- Determinar e comparar a frequência dos grupos sanguíneos ABO e Rh entre os doadores sororeagentes e não reagentes para HCV;
- Realizar o levantamento dos dados demográficos (idade, gênero e procedência) dos doadores sororeagentes para o HCV.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. CASUÍSTICA

#### 5.1.1. Desenho do estudo

Esse é um estudo retrospectivo, analítico, de caso-controle, em que foram verificados a frequência dos grupos sanguíneos e de marcadores sorológicos para o HCV (anti-HCV) nos doadores de sangue do Hemopa, no período de 2000 a 2010.

#### 5.1.2. Local do estudo

O estudo foi realizado no HEMOPA, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Pará.

#### 5.1.3. Caracterização da amostra

**Grupo de pacientes:** foi constituída por 838 doadores adultos, entre 18 e 65 anos de idade, de ambos os sexos, com sorologia positiva (ELISA reagente) para infecção por HCV, que doaram sangue no período de 2000 a 2010.

**Grupo controle:** Foi constituído pelos demais doadores de sangue deste período que possuíam sorologia não reagente para Hepatite C.

#### 5.1.4. Critérios de inclusão e exclusão

##### 5.1.4.1. Critérios de inclusão

- Doadores de sangue do Hemopa que haviam realizado doação de sangue no período de 2000-2010;
- Indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 18 e 65 anos;

##### 5.1.4.2. Critérios de exclusão

- Indivíduos que haviam realizado doação de sangue em períodos além do intervalo de tempo da pesquisa 2000-2010;
- Indivíduos portadores de mais de uma sorologia reagente ou co-infecção;
- Indivíduos de quaisquer outra naturalidade, exceto os nascidos em estados pertencentes à região Norte.

## 5.2. MÉTODOS

### 5.2.1. Obtenção do material biológico

Durante a doação de sangue foram colhidos em tubo de ensaio sem anticoagulante e em outro tubo de hemólise com anticoagulante EDTA, 10 mL e 5 mL de sangue periférico, respectivamente, dos doadores participantes da pesquisa. As amostras sanguíneas foram centrifugadas, o soro foi separado e colocado em outro tubo estéril devidamente identificado. Os soros foram armazenados e resfriados de 2 a 8°C por até 3 dias. O tubo de hemólise também foi centrifugado e utilizado as hemácias e o plasma para realização da tipagem sanguínea ABO.



No Hemopa foram realizados os testes de, tipagem sanguínea ABO direta e reversa através da metodologia de gel centrifugação e, a pesquisa sorológica de anticorpos IgG anti-HCV por teste imunoenzimático (ELISA). Os doadores que apresentaram positividade foram retestados através de técnicas moleculares (RT-PCR).

### 5.2.2. Diagnóstico sorológico da hepatite C

Foram empregados testes sorológicos de ELISA (Ensaio Imunoenzimático) de 4ª geração, utilizando-se de kits comerciais (kit Abbott Murex, África do Sul) para detecção de anticorpos específicos anti-HCV no soro dos doadores.

As tiras (poços) necessárias para as reações foram retiradas da geladeira com antecedência de uma hora e deixados à temperatura ambiente, e os reagentes reconstituídos foram homogeneizados rapidamente no vórtex.

Os três primeiros poços da placa ficaram com os controles negativos da reação, na sequência da microplaca de ELISA, foram utilizados três controles positivos e nos dois últimos poços colocou-se os controles internos de sorologia, positivo e negativo, da empresa Control Lab. Posteriormente foram dispensados 20 µL do controle negativo em triplicata (3 poços), 20 µL do controle positivo em triplicata e 20 µL dos controles internos tanto positivo quanto negativo da Control Lab.

Adicionou-se 180 µL do Diluente de Amostra em todos os poços que continham as amostras dos doadores a serem dosadas, depois dispensou-se 20 µL do soro do doador e dos controles negativos e positivos, nas cavidades correspondentes, homogeneizando cuidadosamente a placa de ELISA, a fim de retirar eventuais bolhas, porém tomando cuidado para não contaminar os poços adjacentes.

Cobriu-se as cavidades com a tampa e incubou-se por 1 hora a 37 °C. Após a incubação lavou-se a microplaca, desprezando o líquido nos poços e lavando cada poço da microplaca de 5 vezes com 300 µL da Solução de Lavagem diluída (glicina borato), sempre homogeneizando cuidadosamente, desprezando o conteúdo dos poços e tirando o excesso de líquido (residual) dos poços vertendo a placa de ELISA sobre papel absorvente até completar o número de lavagens necessárias.

Dispensou-se 100 µL do Conjugado Enzimático em todos os poços de controles e amostras; cobriu-se novamente a microplaca com adesivo para evitar evaporação e contaminação das amostras; e incubou-se a microplaca de ELISA por 30 min a 37°C. Após incubação, desprezou-se o líquido nos poços e lavou-se cada poço da microplaca de 5 vezes com 300 µL da Solução de Lavagem diluída (glicina borato), sempre homogeneizando cuidadosamente, desprezando o conteúdo dos poços e tirando o excesso de líquido (residual) dos poços vertendo a placa de ELISA sobre papel absorvente até completar o número de lavagens necessárias.

Pipetou-se 100 µL de Cromógeno/Substrato em todos os poços e homogeneizou-se. Cobriu-se as cavidades e Incubou-se a microplaca, protegendo-a de luz intensa e direta, à 37 °C por 30 min. Pipetou-se 50 µL de Ácido Sulfúrico 1 N em todos os poços, na mesma ordem em que foi pipetado o cromógeno, para “parar” a reação enzimática e mediu-se a absorbância da solução obtida em leitor de ELISA com filtro de 450 nM e outro filtro de referência na faixa de 620 a 690 nM.

O teste foi validado de acordo com os valores do controle de qualidade preconizados pelo fabricante e que tangiam os valores para o controle negativo  $\leq 0.250$  e controle positivo  $\geq 0.800$ . O Cut-off foi calculado a partir da média dos três valores de absorbância dos controles negativos adicionando-se o valor de 0.600. Para as amostras

testadas, os valores reagentes e não reagentes para pesquisa de anticorpos anti-HCV foram interpretados da seguinte maneira: não reagentes com valores de 20% abaixo do valor do cut-off; reagentes com valores 20% acima do valor do cut-off; e indeterminados entre os valores 20% para mais ou menos do cut-off. Cada placa forneceu seus valores de cut-off.

### **5.2.3. Detecção dos ácidos nucléicos do vírus da hepatite C por biologia molecular**

Nas amostras positivas pela sorologia (ELISA) foi realizada extração do RNA viral presente no soro do doador, utilizando kit comercial (QIAmp Viral RNA kit, Quiagen, Alemanha).

Foram pipetados 560  $\mu$ L de tampão AVL (lise) contendo RNA em tubo de centrífuga de 1.5 mL identificado, adicionados 140  $\mu$ L da amostra e homogeneizados em vórtex por 15 segundos; incubando a temperatura ambiente (15-25°C) por 10 minutos. Após incubação, centrifugou-se rapidamente o tubo para remover partículas dispersas.

Adicionou-se 560  $\mu$ L de etanol (96-100%) na amostra e homogeneizou-se no vórtex por 15 segundos, centrifugando rapidamente para remover partículas dispersas. Depois, cuidadosamente, transferiu-se 630  $\mu$ L para as colunas devidamente identificadas, centrifugou-se a 14.000 rpm por 1 minuto e descartou-se a parte de baixo, ficando só com a coluna para encaixar em outro tubo.

Colocou-se o resto das amostras nas colunas devidas, centrifugou-se a 14.000 rpm por 1 minuto e descartou-se a parte de baixo, ficando só com a coluna para encaixar em outro tubo. Lavou-se com 500  $\mu$ L de tampão da lavagem (AW1) e centrifugou-se por 1 minuto, mantendo a coluna e descartando a parte de baixo. Lavou-se com 500  $\mu$ L de tampão da lavagem (AW2) e centrifugou-se por 4 minutos, mantendo a coluna e descartando a parte de baixo.

Identificou-se os tubos para RNA e colocou-se as colunas. Adicionou-se 60  $\mu\text{L}$  de tampão para eluir (AVE) em cada amostra e centrifugou-se por 1 min, descartando a coluna e ficando com o tubo. Colocou-se em banho-maria por 10 min a 65°C, centrifugou-se rapidamente e colocou-se no gelo. As amostras extraídas foram congeladas e armazenadas em freezer a -20°C.

O DNA complementar (cDNA) foi sintetizado de acordo com a técnica de RT-PCR qualitativa, com adaptações feitas no Laboratório de Patologia Clínica das Doenças Tropicais, da seguinte maneira para o Mix de uma amostra: Tampão: 12  $\mu\text{L}$ ; primer ou iniciador k10: 1  $\mu\text{L}$ ; primer ou iniciador k11: 1  $\mu\text{L}$ ; água ultrapura livre de DNase e RNase: 5  $\mu\text{L}$ ; Enzima Taq polymerase One-Step (Invitrogen): 1  $\mu\text{L}$ . O primer k10 constituiu-se da sequência GGC GAC ACT CCA CCA TRR e o primer k11 da sequência GGT GCA CGG TCT ACG AGA CC.

O volume do mix por amostra foi de 20  $\mu\text{L}$  e o volume da amostra (produto da extração) de 5  $\mu\text{L}$ , perfazendo um volume total por tubo de 25  $\mu\text{L}$ . As amostras foram colocadas em termociclador e a reação foi realizada a 42°C por 45 minutos, temperatura inicial de desnaturação a 94°C por 2 minutos, seguida de 35 ciclos, com temperatura de desnaturação a 94°C por 30 segundos, de anelamento a 54°C por 30 segundos, de extensão a 72°C por 45 segundos e temperatura de extensão final de 72°C por 7 minutos, e um hold de 4°C.

Para visualização do produto dessa 1ª PCR (RT-PCR), foi feito um gel de agarose a 1% (1g de agarose para 100mL de tampão TEB 1X e 3  $\mu\text{L}$  de brometo de etidium), que migrou na cuba de eletroforese com 100V, 500A por 60 minutos. Os resultados foram visualizados através de luz UV (ultravioleta). Os doadores positivos, que apresentarem

“banda”, continuaram-se os procedimentos e os negativos, que não apresentaram “bandas” foram liberados como indetectáveis por este método.

Segundo o resultado da PCR os pacientes foram agrupados em dois grupos. O primeiro grupo, denominado de Clareamento Viral, foi constituído pelos doadores de sangue que apresentaram boa resposta imunológica, baixa carga viral e resultado da PCR negativo; enquanto que o segundo grupo, denominado de Crônico, foi composto pelos demais doadores cuja resposta imune não foi capaz de conter a replicação viral e o resultado da PCR foi positivo.

#### **5.2.4. Determinação do grupo sanguíneo ABO e Rh (D)**

Os doadores tiveram seus grupos sanguíneos ABO avaliados através de prova direta que consiste na pesquisa do antígenos A e/ou B, na membrana eritrocitária e confirmados através da prova reversa, que consiste na pesquisa de anticorpos anti-A e/ou anti-B no soro do indivíduo.

O grupo sanguíneo Rh foi determinado através de pesquisa do antígeno D, na membrana eritrocitária.

Os testes foram realizados em aparelho semi-automatizado Hamilton Microlab AT Plus (REM, Alemanha). Os kits comerciais de hemácias e anti-soros utilizados para as provas direta e reversa foram da marca DiaMed Latino América S/A, Minas Gerais, Brasil, e os procedimentos foram executados de acordo com a bula do fabricante.

A amostra de sangue total obtida não devia ser hemolisada, pois os antígenos estão localizados na membrana eritrocitária e as reações são do tipo hemaglutinação, podendo gerar um resultado falso. Qualquer discrepância ou outro tipo de interferência na reação

capazes de alterar o resultado das dosagens foram submetidos a procedimentos de retipagem da amostra.

Para determinação do grupo sanguíneo ABO e Rh (D), iniciou-se com a realização da prova reversa da seguinte forma: pipetou-se nos microtubos do cartão 50  $\mu$ L do ID-Diacell A<sub>1</sub>B e 50  $\mu$ L de soro/plasma do doador, continuou-se os testes com a realização da prova direta: identificou-se um tubo de ensaio para preparar a suspensão de hemácias (adicionou-se 0,5 mL de reagente de solução de baixa força iônica-LISS e 25  $\mu$ L de concentrado de hemácias). Transferiu-se 10  $\mu$ L desta suspensão para os microtubos A-B-D<sup>VI</sup>-CTL. Centrifugou-se o cartão por 10 minutos a 70g (910 rpm). Transferiu-se o cartão para a leitora de reações (Saxo ID-Reader) e observou-se o grau de aglutinação das reações, confirmando o resultado. A conclusão do grupo sanguíneo ABO somente foi considerada válida se o resultado da prova direta fosse concordante com a prova reversa. A conclusão do grupo sanguíneo Rh(D) somente foi considerada válida se o teste de controle do Rh apresentasse resultado negativo.

À amostra sanguínea que apresentou reação de aglutinação negativa para o antígeno D foi realizado outro teste para confirmação do Rh(D), assim: em um tubo de hemólise colocou-se 0,5 mL de ID-Diluyente I (solução de bromelina) e adicionou-se 25  $\mu$ L do concentrado de hemácias, homogeneizou-se e deixou-se em repouso à temperatura ambiente por 10 minutos. Transferiu-se 10  $\mu$ L desta suspensão para o microtubo do cartão ID-Anti-D humano. Centrifugou-se por 10 minutos a 70g (910 rpm). Realizou-se a leitura no Saxo ID-Reader.

Aos indivíduos que confirmaram testes negativos para o antígeno Rh(D), ou seja, ausência do antígeno D na membrana da hemácia, foi acrescentado a pesquisa do antígeno Dfraco, através da quantificação do antígeno D.

### 5.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

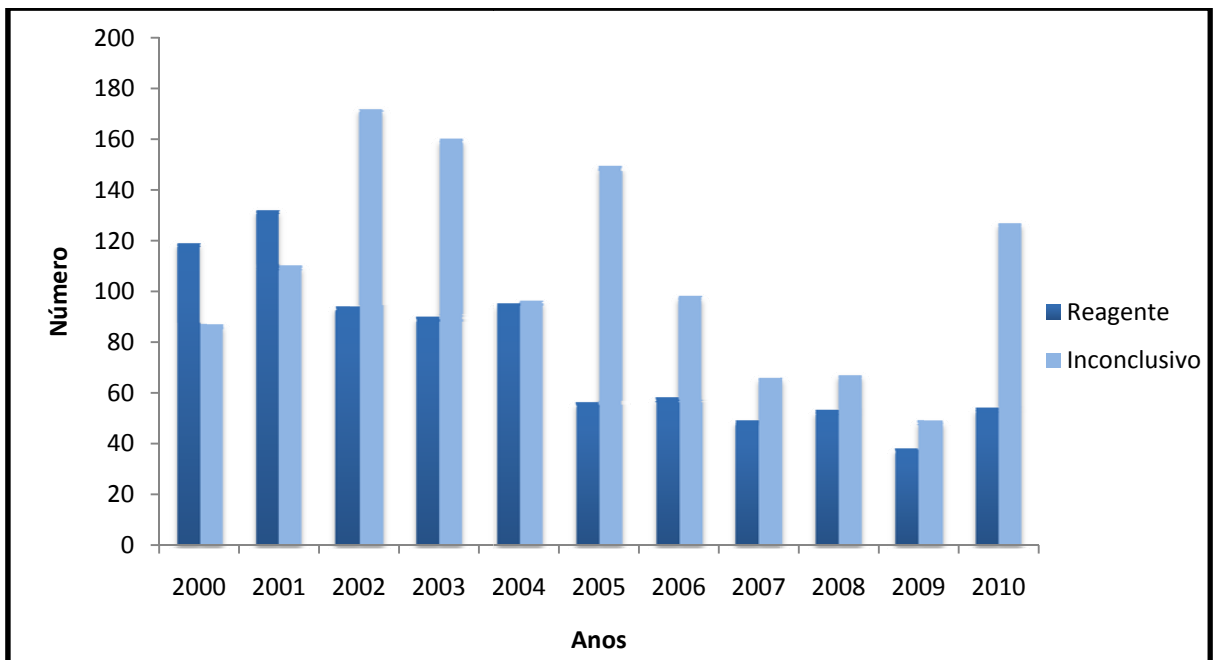
Os dados obtidos no projeto de pesquisa foram inseridos em planilha no Excel e transportada para análise no software Biostat 5.0 (AYRES, 2008), sendo aceito o nível de significância de 95%. Para comparação das variáveis estudadas foi utilizado os teste G e Qui-quadrado.

## 6. RESULTADOS

No período de 2000 a 2010, foram analisadas 565.614 amostras de doadores de sangue da Fundação Hemopa, sendo destes 1064 apresentaram teste reagente para pesquisa sorológica do HCV, 1246 inconclusivos e 563304 negativos. Entretanto, foram incluídos neste estudo somente os doadores que não possuíam qualquer tipo de co-infecção para nenhuma outra patologia pesquisada, de naturalidade paraense e pele de cor parda. Após, a seleção destes critérios gerou-se um tamanho amostral de 838 (0,15%) soropositivos, 1181 (0,21%) inconclusivos e 551.991 (99,64%) soronegativos de um total de 554.010 doadores de sangue.

Ao longo destes anos observou-se que a soroprevalência de anticorpos HCV específico nos doadores de sangue vem sofrendo redução (gráfico 1). No período de 2000 a 2004 foi observado uma variação de 132 a 95 casos de doadores sororeagentes ao HCV. A partir de 2005, esses valores quase que reduziram pela metade com uma variação de 56 a 38 casos sororeagentes no período de 2005 a 2010. Sendo o ano de 2009 o que menos apresentou casos reagentes para o HCV (gráfico 1).

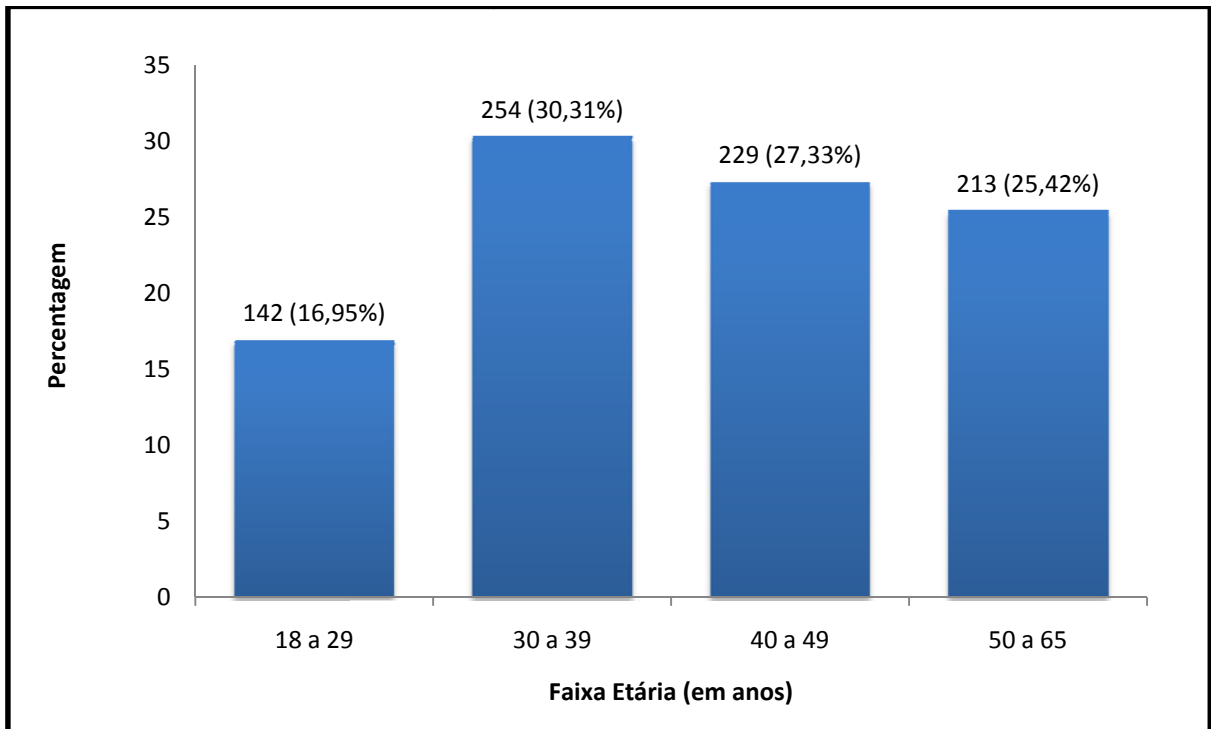




( $\chi^2 = 2369.595$ ,  $p = < 0.0001$ )

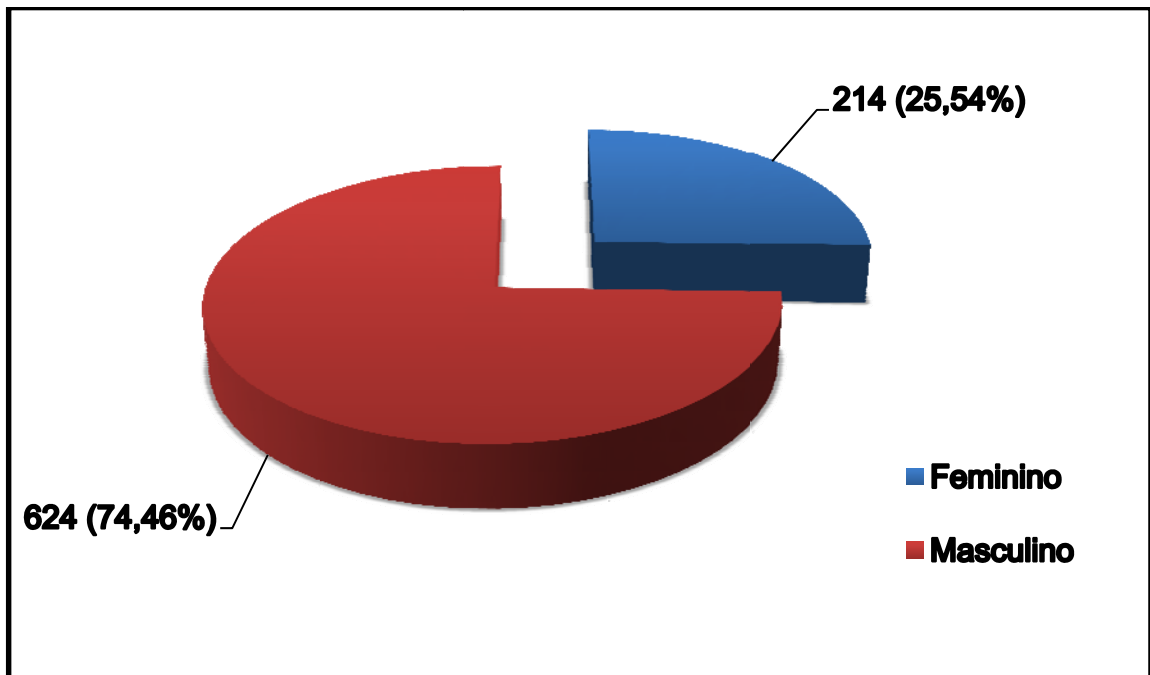
**Gráfico 1:** Prevalência anual do HCV entre dos doadores de sangue da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.

Analisando os 838 doadores de sangue que foram sororeagentes para o HCV foi observado que a faixa etária compreendia entre 18 a 65 anos, com média de idade igual a 41 anos. A maioria dos doadores estavam entre a faixa etária de 30 a 49 anos (57,64%), conforme demonstrado no gráfico 1.



**Gráfico 2:** Distribuição da amostra quanto à faixa etária dos doadores de sangue HCV reagentes da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.

Quanto ao gênero nos doadores de sangue que foram sororeagentes para o HCV foi observado que 74.5% (624/838) pertenciam ao sexo masculino e 25.5% (214/838) ao sexo feminino, demonstrando um predomínio do sexo masculino (Gráfico 2).



**Gráfico 3:** Distribuição da amostra quanto ao gênero de doadores de sangue da Fundação Hemopa com teste reagente para o marcador sorológico anti-HCV, no período de 2000 a 2010.

Em relação à origem dos doadores de sangue sororeagentes para o HCV a tabela 2 está demonstrando a procedência de todos doadores sororeagentes ao HCV. Segundo esses dados foi observado que a maioria destes doadores, 72,5% (607/838) residia no município de Belém, seguidos por 19,7% (165/838) doadores provenientes de Ananindeua e de 2,1% (17/838) provenientes dos municípios de Benevides e Marituba.

**Tabela 2:** Distribuição da amostra quanto à procedência dos doadores de sangue HCV reagentes da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.

<b>HCV Reagentes</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
<b>Abaetetuba</b>	3	0,4
<b>Acará</b>	1	0,1
<b>Ananindeua</b>	165	19,7
<b>Barcarena</b>	7	0,9
<b>Belém</b>	607	72,5
<b>Benevides</b>	17	2,1
<b>Bragança</b>	2	0,2
<b>Bujaru</b>	1	0,1
<b>Cametá</b>	1	0,1
<b>Capanema</b>	1	0,1
<b>Capitão Poço</b>	1	0,1
<b>Castanhal</b>	1	0,1
<b>Marabá</b>	1	0,1
<b>Marituba</b>	17	2,1
<b>Medicilândia</b>	1	0,1
<b>Outeiro</b>	1	0,1
<b>Paragominas</b>	1	0,1
<b>Santarém</b>	1	0,1
<b>Santarém Novo</b>	1	0,1
<b>São Caetano de Odivelas</b>	1	0,1
<b>Santa Bárbara</b>	1	0,1
<b>Santa Izabel do Pará</b>	3	0,4
<b>Santo Antônio do Tauá</b>	1	0,1
<b>Tomé Açu</b>	1	0,1
<b>Vigia</b>	1	0,1
<b>Total</b>	<b>838</b>	<b>100</b>

Quanto à procedência dos doadores de sangue sororeagentes para o HCV e a distribuição dos fenótipos dos sistemas de grupos sanguíneos ABO e Rh(D) foi verificado que a maioria destes doadores possuíam grupos sanguíneos ORh(D)+ e ARh(D)+ (Tabela 3).

**Tabela 3:** Distribuição da amostra quanto à procedência e os sistemas de grupos sanguíneos ABO e Rh(D) dos doadores de sangue HCV reagentes da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.

<b>HCV Reagentes</b>	<b>ARhD+</b>	<b>ARhD-</b>	<b>BRhD+</b>	<b>BRhD-</b>	<b>ABRhD+</b>	<b>ABRhD-</b>	<b>ORhD+</b>	<b>ORhD-</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
<b>Abaetetuba</b>	0	0	0	0	0	0	2	1	3	0,4
<b>Ananindeua</b>	50	7	14	0	2	1	83	8	165	19,7
<b>Barcarena</b>	0	1	0	0	0	0	5	1	7	0,8
<b>Belém</b>	154	11	52	3	11	1	348	27	607	72,5
<b>Benevides</b>	4	0	3	0	1	0	9	0	17	2,0
<b>Bragança</b>	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0,2
<b>Marituba</b>	3	1	1	0	0	0	11	1	17	2,0
<b>Santa Izabel do Pará</b>	2	0	0	0	0	0	1	0	3	0,4
<b>*Outros</b>	0	0	3	0	0	0	13	1	17	2,0
<b>Total</b>	<b>213</b>	<b>20</b>	<b>73</b>	<b>3</b>	<b>14</b>	<b>2</b>	<b>474</b>	<b>39</b>	<b>838</b>	<b>100</b>

\*Outros: Pertencem aos municípios: Acará, Bujaru, Cametá, Capanema, Capitão Poço, Castanhal, Marabá, Medicilândia, Outeiro, Paragominas, Santarém, Santarém Novo, São Caetano de Odivelas, Santa Bárbara, Santo Antônio do Tauá, Tomé Açu, Vigia.

Comparando a distribuição dos fenótipos do sistema de grupo sanguíneo ABO ao nível eritrocitário entre o grupo de doadores sororeagentes e não reagente ao HCV e retirando o grupo de doadores que apresentavam resultado sorológico inconclusivos, se verificou que não há variação significativa na frequência destes fenótipos entre os doadores reagentes e não reagentes na pesquisa de anticorpos HCV específicos (tabela 4).

**Tabela 4:** Associação entre os fenótipos de grupo sanguíneo ABO com os resultados do teste imunoenzimático (Elisa) dos doadores de sangue da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.

<b>Sorologia</b>	<b>Grupos Sanguíneos ABO</b>				<b>Total</b>	
	<b>HCV</b>	<b>A(%)</b>	<b>B(%)</b>	<b>AB(%)</b>		<b>O(%)</b>
<b>Reagente</b>		233 (27.8)	76 (9)	16 (2)	513 (61.2)	838
<b>Não Reagente</b>		158421 (28.7)	51887 (9.4)	12696 (2.3)	328987 (59.6)	551991
<b>Total</b>		<b>158654</b>	<b>51963</b>	<b>12712</b>	<b>329500</b>	<b>552829</b>

( $\chi^2 = 1.254$ ,  $p = 0.7401$ )

A distribuição dos fenótipos do sistema de grupo sanguíneo Rh e os resultados do teste imunoenzimático estão demonstrados na tabela 5. Nessa tabela pode-se observar que não houve associação entre os diferentes fenótipos Rh e a presença de anticorpos HCV específicos (Tabela 5).

**Tabela 5:** Distribuição da amostra quanto ao sistema de grupo sanguíneo Rh(D) de doadores de sangue da Fundação Hemopa, no período de 2000 a 2010.

<b>Sorologia HCV</b>	<b>RhD+ (%)</b>	<b>RhD- (%)</b>	<b>Total</b>
<b>Reagente</b>	774 (92.4)	64 (7.6)	838
<b>Não Reagente</b>	509488 (92.3)	42503 (7.7)	551991
<b>Total</b>	<b>510262</b>	<b>42567</b>	<b>552829</b>

( $\chi^2 = 0.0005$ ,  $p = 0.9974$ )

A partir do ano de 2005 foi implementado no banco de sangue do estado do Pará (Hemopa) as técnicas de Biologia Molecular. Deste modo, entre os 838 doadores de sangue reagentes para o teste sorológico anti-HCV, apenas 257 apresentaram resultado de PCR, destes em 37,7% (97\257) foi possível visualizar o RNA viral nas amostras sorológicas (RT-PCR, positivo) e 62,3% (160\257) foram negativos na pesquisa do RNA viral. Quando comparado os resultados do teste molecular com os grupos sanguíneos ABO e Rh dos pacientes não se observou associação entre eles (tabela 6).

**Tabela 6:** Associação entre os fenótipos de grupos sanguíneos ABO e RH com os resultados do teste de PCR dos doadores de sangue da Fundação Hemopa.

<b>Grupos Sanguíneos</b>	<b>Biologia Molecular</b>		<b>Teste G P valor</b>
	<b>Crônico (n=97)</b>	<b>Clareamento viral (n=160)</b>	
<b><u>ABO</u></b>			
A	31 (32%)	51 (32%)	G=4.1415 p= 0.2466
B	15 (15.5%)	12 (7.5%)	
AB	1 (1%)	3 (2%)	
O	50 (51.5%)	94 (58.5%)	
<b><u>RHD</u></b>			
Positivo	90 (92.8%)	146 (91.2%)	G= 0.0403
Negativo	7 (7.2%)	14 (8.8%)	P=0.8408



## 7. DISCUSSÃO

No presente estudo a prevalência do HCV entre os doadores de sangue foi de 0,15%. A comparação da frequência do HCV entre os doadores de sangue soropositivos e soronegativos no decorrer dos anos desta pesquisa observou-se diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.0001$ ).

Taxas de prevalência do HCV em populações doadoras de sangue foram relatadas por dois estudos, sendo um realizado no estado do Pará e o outro no município de Uberaba (MG), ambos com valores próximos ao encontrado nesta pesquisa. No estudo de Oliveira-Filho et al. (2010a) em doadores de sangue da Fundação Hemopa, no período de 2004 a 2006, cujo objetivo era determinar a prevalência e a frequência genotípica, foi observado uma prevalência de 0,22%. Em 14 anos de estudo, Garcia et al. (2009) encontrou uma prevalência de inaptidão pelo HCV, em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Uberaba/Fundação Hemominas, de 0,3%.

Em um panorama brasileiro mais abrangente, foi encontrado valores de prevalência variando entre 0,38% e 2,6% (NARCISO-SCHIAVON et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2008).

Em concordância com Garcia et al. (2009) acredita-se que a prevalência do HCV nos bancos de sangue têm alcançado valores menores com o decorrer do tempo devido a fidelização dos doadores, estratégia esta que deve ter sido encorajada com a finalidade de garantir maior segurança transfusional.

Contradizendo Ferreira e Silveira (2004) que relata que a região Sul do Brasil é a que apresenta maior endemicidade, outros dois artigos encontrados, asseveram que o Norte é a região brasileira de maior prevalência (2,2%), sendo as mais elevadas taxas

registradas nos Estados do Acre (5,9%) e Pará (0,2 a 2%) (DA FONSECA E BRASIL, 2004; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010a), estando a soroprevalência do Estado do Pará muito próxima a encontrada nesta pesquisa.

A média de idade encontrada no presente estudo nos doadores infectados foi de 41 anos. No levantamento bibliográfico realizado foram encontrados dois estudos em doadores de sangue também da Fundação Hemopa. Oliveira-Filho et al. (2010b) estudando a possibilidade de transmissão do vírus da hepatite C por compartilhamento de materiais cortantes e perfurantes em doadores de sangue dessa Fundação observou uma média muito próxima da encontrada nesta pesquisa (40 anos). Porém, Sawada et al. (2011) pesquisando a distribuição dos genótipos em doadores de sangue da Fundação Hemopa, em pacientes usuários de drogas ilícitas atendidos no Centro de Prevenção e Tratamento da Dependência Química (CENPREN) e pacientes hemodialisados de uma clínica privada de hemodiálise localizada na cidade de Belém, relatou média de 36 anos nos candidatos à doação que estavam infectados.

Em relação à faixa etária, houve predomínio de indivíduos infectados com idade entre 30 e 49 anos. As literaturas apresentam valores muito próximos ao encontrado neste estudo. Em Aquino et al. (2008), que estudou indivíduos de diversos municípios do Pará encaminhados ao Laboratório Central do Estado do Pará, as maiores incidências de infecção foram identificadas nas faixas etárias entre 40 a 49 anos (29%) e acima de 50 anos (32,6%). A incidência encontrada por Sawada et al. (2011) também foi idêntica ao do presente estudo: taxas de 27% em indivíduos entre 30 a 39 anos e de 39% em indivíduos entre 40 a 49 anos. No artigo de Oliveira-Filho (2010b) foi considerado que doadores de sangue da Fundação Hemopa com idade acima de 35 anos estavam significativamente mais susceptíveis a infecção que os com idade inferior aos 35 anos.

Para Garcia et al. (2009) o grupo etário não apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p=0,5151$ ), entretanto para Oliveira-Filho (2010b) a idade parece ser considerada um fator de risco.

No atual estudo observou-se elevada incidência de indivíduos portadores do HCV com idade superior a 50 anos, concordante com o encontrado na literatura por Aquino et al. (2008). Os autores aceitam diversas versões para esta prevalência. Fonseca (1999) acredita que estes indivíduos possuem maior tempo de exposição ao agente patológico, já Garcia et al. (2009) faz referência às pobres condições de assepsia em procedimentos utilizando material perfuro-cortante nos quais as pessoas eram submetidas no passado, assertiva corroborada por Oliveira-Filho (2010b) que ressalta que os materiais perfuro-cortantes descartáveis foram introduzidos para utilização em larga escala no Brasil somente a partir do ano de 1980. Ou ainda, mais raramente, poderiam estar inseridos neste grupo doadores de sangue que se submeteram ao procedimento antes do ano de 1992, época da inserção do teste laboratorial como rotina de triagem sorológica em bancos de sangue.

O perfil do grupo em estudo mostrou que a maioria é do sexo masculino, concordante ao descrito na literatura (AQUINO et al., 2008; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010a; SAWADA et al., 2011). Embora as doações de sangue sejam mais frequentes entre os homens, todos os artigos pesquisados indicam os homens como os mais acometidos pelo HCV. Segundo Garcia et al., 2009 esta ocorrência é devido aos homens estarem mais expostos aos fatores de risco e por este motivo se busca incentivar a doação de sangue feminina como estratégia para reduzir os índices de inaptidão sorológica.

A maioria dos doadores sororeagentes residiam no município de Belém e subsequentemente nas cidades de Ananindeua, Marituba e Benevides. Segundo o censo

populacional do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE no ano de 2010 publicado no Diário Oficial da União, a capital paraense era composta de 1.351.618 pessoas, Ananindeua 456.316, Marituba 108.223 e Benevides 51.104. Apesar de existirem vários municípios com número populacional superior ao de Marituba e Benevides, como por exemplo, Abaetetuba (139.749), Bragança (112.285), Cametá (120.897), Castanhal (168.559), Marabá (224.014), Parauapebas (149.411), Santarém (291.122), entre outros, e do teste sorológico de todos os doadores de sangue do estado do Pará ser centralizado na Fundação Hemopa, seria interessante verificar o motivo da menor prevalência nos municípios de Marituba e Benevides.

Na comparação do sistema de grupo sanguíneo ABO entre doadores de sangue soropositivos e soronegativos não se observou diferença estatisticamente significativa ( $p > 0.5$ ). Desta forma, esta pesquisa não encontrou evidências de associação entre o grupo sanguíneo ABO com indivíduos portadores do vírus HCV. Em concordância ao observado por Naeini et al. (2010), que determinou a frequência dos grupos sanguíneos ABO e Rh(D) para descobrir se algum fator influencia no desenvolvimento das hepatites B e C, nos pacientes do Centro de Pesquisa de Doenças Infeciosas de Isfahan/Iran e doadores de sangue saudáveis do Banco de Sangue de Isfahan.

Porém, estes resultados divergem dos obtidos em Chang et al. (2001) que avaliou o papel de múltiplos fatores da infecção pelo HCV, com ênfase na modificação de várias características individuais associado ao risco de exposição percutânea em homens de Taiwan, e observou que a prevalência desta infecção viral é maior em indivíduos do grupo sanguíneo O. Behal et al. (2010) que determinou a relação entre a infecção pelo HCV e grupos sanguíneos ABO e Rh(D), idade e gênero, em 20.000

pacientes que compareceram para doar sangue no Banco de Sangue Ganesh Shankar Vidyarathi Memorial (GSVM) Colégio Médico em Kanpur, na Índia, também se opõe ao encontrado neste estudo, pois observou soroprevalência de HCV maior em indivíduos do grupo sanguíneo O (0,42%) e menor em indivíduos AB (0,04%), demonstrando  $p=0.0456$ , logo o grupo sanguíneo AB foi considerado o menos susceptível à infecção pelo vírus, e ressaltou ainda, que a possibilidade de associação entre os antígenos do grupo sanguíneo ABO com a hepatite C não poderia ser descartada.

Na comparação do sistema de grupo sanguíneo Rh(D) entre doadores de sangue soropositivos e soronegativos não se observou diferença estatisticamente significativa ( $p > 0.5$ ). Desta forma, esta pesquisa também não encontrou evidências de associação entre o grupo sanguíneo Rh(D) e a presença de anticorpos HCV específicos. Na literatura pesquisada apenas Naeini et al. (2010) e Behal et al. (2010) investigaram este tipo de associação e ambos apresentaram resultados semelhantes com os da atual pesquisa, sendo  $p > 0.5$  e  $p = 0.7807$ , respectivamente. Behal et al., (2010) observou também que a frequência encontra-se marginalmente elevada no grupo sanguíneo Rh(D) positivo (0,34%) em relação ao grupo sanguíneo Rh(D) negativo (0,22%).

## 7. CONCLUSÕES

- No período 2000 a 2010 foi observado uma soroprevalência de 0,15% do HCV nos doadores de sangue da Fundação Hemopa, semelhante ao que foi descrito nas regiões Nordeste e Centro-Oeste.
- As taxas de soroprevalência do HCV vêm diminuindo ao passar dos anos.
- Baseado no resultado deste trabalho não houve associação entre os diferentes fenótipos de grupos sanguíneos ABO e Rh e a presença de anticorpos HCV específicos.
- Dos doadores sororeagentes para o HCV 57,64% apresentavam faixa etária de 30 a 49 anos, 74,5% pertenciam ao sexo masculino e 72,5% residiam no município de Belém.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALARY, M.; JOLY, J.R.; VINCELETTE, J.; LAVOIE, R.; TURMEL, B.; REMIS, R.S. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C virus in a prospective cohort study of men who have sex with men. **American Journal of Public Health**, v. 95, n. 3, p. 502-5, 2005.

ALBERTI, A.; BOCCATO, S.; VARIO, A.; BENVENEGNU, L. Tratamento da hepatite C aguda. **Hepatology**, v. 36, p. 195-200, 2002.

ALTER, M.J. The epidemiology of acute and chronic hepatitis C. **Clinics in Liver Disease**, v. 1, n. 3, p. 559-68. 1997.

ALTER, M.J.; KRUSZON-MORAN, D.; NAINAN, O.V.; McQUILLAN, G.M.; GAO, F.; MOYER, L.A.; KASLOW, R.A.; MARGOLIS, H.S. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. **The New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 8, p. 556-62, 1999.

ANAYA, E.C. Biología Molecular Del Virus de La Hepatitis C, **Sociedad de Medicos Residentes**, 2009. Disponível em: <http://residentes-hcg.org>. Acesso em: 06 fev. 2011.

ANDRE, P.; KOMURIAN-PRADEL, F.; DEFORGES, S.; PERRET, M.; BERLAND, J.L.; SODOYER, M.; POL, S.; BRECHOT, C.; PARANHOS-BACCALA, G.; LOTTEAU, V. Characterization of low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles. **Journal of Virology**, v. 76, n. 14, p. 6919 e 6928, 2002.

ANGELICO, M.; TISONE, G.; RAPICETTA, M.; PISANI, F.; GANDIN, C.; CHIONNE, P.; DETTORI, S.; IARIA, G.; DANESE, V.; ORLANDO, G.; CASCIANI, C.U. Hepatitis C virus infection in Italian kidney graft recipients. Changing risk factors and hepatitis C virus genotypes. **Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 29, n. 5, p. 448-55, 1997.

ANSTEE, D.J. The relationship between blood groups and disease. **Blood**, v. 115, n. 23, p. 4635-4643, 2010.

AQUINO, J.A.; PEGADO, K.A.; BARROS, L.P.; MACHADO, L.F.A. Soroprevalência de infecções por vírus da Hepatite B e vírus da hepatite C em indivíduos do Estado do Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 334-337, 2008.

ARMELLE, P.; PIERRE-YVES B.; DOMINIQUE, W.; RAOUL, P.; ANNIE, R. Association between ABO blood group and fibrosis severity in chronic hepatitis C infection. **Digestive Disease and Sciences**, v. 51, p. 1633-1636, 2006.

ASPINALL, G.O.; MONTEIRO, M.A. Lipopolysaccharides of Helicobacter pylori strains P466 and MO19 : structures of the O antigen and core oligosaccharide regions. **Biochemistry**, v. 35, n. 7, p. 2498-504, 1996.

BEHAL, R.; JAIN, R.; BEHAL, K.K.; DOHLE, T.N. Variation in the host ABO blood group may be associated with susceptibility to hepatitis C virus infection. **Epidemiology and Infection**, v. 138, n. 8, p. 1096–1099, 2010.

BLUMENFELD, O.O.; PATNAIK, S.K. Allelic genes of blood group antigens: a source of human mutations and cSNPs documented in the Blood Group Antigen Gene Mutation Database. **Human Mutation**, v. 23, n. 1, p. 8-16, 2004.

BONIFÁCIO, S.L.; NOVARETTI, M.C.Z. Funções biológicas dos antígenos eritrocitários. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 2, p. 104-111, 2009.

BORÉN, T.; FALK, P.; ROTH, K.A.; LARSON, G.; NORMARK, S. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. **Science**, v. 262, n. 5141, p. 1892–1895, 1993.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC no.153, 14 de junho de 2004. *Regulamento Técnico para os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue, e seus componentes, obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea*. Diário Oficial [República Federativa do Brasil], 14 jun. 2004, seção 1

BROHM, C.; STEINMANN, E.; FRIESLAND, M.; LORENZ, I.C.; PATEL, A.; PENIN, F.; BARTENSCHLAGER, R.; PIETSCHMANN, T. Characterization of determinants important for hepatitis C virus p7 function in morphogenesis using transcomplementation. **Journal of Virology**, v. 83, n. 22, p. 11682-11693, 2009.

BRUCE, L.J. Hereditary stomatocytosis and cation-leaky red cells--recent developments. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 42, n. 3, p. 216-222, 2009.

BUKH, J.; MILLER, R.H.; PURCELL, R.H. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. **Seminars of Liver Disease**, v. 15, n. 1, p. 41-63, 1995.

BURATTI, E.; TISMINETZKY, S.; ZOTTI, M.; BARALLE, F.E. Functional analysis of the interaction between HCV 5' UTR and putative subunits of eukaryotic translation initiation factor eIF3. **Nucleic Acids Research**, v. 26, p. 3179e3187, 1998.

CAMPIOTTO, S.; PINHO, J.R.R.; CARRILHO, F.J.; DA SILVA, L.C.; SOUTO, F.J.D.; SPINELLI, V.; PEREIRA, L.M.M.B.; COELHO, H.S.M.; SILVA, A.O.; FONSECA, J.C.; ROSA, H.; LACET, C.M.C.; BERNARDINI, A.P. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 1, p. 41-49, 2005.

CANTALOUBE, J.F.; LAPERCHÉ, S.; GALLIAN, P.; BOUCHARDEAU, F.; DE LAMBALLERIE, X.; DE MICCO, P. Analysis of the 5' noncoding region versus the NS5b region in genotyping hepatitis C virus isolates from blood donors in France. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 2051–2056, 2006.



CARITHERS, R.L.; MARQUARDT JR, A.; GRETCH, D.R. Diagnostic testing for hepatitis C. **Seminars in Liver Disease**, v. 20, p. 159–171, 2000.

CASTELLS, L.; VARGAS, V.; GONZALEZ, A.; ESTEBAN, J.; ESTEBAN, R.; GUARDIA, J. Long interval between HCV infection and development of hepatocellular carcinoma. **Liver**, v. 15, n. 3, p. 159-63. 1995.

CAVALHEIRO, N.P. Hepatitis C: genotyping. **The Brazilian Journal of Infectious Disease**, v. 11, n. 5, suppl.1, p. 25-27, 2007a.

CAVALHEIRO, N.P. Sexual transmission of Hepatitis C. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 5, p. 271-7, 2007b.

CAVALHEIRO, N.P.; BARONE, A.A.; TENGAN, F.M. HCV Serotypes in brazilian patients. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 6, n. 3, p. 228-232, 2002.

CDC Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm., 47(RR-19):1–39. 1998 ??

CHANG, H.C.; YU, M.W.; LU, C.F.; CHIU, Y.H.; CHEN, C.J. Risk factors associated with hepatitis C virus infection in Taiwanese government employees. **Epidemiology and Infection**, v. 126, n. 2, p.291–299, 2001.

CHEN, L. S.; MORGAN, T. R. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. **International Journal of Medical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 47-52, 2006.

CHINCHAI, T.; LABOUT, J.; NOPPORNANTH, S.; THEAMBOONLERS, A.; HAAGMANS, B.L.; OSTERHAUS, A.D.M.E.; POOVORAWAN, Y. Comparative study of different methods to genotype hepatitis C virus type 6 variants. **Journal of Virological Methods**, v. 109, n. 2, p. 195–201, 2003.

CHOO, Q.L.; KUO, G.; WEINER, A.J.; OVERBY, L.R.; BRADLEY, D.W.; HOUGHTON, M. Isolation of a cDNA clone derived from a bloodborne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, v. 244, n. 4902, p. 359-62, 1989.

CHOU, S.T.; WESTHOFF, C.M. Molecular biology of the Rh system: clinical considerations for transfusion in sickle cell disease. **American Society of Hematology Education Program Book**, v. 2009, n.1, p. 178-184, 2009.

CLEMENS, S.; FONSECA, J.; AZEVEDO, T.; CAVALCANTI, A.; SILVEIRA, T.; CASTILHO, M.; CLEMENS, R. Hepatitis A and hepatitis B seroprevalence in four centers in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 1, p.1-10, 2000.

CORBET, S.; BUKH, J.; HEINSEN, A.; FOMSGAARD, A. Hepatitis C virus subtyping by a core-envelope 1-based reverse transcriptase PCR assay with sequencing and its use in determining subtype distribution among Danish patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 3, p. 1091–1100, 2003.

CORVELO, T.C.O.; AGUIAR, D.C.F.; SAGICA, F.E.S. The expression of ABH and Lewis antigens in Brazilian semi-isolated Black communities. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 3, p. 259-263, 2002.

D'ADAMO, P.J.; WHITNEY, C. *Eat Right 4 Your Blood Type: Staying Healthy, Living Longer, Achieving Your Ideal Weight*. New York, NY: Putnam Publishing Group, 1997. 345p.

DANIELS, G.; POOLE, J.; DE SILVA, M.; CALLAGHAN, T.; MACLENNAN, S.; SMITH, N. The clinical significance of blood group antibodies. **Transfusion Medicine**, v. 12, n. 5, p. 287-95, 2002.

DANIELS, G.; BROMILOW, I. **Essential Guide to Blood Groups**. In: KHAN, M.; SEWARD, J.; DODDS, E.; CHARMAN, K. editors. *Essential Guide to Blood Groups*. 1 ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltda; 2007, p. 4-44.

DONAHUE, J.G.; MUNOZ, A.; NESS, P.M.; BROWN JR, D.E.; YAWN, D.H.; McALLISTER JR, H.A.; REITZ, B.A.; NELSON, K.E. The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 327, n. 6, p. 369-373, 1992.

ERIN, M.M.; LJILJANA, S.; KARLA, J.H.; SUSAN, H.; BRETT, J.; STEVEN, A.W.; MICHAEL, R.B. Alcohol metabolism increases hepatitis C virus and attenuates the antiviral action of interferon. **Journal of Infectious Disease**, v. 198, p. 1766-1775, 2008.

FABRIZI, F.; MARTIN, P.; DIXIT, V.; BREZINA, M.; RUSSELL, J.; CONRAD, A.; SCHMID, P.; GEROSA, S.; GITNICK, G. Detection of de novo hepatitis C virus infection by polymerase chain in hemodialysis patients. **American Journal of Nephrology**, v. 19, n. 3, p. 383-388, 1999.

FAGUNDES, G. D.; BONAZZA, V.; CERETTA, L.B.; BACK, A.J.; BETTIO, J. **Detection of the Hepatitis C virus in a population of adults**. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v. 16, n. 3, p. 396-400, 2008.

FERREIRA, C.T.; SILVEIRA, T.R. Viral Hepatitis: epidemiological and preventive aspects. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 4, p. 473-87, 2004.

FISK, R.T.; FOORD, A.G. Observations on the Rh agglutinin of human blood. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 12, p. 545, 1942.

FLEGEL, W.A. *The Rhesus Immunization Surveillance*. Ulm: DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg - Hessen; 1998.

FLEGEL, W.A. Blood group genotyping in Germany. **Transfusion**, v. 47, n. 1, p. 47S-53S, 2007a.

FLEGEL, W.A. The genetics of the rhesus blood group system. **Deutsches Arzteblatt**, v. 104, n. 10, p. A 651-657, 2007b.

FLEGEL, W.A. Molecular genetics and clinical applications for RH. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 44, n. 1, p. 81-91, 2011.

FLEGEL, W.A.; VON ZABERN, I.; DOESCHER, A.; WAGNER, F.F.; STRATHMANN, K.P.; GEISEN, C.; PALFI, M.; PISACKA, M.; POOLE, J.; POLIN, H.; GABRIEL, C.; AVENT, N.D. D variants at the RhD vestibule in the weak D type 4 and Eurasian D clusters. **Transfusion**, v. 49, n. 6, p. 1059–1069, 2009.

FONSECA, J.C. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C no Brasil. Relatório do Grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. **Gastroenterologia Endoscopia Digestiva**, v. 18, supl 1, p. S3-S8, 1999.

FONSECA, J.C.F.; BRASIL, L.M. Hepatitis C virus infection in the Amazon Brazilian Region. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 37 (supl II), p. 1-8, 2004.

FONSECA, J.C. Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh en la población laboral del valle de Aburrá y del cercano oriente de Antioquia (Colombia). **Acta Médica Colombiana**, v. 31, n. 1, p. 20-30, 2006.

FRY, A.E.; GRIFFITHS, M.J.; AUBURN, S.; DIAKITE, M.; FORTON, J.T.; GREEN, A.; RICHARDSON, A.; WILSON, J.; JALLOW, M.; SISAY-JOOF, F.; PINDER, M.; PESHU, N.; WILLIAMS, T.M.; MARSH, K.; MOLYNEUX, M.E.; TAYLOR, T.E.; ROCKETT, K.A.; KWIAKOWSKI, D.P. Common variation in the ABO glycosyltransferase is associated with susceptibility to severe Plasmodium falciparum malaria. **Human Molecular Genetics**, v. 17, n. 4, p. 567-76, 2008.

GARCIA, F.B.; PEREIRA, G.A.; MARTINS, P.R.J.; MORAES-SOUZA, H. Epidemiological profile of hepatitis C in blood donors at the uberaba regional blood Center. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 1, p. 1-4, 2009.

GARRATTY, G. Evaluating the clinical significance of blood group alloantibodies that are causing problems in pretransfusion testing. **Vox Sanguinis**, v. 74, n. 2, p. 285–90, 1998.

GIANGRANDE, P.L.F. Review: Hepatitis in haemophilia. **British Journal of Haematology**, v. 103, p. 1-9, 1998.

GIRELLO, A.L.; KUHN, T.I.B.B. **Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária**. São Paulo: Senac, 2002, p. 87-94.

GOLDBERG, D.; McINTYRE, P.G.; SMITH, R.; APPLEYARD, K.; DUNLOP, J.; TAYLOR, A.; HUTCHINSON, S. Hepatitis C virus among high and low risk pregnant women in Dundee: unlinked anonymous testing. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 108, p. 365-370, 2001.

HARMENING, D.M. **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão**. 2 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1992.

Hepatitis C strategy for England. 2002. UK: Department of Health. Disponível em: <<http://www.doh.gov.uk/assetRoot/04/07/59/86/04075986.pdf>>. Acesso em: 06 fev. 2011.

HOSOI, E. Biological and clinical aspects of ABO blood group system. **The Journal of Medical Investigation**, v. 55, p. 174-182, 2008.

[http://www.censo2010.ibge.gov.br/dados\\_divulgados/index.php?uf=15](http://www.censo2010.ibge.gov.br/dados_divulgados/index.php?uf=15)

HUANG, C.H.; YE, M. The Rh protein family: gene evolution, membrane biology, and disease association. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, n. 8, p. 1203–1218, 2010.

JAFF, M.S. Higher frequency of secretor phenotype in O blood group – its benefits in prevention and/or treatment of some diseases. **International Journal of Nanomedicine**, v. 5, p. 901-905, 2010.

JEFFERYS, S.D.; KENNETH, C.A. **Transfusion Biology and therapy**. In Gerad L. Mandell, Principles and practice of Infectious Diseases. 6 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005. p. 46-708.

JEROME, K.R.; GRETCH, D.R. Laboratory approaches to the diagnosis of hepatitis C virus infection. **Minerva Gastroenterologica e Dietologica**, v. 50, n. 1, p. 9-20, 2004.

JOYCE, M.A.; TYRRELL, D.L.J. The cell biology of hepatitis C virus. **Microbes and Infection**, v. xx, p. 1-9, 2010.

KANBAY, M.; GÜR, G.; ARSLAN, H.; YILMAZ, U.; BOYACIOGLU, S. The relationship of ABO blood group, age, gender, smoking, and Helicobacter pylori infection. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 50, n. 7, p. 1214–1217, 2005.

KIM, C.L.V.; COLIN, Y.; CARTRON, J.P. Rh proteins: key structural and functional components of the red cell membrane. **Blood**, v. 20, n. 2, p. 93-110, 2006.

KOREGOL, A.C.; RAGHAVENDRA, M.; NAINEGALI, S.; KALBURGI, N.; VARMA, S. ABO blood groups and Rhesus factor: An exploring link to periodontal diseases. *Indian Journal of Dental Research*, v. 21, n. 3, p. 364-368, 2010.

KUPEK, E. Transfusion risk for hepatitis B, hepatitis C, and HIV in the State of Santa Catarina, Brazil, 1991-2001. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 3, p. 236-240, 2004.

LALUEZA-FOX, C.; GIGLI, E.; DE LA RASILLA, M.; FORTEA, J.; ROSAS, A.; BERTRANPETIT, J.; KRAUSE, J. Genetic characterization of the ABO blood group in Neandertals. **BMC Evolutionary Biology**, v. 8, n. 342, 2008.

LANDSTEINER, K.; WIENER, A.S. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. **Proceedings of the Society for Experimental Biology New York**, v. 43, p. 43:223, 1940.

LAPERCHE, S.; LUNEL, F.; IZOPET, J.; ALAIN, S.; DÉNY, P.; DUVERLIE, G.; GAUDY, C.; PAWLOTSKY, J-M.; PLANTIER, J-C.; POZZETTO, B.; THIBAUT, V.; TOSETTI, F.; LEFRÈRE, J-J. Comparison of Hepatitis C Virus NS5b and 5' Noncoding Gene Sequencing Methods in a Multicenter Study. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 733-9, 2005.

LEIVEVEN, J.; PEGASYS, R.B.V. Improves Fibrosis in Responders, relapsers & Nonresponders with Advanced Fibrosis. 55th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease, October 29–November 2 Boston, MA, USA, 2004.

LENKA, M.R.; GHOSH, E.; BHATTACHARYA, P.K. ABO and blood groups in relation to hepatitis B surface antigen. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, p. 688, 1981.

LEONG, T.Y.-M.; LEONG, A.S.-Y. Epidemiology and carcinogenesis of hepatocellular carcinoma. **Hepato-Pancreato-Biliary Association**, v. 7, n. 1, p. 5-15, 2005.

LEVINE, P.; BURNHAM, L.; KATZIN, W.M.; VOGEL, P. The role of isoimmunization in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis. **American Journal Obstetrics Gynecology**, v. 42, p. 925-937, 1941.

LEVINE, P.; STETSON, R.E. An unusual case of intra-group agglutination. **The Journal of the American Medical Association**, v. 113, n. 2, p. 126-127, 1939.

LIANG, T.J.; REHERMANN, B.; SEEFF, L.B.; HOOFNAGLE, J.H. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. **Annals of Internal Medicine**, v. 132, n. 4, p. 296–305, 2000.

LIEW, M.; ERALI, M.; PAGE, S.; HILLYARD, D.; WITTEWER, C. Hepatitis C Genotyping by Denaturing High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 158-163. 2004.

LINDENBACH, B.D., RICE, C.M. Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. **Nature**, v. 436, p. 933–938, 2005.

MALLETTE, C.; FLYNN, M.A.; PROMRAT, K. Outcome of screening for hepatitis C virus infection based on risk factors. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 103, n. 1, p. 131–137, 2008.

MARINI, A.M.; MATASSI, G.; RAYNAL, V.; ANDRE, B.; CARTRON, J.P.; CHERIF-ZAHAR, B. The human Rhesus-associated RhAG protein and a kidney homologue promote ammonium transport in yeast. **Nature Genetics**, v. 26, n. 3, p. 341-344, 2000.

MEDIN, C.; ALLANDER, T.; ROLL, M.; JACOBSON, S.H.; GRILLNER, L. Seroconversion to hepatitis C virus in dialysis patients: a retrospective and prospective study. **Nephron**, v. 65, n. 1, p. 40–45, 1993.

MELLOR, J.; WALSH, E.A.; PRESCOTT, L.E.; JARVIS, L.M.; DAVIDSON, F.; YAP, P.L.; VOL. 45, 2007 GENOTYPING HCV BY SEQUENCE ANALYSIS OF NS5B 1111 and P. Simmonds. 1996. Survey of type 6 group variants of hepatitis C virus in southeast Asia by using a core-based genotyping assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, p. 417–423.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. HEPATITE C: O BRASIL ESTÁ ATENTO. 2008

MORISHIMA, C.; GRETCH, D.R. Clinical use of hepatitis C virus tests for diagnosis and monitoring during therapy. **Clinics in Liver Disease**, v. 3, p. 717–740, 1999.

MURPHY, D.G.; WILLEMS, B.; DESCHÊNES, M.; HILZENRAT, N.; MOUSSEAU, R.; SABBAH, S. Use of sequence analysis of the NS5B region for routine genotyping of hepatitis C virus with reference to C/E1 and 5' untranslated region sequences. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 1102–1112, 2007.

NAEINI, A.E.; ROSTAMI, M.; NAEINI, S.E. Chronic viral hepatitis and their relation to ABO blood groups and rhesus (Rh) factor. **Medical Case Studies**, v. 1, n. 1, p. 5-7, 2010.

NARCISO-SCHIAVON, J.L.; SCHIAVON, L.L.; CARVALHO-FILHO, R.J.; FREIRE, F.C.F.; CARDOSO, J.R.; BORDIN, J.O.; SILVA, A.E.B.; FERRAZ, MLG. Antihepatitis C virus-positive blood donors: are women any different? **Transfusion Medicine**, v. 18, n. 3, p. 175-183, 2008.

NARDOZZA, L.M.M.; SZULMAN, A.; BARRETO, J.A.; JUNIOR, E.A.; MORON, A.F. The molecular basis of RH system and its applications in obstetrics and transfusion medicine. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.56, n. 6, p. 724-728, 2010.

NASCIMENTO, M.C.; MAYAUD, P.; SABINO, E.C.; TORRES, K.L.; FRANCESCHI, S. Prevalence of hepatitis B and C serological markers among first-time blood donors in Brazil: a multi-center serosurvey. **Journal of Medical Virology**, v. 80, n. 1, p. 53-57, 2008.

National Institutes of Health (NIH) Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002. **NIH Consensus and State-of-the-Science Statements**, v. 19, p. 1–46, 2002.

NELSON, D.R. The immunopathogenesis of hepatitis C virus infection. **Clinics in Liver Disease**, v. 5, p. 931e953, 2001.

NEUMANN, A.U.; LAM, N.P.; DAHARI, H.; GRETCH, D.R.; WILEY, T.E.; LAYDEN, T.J.; PERELSON, A.S. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. **Science**, v. 282, n. 5386, p. 103-7. 1998.

NGUYEN, N.H.; VUTIEN, P.; TRINH, H.N.; GARCIA, R.T.; NGUYEN, L.H.; NGUYEN, H.A.; NGUYEN, K.K.; NGUYEN, M.H. Risk factors, genotype 6 prevalence, and clinical characteristics of chronic hepatitis C in Southeast Asian Americans. **Hepatology International**, v. 4, n. 2, p. 523-529, 2010.

NOLTE, F.S. Hepatitis C virus genotyping: clinical implications and methods. **Molecular Diagnosis**, v. 6, n. 4, p. 265–277, 2001.

NOVARETTI, M.C.; DOMINGUES, A.E.; MANHANI, R.; PINTO, E.M.; DORLHIAC-LLACER, P.E.; CHAMONE, D.A. ABO genotyping in leukemia patients reveals new ABO variant alleles. **Genetic and Molecular Research**, v. 7, n. 1, p. 87-94, 2008.

OLIVEIRA-FILHO, A.; PIMENTA, A.S.C.; ROJAS, M.F.M.; CHAGAS, M.C.M.; CRESCENTE, J.A.B.; CRESPO, D.M.; LEMOS, J.A.R. Prevalence and genotyping of hepatitis C virus in blood donors in the state of Pará, Northern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.105, n.1, p. 103-106, 2010a.

OLIVEIRA-FILHO, A.B.; PIMENTA, A.S.C.; ROJAS, M.F.M.; CHAGAS, M.C.M.; CRESPO, D.M.; CRESCENTE, J.A.B.; LEMOS, J.A.R. Likely transmission of hepatitis C virus through sharing of cutting and perforating instruments in blood donors in the State of Pará, Northern Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, n. 4, p. 837-844, 2010b.

ORIO, R. ABO, Hh, Lewis and Secretion: serology, genetics and tissue distribution. In: Cartron JP, Rouger P. Blood Cell Biochemistry: molecular basis of human blood group antigens. New York: Plenum, 1995:37-73.

OWEN, D.M.; HUANG, H.; YE, J.; GALE Jr, M. Apolipoprotein E on hepatitis C virion facilitates infection through interaction with low-density lipoprotein receptor. **Virology**, v. 394, n. 1, p. 99-108, 2009.

PAWLOTSKY, J.M. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5, suppl. 1, p. S65–S73, 2002.

PAWLOTSKY, J.-M.; PRESCOTT, L.; SIMMONDS, P.; PELLET, C.; LAURENT-PUIG, P.; LABONNE, C.; DARTHUY, F.; REMIRE, J.; DUVAL, J.; BUFFET, C.; ETIENNE, J.-P.; DHUMEAUX, D.; DUSSAIX, E. Serological determination of hepatitis C virus genotype: Comparison with a standardized genotyping assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 7, p. 1734-9, 1997.

PEREZ, C.M.; SUAREZ, E.; TORRES, E.A.; ROMAN, K.; COLON, V. Seroprevalence of hepatitis C virus and associated risk behaviours: a population-based study in San Juan, Puerto Rico. **International Journal of Epidemiology**, v. 34, n. 3, p. 593-9, 2005.

PÉREZ-RUIZ, L.; RAMOS-CEDEÑO, A.M.; BOBILLO-LÓPEZ, H.; FERNÁNDEZ-ÁGUILA, J.D. Grupos sanguíneos ABO, RhD y esclerosis múltiple. **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia**, v. 27, n. 2, p. 244-251, 2011.

POUJOL-ROBERT, A.; BOËLLE, P.-Y.; WENDUM, D.; POUPON, R.; ROBERT, A. Association Between ABO Blood Group and Fibrosis Severity in Chronic Hepatitis C Infection. **Digestive Disease and Sciences**, v. 51, n. 9, p. 1633–1636, 2006.

RACE, R.R.; SANGER, R. **Blood groups in man**. 6 ed. Oxford: Blackwell; 1975.

REID, M.E.; LOMAS-FRANCIS, C. **The Blood Group Antigen: Facts Book**. New York: Academic Press, 1997, p. 5.

ROFFI, L.; REDAELLI, A.; COLLOREDO, G.; MINOLA, E.; DONADA, C.; PICCIOTTO, A.; RIBOLI, P.; DEL POGGIO, P.; RINALDI, G.; PARIS, B.; FORNACIARI, G.; GIUSTI, M.; MARIN, R.; MORALES, R.; SANGIOVANNI, A.; BELLONI, G.; POZZI, M.; POLI, G.; MASCOLI, N.; CORRADI, C.; PIOLTELLI, P.; SCALORI, A.; MANCIA, G. Outcome of liver disease in a large cohort of histologically proven chronic hepatitis C: influence of HCV genotype. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 13, n. 5, p. 501-506, 2001.

ROWE, J.A.; HANDEL, I.G.; THERA, M.A.; DEANS, A.M.; LYKE, K.E.; KONÉ, A.; DIALLO, D.A.; RAZA, A.; KAI, O.; MARSH, K.; PLOWE, C.V.; DOUMBO, O.K.; MOULDS, J.M. Blood group O protects against severe Plasmodium falciparum malaria through the mechanism of reduced rosetting. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 104, n. 44, p. 17471-6, 2007.

SAWADA, L.; PINHEIRO, A.C.C.; LOCKS, D.; PIMENTA, A.S.C.; REZENDE, P.R.; CRESPO, D.M.; CRESCENTE, J.A.B.; LEMOS, J.A.R.; OLIVEIRA-FILHO, A.B. Distribution of hepatitis C virus genotypes among different exposure categories in the State of Pará, Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 1, p. 8-12, 2011.

SCHIFF, E.R.; DE MEDINA, M.; KAHN, R.S. New perspectives in the diagnosis of hepatitis C. **Seminars in Liver Disease**, v. 19, p. 3-15, 1999.

SIMMONDS, P., BUKH, J., COMBET, C., DELEAGE, G., ENOMOTO, N., FEINSTONE, S., HALFON, P., INCHAUSPE, G., KUIKEN, C., MAERTENS, G., MIZOKAMI, M., MURPHY, D.G., OKAMOTO, H., PAWLITSKY, J.M., PENIN, F., SABLON, E., SHIN-I, T., STUYVER, L.J., THIEL, H.J., VIAZOV, S., WEINER, A.J., WIDELL, A. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 42, n. 4, p. 962-973, 2005.

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**, v. 74 (Pt 11), p. 2391-2399, 1993.

SIMMONDS, P.; SMITH, D.B.; McOMISH, F.; YAP, P.L.; KOLBERG, J.; URDEA, M.S.; HOLMES, E.C. Identification of genotypes of hepatitis C virus by sequence comparisons in the core, E1 and NS-5 regions. **Journal of General Virology**, v. 75, n. 5, p. 1053-1061, 1994.

SIZOVA, D.V.; KOLUPAEVA, V.G.; PESTOVA, T.V.; SHATSKY, I.N.; HELLEN, C.U.T. Specific interaction of eukaryotic translation initiation factor 3 with the 5' nontranslated regions of hepatitis C virus and classical swine fever virus RNAs. **Journal of Virology**, v. 72, n. 6, p. 4775-4782, 1998.

SHAO, C.P.; XIONG, W. A new hybrid RHD-positive, D antigen-negative allele. **Transfusion Medicine**, v. 14, n. 2, p. 185-186, 2004.



SIMSEK, S.; FAAS, B.H.; BLEEKER, P.M.; OVERBEEKE, M.A.; CUIJPERS, H.T.; VAN DER SCHOOT, C.E.; VON DEM BORNE, A.E. Rapid RhD genotyping by polymerase chain reaction-based amplification of DNA. **Blood**, v. 29, n. 10, p. 75-80, 1995.

SLOVIN, S.F.; RAGUPATHI, G.; MUSSELLI, C.; FERNANDEZ, C.; DIANI, M.; VERBEL, D.; DANISHEFSKY, S.; LIVINGSTON, P.; SCHER, H.I. Thomsen-Friedenreich (TF) antigen as a target for prostate cancer vaccine: clinical trial results with TF cluster (c)-KLH plus QS21 conjugate vaccine in patients with biochemically relapsed prostate cancer. **Cancer immunology and immunotherapy**, v. 54, n. 7, p. 694-702, 2005.

SMART, E.; ARMSTRONG, B. Blood group systems. **International Society Blood Transfusion (ISBT) Science Series**, v. 3, p. 68-92, 2008.

SOZA, A.; ARRESE, M.; GONZALEZ, R.; ALVAREZ, M.; PEREZ, R.M.; CORTES, P.; PATILLO, A.; RIQUELME, A.; RIQUELME, A. Clinical and epidemiological features of 147 Chilean patients with chronic hepatitis C. **Annals of Hepatology**, v. 3, n. 4, p. 146-51, 2004.

STÉPHANE, C.; PAWLITSKY, J.-M. Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and management of antiviral therapy. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 17, p. 2461-6, 2007.

STRADER, D.B.; WRIGHT, T.L.; THOMAS, D.L.; SEEFF, L.B. Diagnóstico, manejo e tratamento da hepatite C. **Hepatology**, v. 39, p. 1147-1171, 2004.

STRAUSS, E. Hepatite C. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 1, p. 69-82, 2001.

STUYVER, L.; WYSEUR, A.; VAN ARNHEM, W.; HERNANDEZ, F.; MAERTENS, G. Second-generation line probe assay for hepatitis C virus genotyping. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 9, p. 2259-2266, 1996.

SULKOWSKI, M.S.; THOMAS, D.L. Hepatitis C in the HIV-infected person. **Annals of Internal Medicine**, v. 138, n. 3, p. 197-207, 2003.

SY, T.; JAMAL, M.M. Epidemiology of Hepatitis C Virus (HCV) Infection. **International Journal of Medical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 41-46, 2006.

TAMALET, C.; COLSON, P.; TISSOT-DUPONT, H.; HENRY, M.; TOURRES, C.; TIVOLI, N.; BOTTA, D.; RAVAUX, I.; POIZOT-MARTIN, I.; YAHI, N. Genomic and phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates: a survey of 535 strains circulating in southern France. **Journal of Medical Virology**, v. 71, n. 3, p. 391-398, 2003.

TAMEGA, A.A.; BEZERRA, L.V.G.S.P.; PEREIRA, F.P.P.; MIOT, H.A. Grupos sanguíneos e lúpus eritematoso crônico discóide. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 84, n. 5, p. 477-481, 2009.

TELFER, P.T.; DEVEREUX, H.; SAVAGE, K.; SCOTT, F.; DHILLON, A.P.; DUSHEIKO, G.; LEE, C.A. Chronic hepatitis C virus infection in haemophilic patients: clinical significance of viral genotype. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 74, n. 5, p. 1259-1264, 1995.

TILLEY, L.; GREEN, C.; POOLE, J.; GASKELL, A.; RIDGWELL, K.; BURTON, N.M.; UCHIKAWA, M.; TSUNEYAMA, H.; OGASAWARA, K.; AKKOK, C.A.; DANIELS, G. A new blood group system, RHAG: three antigens resulting from amino acid substitutions in the Rh-associated glycoprotein. **Vox Sanguinis**, v. 98, n. 2, p. 151-159, 2010.

TOLEDO JR., A.C.; GRECO, D.B.; FELGA, M.; BARREIRA, D.; GADELHA, M.F.S.; SPERANZA, F.A.B. Seroprevalence of Hepatitis B and C in Brazilian army conscripts in 2002: a cross-sectional study. **Brazilian Journal Infectious Diseases**, v. 9, n. 5, p. 374-383, 2005.

TOUZET, S.; KRAEMER, L.; COLIN, C.; PRADAT, P.; LANOIR, D.; BAILLY, F.; COPPOLA, R.C.; SAULEDA, S.; THURSZ, M.R.; TILLMANN, H.; ALBERTI, A.; BRACONIER, J.H.; ESTEBAN, J.I.; HADZIVANNIS, S.J.; MANNNS, M.P.; SARACCO, G.; THOMAS, H.C.; TREPO, C. Epidemiology of hepatitis C virus infection in seven European Union countries: a critical analysis of the literature. HENCORE Group (Hepatitis C European Network for Cooperative Research). **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 12, n. 6, p. 667-678, 2000.

UMIT, T.; TIFTIK, E.N.; SAKIR, U.; OZRUR, G.; TAMER, I.K.; HANDAN, C. Relationship between ABO blood group and skin. **Dermatology Online Journal**, v. 11, n. 3, p. 1-6, 2008.

VANDELLI, C.; RENZO, F.; ROMANO, L.; TISMINETZKY, S.; De PALMA, M.; STROFFOLINI, T.; VENTURA, E.; ZANETTI, A. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 99, n. 5, p. 855-9, 2004.

WAGNER, F.F.; FLEGEL, W.A. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. **Immunohematology**, v. 20, n. 1, p. 23-36, 2004.

WAGNER, F.F.; FLEGEL, W.A. RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. **Blood**, v. 95, n. 12, p. 3662-8, 2000.

WALTERS, K.A.; SYDER, A.J.; LEDERER, S.L.; DIAMOND, D.L.; PAEPER, B.; RICE, C.M.; KATZE, M.G. Genomic analysis reveals a potential role for cell cycle perturbation in HCV-mediated apoptosis of cultured hepatocytes. **PLoS Pathogens**, v. 5, n. 1, e1000269, p. 1-13, 2009.

WANG, D.; LONG, J.; DAI, F.; LIANG, M.; FENG, X.H.; LIN, X. BCL6 represses Smad signaling in transforming growth factor-beta resistance. **Cancer Research**, v. 68, p. 783e789, 2008.

WHITE, D.L.; RATZIU, V.; EL-SERAG, H.B. Hepatitis C infection and risk of diabetes: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Hepatology**, v. 49, n. 5, p. 831–844, 2008.

WIENER, A.S.; PETERS, H.R. Hemolytic reactions following transfusions of blood of the homologous group, with three cases in which the same agglutinin was responsible. **Annals of Internal Medicine**, v. 13, p. 2306-22, 1940.

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANIZATION. Disponível em:  
<<http://www.omge.org/>>. Acessado em: 16/09/07)

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 6, p. 35–47, 1999.

WHO Hepatitis C - global prevalence (update). **Weekly Epidemiological Record**, v. 74, p. 425-7, 1999.

YAMAMOTO, F.; McNEILL, P.D.; HAKOMORI, S. Genomic organization of human histo-blood ABO genes. **Glycobiology**, v. 5, p. 51-8, 1995.

YAMAMOTO, F: Review: ABO blood group system – ABH oligosaccharide antigens, anti-A and anti-B, A and B glycosyltransferases and ABO genes. **Immunohematology**, v. 20, n.1, p. 3-22, 2004.

ZAMPIERON, A.; JAYASEKERA, H.; ELSEVIERS, M.; LINDLEY, E.; De VOS, J.Y.; VISSER, R.; HARRINGTON, M. European study on epidemiology and the management of HCV in the haemodialysis population - Part 1: centre policy. *EDTNA/ERCA Journal (English ed.)*, v. 30, n. 2, p. 84-90, 2004.

ZEIN, N.N.; PERSING, D.H. Hepatitis C Genotypes: current trends and future implications. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 71, n. 5, p. 458-462, 1996.

ZUCKERMAN, A.J.; McDONALD, J.C. ABO blood group and acute hepatitis. **British Medical Journal**, v. 2, n. 5356, p. 537–538, 1963.

## APÊNDICE

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Título: Associação do vírus da Hepatite C com o grupo sanguíneo ABO em doadores de sangue da Fundação Hemopa, Pará, Brasil**

#### Esclarecimentos sobre a Pesquisa

Sr(a) está sendo convidado(a) para participar voluntariamente desta pesquisa que tem como **objetivo** investigar se a presença do grupo sanguíneo ABO pode estar relacionada com o desenvolvimento da hepatite C.

Caso você aceite participar, será pesquisado no banco de dados da Fundação Hemopa, Sistema de Banco de Sangue (SBS) dados epidemiológicos e demográficos, como, idade, gênero, cor da pele, naturalidade, município de nascimento além de dados laboratoriais como: tipo sanguíneo ABO e Rh, sorologia para anti-HCV e Reação em cadeia da polimerase (PCR).

A pesquisa terá duração de dois anos, com término previsto para Março de 2012.

Os **dados coletados** serão tratados de forma **anônima e confidencial**, isto é, em nenhum momento será divulgado o seu nome em qualquer fase do estudo. Estes dados serão utilizados apenas **NESTA** pesquisa e os resultados divulgados em eventos e/ou revistas científicas.

Sua participação é **voluntária**, isto é, a qualquer momento você pode **recusar-se ou** desistir de participar da pesquisa e **retirar seu consentimento**. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em relação com o pesquisador ou com a instituição.

Sua **participação** nesta pesquisa consistirá em autorizar a coleta de dados já obtidos pela Fundação Hemopa no momento de sua doação de sangue. Não terá nenhum **custo ou quaisquer compensações financeiras**. O **benefício** relacionado à sua participação será de aumentar o conhecimento científico para a área da saúde.

Sr(a) receberá uma cópia deste termo onde consta celular/e-mail do pesquisador responsável, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação. Desde já agradeço!

Consentimento:

Declaro que li e compreendi as informações sobre a pesquisa e estou de acordo em participar do estudo proposto, sabendo que dele poderei desistir a qualquer momento, sem sofrer qualquer punição ou constrangimento.

Belém, \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/2012.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Paciente



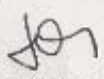
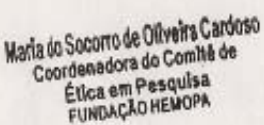
\_\_\_\_\_  
Letícia de Souza Nóbrega  
(Pesquisador responsável)

Endereço do pesquisador: Tv. Angustura, 3278. Aptº. 1101. Belém –Pa,. Celular: (91) 81170333.

e-mail: leticianobrega@yahoo.com.br

Fundação Hemopa - Av. Serzedelo Corrêa, nº 2109, Batista Campos - Fone:32429100.

**ANEXO****Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Fundação Hemopa**

	<b>MINISTÉRIO DA SAÚDE</b> Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa	 <b>FUNDAÇÃO HEMOPA</b> <b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA</b>
<b>Parecer Consubstanciado</b>		
Belém, 25 de janeiro de 2012.		
Parecer nº 0020.0.324.000-11		
<p>O projeto "Associação do vírus da Hepatite C com o grupo sanguíneo ABO em doadores de sangue da Fundação HEMOPA, PARÁ, BRASIL", da pesquisadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Luísa Carício Martins, da Universidade Federal do Pará, foi recebido neste CEP em 19 / 10 /2011, apresentou todos os documentos exigidos, tendo então sido levado à análise prévia de dois membros do comitê, cujos pareceres foram considerados como base para fundamentação do parecer final.</p>		
<p>O referido protocolo de pesquisa demonstra o compromisso do(a) coordenador(a) de que o mesmo seja executado de acordo com o cronograma proposto, estando bem estruturado nos seus aspectos metodológicos e éticos, com bibliografia pertinente e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de boa compreensão e entendimento para o sujeito da pesquisa. Estando de acordo com a Res. CNS 196/96.</p>		
Parecer final: FAVORÁVEL.		
		
Prof <sup>a</sup> MSc. Maria do Socorro de Oliveira Cardoso Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Fundação HEMOPA Travessa Padre Eutíquio 2109, CEP 66033-000 - Belém-Pará Fone: 91 3242 9100      Ramal: 361		
 Maria do Socorro de Oliveira Cardoso Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa FUNDAÇÃO HEMOPA		