



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

MARIA IZABEL LEITE DA SILVA

**PREVALÊNCIA DE HEPATITE C EM PACIENTES EM TERAPIA DE
SUBSTITUIÇÃO RENAL NA CIDADE DE IMPERATRIZ óMARANHÃO**

**IMPERATRIZ/MA
2012**

MARIA IZABEL LEITE DA SILVA

**PREVALÊNCIA DE HEPATITE C EM PACIENTES EM TERAPIA DE
SUBSTITUIÇÃO RENAL NA CIDADE DE IMPERATRIZ Ó MARANHÃO**

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.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª. Luisa Carício Martins

**IMPERATRIZ/MA
2012**



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

MARIA IZABEL LEITE DA SILVA

**PREVALÊNCIA DE HEPATITE C EM PACIENTES EM TERAPIA DE
SUBSTITUIÇÃO RENAL NA CIDADE DE IMPERATRIZ Ó MARANHÃO**

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.

Banca Examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Luisa Carício Martins
Orientadora NMT/UFPA

Prof^ª. Dr^ª. Maria da Conceição Pinheiro
Membro NMT/ UFPA

Prof^ª. Dr^ª. Hellen Thais Fuzii
Membro NMT/UFPA

Prof^ª. Dr^ª.Edna Aoba Yassui Ishikawa
Membro NMT/UFPA

Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto
Suplente ICS/UFPA

**IMPERATRIZ/MA
2012**

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

Silva, Maria Izabel Leite da.

Prevalência de hepatite C em pacientes em terapia de substituição renal na cidade de Imperatriz-Maranhão / Maria Izabel Leite da Silva; orientadora, Luisa Carício Martins. ó 2012.

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

1. Hepatite C ó Fatores de risco - Imperatriz (MA). 2. Hemodiálise ó Pacientes ó Imperatriz (MA). 3. Vírus da hepatite C ó Imperatriz (MA). I. Martins, Luisa Carício, orient. II. Título.

CDD: 22. ed. 616.3623

Ficha catalográfica elaborada por Valdenira Moreira, NMT/UFPA

À família Fernandes e Leite, pelo apoio em todas as etapas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus, fonte inesgotável de amor.

À CDR Imperatriz, minha segunda casa.

À Facimp, por me proporcionar oportunidade em realizar este curso.

Ao Dr. Antonio Alberto, muito mais que colega de trabalho.

À Andrinéa Fonseca, pela compreensão a mim dedicada ao longo desta etapa.

À Dra. Luisa Carício Martins, orientadora, que mostrou que é possível ser severa e compreensiva ao mesmo tempo.

À Amanda Fecury, pela essencial ajuda na realização das análises.

Luiza Rocha Queiroga, bioquímica, e colaboradores do Laboracin, pela preciosa ajuda com as amostras coletadas.

Ao meu falecido pai, pela amizade e amor incondicionais. Não tenho palavras para expressar a saudade que sinto.

Maria do Socorro Leite, amiga e mãe de todas as horas, obrigada pelo otimismo que me impulsiona e pela presença física no final deste trabalho.

Maria do Socorro Fernandes, avó, pelo carinho, espontaneidade e orações de todos os dias.

Déborah, irmã, pelas conversas de incentivo durante os finais de semana.

Rodrigo Leite, irmão, por ser igualzinho a mim.

Fabiana Soares e Jennifer Moura, técnicas em enfermagem, pela importante ajuda na etapa de coleta de dados.

Aos pacientes renais crônicos, meu profundo respeito e admiração pelo enfrentamento e superação diários. Obrigada por participarem da realização do meu sonho e por me ensinarem a ser mais humilde.

À Nina, Greg, Thor, Channel, Versace, Horácia, Sam e Molly, filhos, por tornarem todos os meus dias felizes.

Icaro Gabriel, afilhado, sua inocência e alegria são incentivos em minha vida.

Senhor, fazei-me instrumento de vossa paz.
Onde houver ódio, que eu leve o amor;
Onde houver ofensa, que eu leve o perdão;
Onde houver discórdia, que eu leve a união;
Onde houver dúvida, que eu leve a fé;
Onde houver erro, que eu leve a verdade;
Onde houver desespero, que eu leve a esperança;
Onde houver tristeza, que eu leve a alegria;
Onde houver trevas, que eu leve a luz.
Ó Mestre, fazei que eu procure mais
Consolar, que ser consolado;
Compreender, que ser compreendido;
Amar, que ser amado.
Pois, é dando que se recebe,
é perdoando que se é perdoado,
e é morrendo que se vive para a vida eterna.

São Francisco de Assis

RESUMO

A hepatite C é considerada um problema de saúde pública no Brasil e no mundo, com elevado risco de cronificação, além de complicações como adenocarcinoma hepatocelular e cirrose hepática. Os pacientes em hemodiálise têm elevado risco para infecção pelo vírus da hepatite C por motivos variados. Estudos apontam elevadas taxas de prevalência em unidades de diálise do mundo inteiro. No estado do Maranhão não há trabalhos que demonstrem o perfil do HCV na população de doentes renais crônicos. O principal objetivo deste estudo é avaliar a prevalência do vírus da Hepatite C nos pacientes submetidos a terapias de substituição renal na cidade de Imperatriz- Maranhão. Bem como, investigar os principais fatores de risco envolvidos na transmissão do HCV na população estudada. Trata-se de um estudo transversal, realizado na Clínica de Doenças Renais de Imperatriz, no período compreendido entre janeiro e dezembro de 2010. A população-alvo do estudo foi composta de 181 pacientes em terapia de substituição renal, hemodiálise ou diálise peritoneal. Foi utilizado um questionário elaborado para obtenção dos dados epidemiológicos e foi coletado amostra de sangue periférico, com o propósito de realizar a pesquisa para anticorpos anti-HCV e testes de Biologia Molecular para pesquisa de RNA viral e genotipagem. Os resultados demonstraram uma prevalência de 7,2% (13/181) para o HCV nos pacientes. Uma maior frequência do sexo masculino entre os portadores do HCV (92%). O fator de risco que se destacou foi o tempo de hemodiálise, onde 30,8% dos pacientes com mais de 15 anos de tratamento possuíam anticorpos contra o HCV e apresentaram alterações nos níveis de ALT. A prevalência da hepatite C foi elevada na unidade estudada. O tempo de tratamento dialítico foi considerado determinante para a positividade do vírus; o sexo masculino apresentou incidência mais elevada. Indivíduos com infecção crônica pelo HCV apresentaram níveis séricos de ALT mais elevados do que aqueles sem hepatite C crônica.

PALAVRAS-CHAVES: Hepatite C, Diálise, Fatores de Risco.

ABSTRACT

Hepatitis C is considered a public health problem in Brazil and worldwide, with a high risk of becoming chronic, and complications such as hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis. Patients on hemodialysis have a high risk for infection with hepatitis C for many reasons. Studies show high prevalence rates in dialysis units worldwide. In the state of Maranhao there's no studies showing the profile of HCV in the population of patients with chronic renal failure. The main objective of this study is to evaluate the prevalence of hepatitis C in patients undergoing renal replacement therapy in the city of Imperatriz-Maranhao. As well as to investigate the main risk factors involved in transmission of HCV in this population. This is a cross-sectional study conducted at a clinic of kidney diseases, the period between January and December 2010. The target population for the study consisted of 181 patients on renal replacement therapy, hemodialysis or peritoneal dialysis. We used a questionnaire designed to obtain epidemiological data was collected peripheral blood sample, in order to perform the search for anti-HCV testing and molecular biology research and genotyping of viral RNA. The results showed a prevalence of 7.2% (13/181) in HCV patients. A higher frequency of males among patients with HCV (92%). The risk factor that stood out was the duration of hemodialysis, where 30.8% of patients over 15 years of treatment had antibodies against HCV and had abnormal ALT levels. The prevalence of Hepatitis C was high in the study unit. The duration of dialysis was considered crucial for the positivity of the virus, males had higher incidence. Individuals with chronic HCV infection had ALT levels higher than those without chronic hepatitis C infection.

KEYWORDS: Hepatitis C, Dialysis, Risk Factors.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Dados de caracterização da amostra, incluindo as variáveis gênero, idade e tipo de tratamento dos pacientes renais crônicos participantes do estudo	27
TABELA 2: Diagnóstico da causa da doença renal crônica nos 181 pacientes estudados entre janeiro e dezembro de 2011	28
TABELA 3: Distribuição da amostra segundo dados sócio-epidemiológicos	28
TABELA 4: Distribuição da amostra segundo os fatores de risco para o HCV	29
TABELA 5: Distribuição da amostra segundo os resultados sorológicos para o HCV	30
TABELA 6: Comparação das variáveis estudadas entre os pacientes reagentes e não reagentes na pesquisa sorológica de anticorpos HCV específicos	31
TABELA 7: Comparação das variáveis estudadas entre os pacientes reagentes e não reagentes na pesquisa sorológica de anticorpos HCV específicos	32

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Prevalência mundial da Hepatite C	17
Figura 2: Prevalência da Hepatite C no Brasil	18
Quadro 1: Dados de hepatites virais notificados no Brasil entre 1999 e 2010	18
Figura 3: Estrutura do HCV	20
Figura 4: Estrutura do genoma do HCV	21
Figura 5: Árvore filogenética de sequências do genoma completo do HCV representando os 6 genótipos.	22
Figura 6: Distribuição dos genótipos do HCV nas diferentes regiões do Brasil	23
Figura 7: Ciclo de vida do HCV	24
Figura 8: Fístula arteriovenosa	28
Figura 9: Cateter para hemodiálise	29
Figura 10: Esquema da hemodiálise	30
Figura 11: Diálise peritoneal	31
Figura 12: Transplante renal	32
Figura 13. Visualização de bandas do produto da PCR em gel de agarose observado em luz ultra-violeta.	37
Figura 14: Visualização da combinação dos cortes feitos pelas enzimas de restrição AVA II e RSA I. Nesta figura é possível observar os genótipos 1 e 3.	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

-IFN (interferon-alfa)

AC (Acre)

ALT (TGP ou alanina aminotransferase ou transaminase glutâmica pirúvica)

AST (TGO ou aspartato aminotransferase ou transaminase glutâmica oxalacética)

C (core)

DNA (ácido desoxirribonucleico)

E (envelope)

ELISA (ensaio imunoenzimático)

FAV (fístula arterio-venosa)

- GT (gama-glutamyltranspeptidase)

GP (glicoproteína)

HAV (vírus da hepatite A)

HBV (vírus da hepatite B)

HCC (carcinoma hepatocelular)

HCV (vírus da hepatite C)

HDV (vírus da hepatite D)

HEV (vírus da hepatite E)

HIV (vírus da imunodeficiência humana adquirida)

HNANB (hepatite não A não B)

IRC (Insuficiência Renal Crônica)

IFNc (interferon convencional)

Kb (quilo base)

MA (Maranhão)

MS (Ministério da Saúde)

Nm (nanômetro)

SUS (Sistema Único de Saúde)

OR (*odds ratio*)

ORF (matriz aberta de leitura)

PA (Pará)

RBV (Ribavirina)

PCR (reação em cadeia da polimerase)

RdRp (RNA polimerase RNA dependente)

RNA (ácido ribonucléico)

RT-PCR (reação da transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase)

TCLE (termo de consentimento livre e esclarecido)

UFPA (Universidade Federal do Pará)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. JUSTIFICATIVA.....	17
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1.HEPATITES VIRAIS.....	18
3.2.HEPATITE C.....	19
3.2.1. Epidemiologia do HCV.....	19
3.2.2. Genoma do HCV.....	21
3.2.3. Ciclo de Replicação do HCV.....	26
3.2.4. Tratamento da Hepatite C.....	27
3.3.HEPATITES EM UNIDADES DE DIÁLISE.....	28
3.4.O PACIENTE RENAL CRÔNICO.....	29
4. OBJETIVOS.....	34
4.1.OBJETIVO GERAL.....	34
4.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
5.1.TIPO DE ESTUDO.....	35
5.2.LOCAL DA PESQUISA.....	35
5.3.POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	35
5.4.CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	36
5.5.CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	36
5.6.AVALIAÇÃO ÉTICA.....	36
5.7.OBTENÇÃO DOS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	36
5.8.COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	37
5.9.PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....	37
5.10.ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
6. RESULTADOS.....	45
6.1.CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	45
6.2.DADOS SÓCIO-EPIDEMIOLÓGICOS.....	46
6.3.FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO DO HCV.....	47
6.4.DIAGNÓSTICO DO HCV.....	48
6.5.COMPARAÇÃO DAS CAUSAS DA IRC COM A POSITIVIDADE PARA O HCV.....	49
6.6.COMPARAÇÃO DAS VARIÁVEIS ENTRE OS DIFERENTES GRUPOS DE DIAGNÓSTICO.....	49
7. DISCUSSÃO.....	52
8. CONCLUSÃO.....	55
9. REFERÊNCIAS.....	56
10. APÊNDICES.....	60
11. ANEXOS.....	63

1. INTRODUÇÃO

As hepatites virais são um grande problema de saúde pública em todo mundo, provocadas por diferentes agentes etiológicos, com tropismo primário pelo tecido hepático, apresentando semelhanças entre as características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais, porém com particularidades importantes (BRASIL, 2008).

A infecção crônica pelo vírus da hepatite C (HCV) atinge mais de 170 milhões de pessoas em todo o mundo e é indicativo de transplante de fígado nos Estados Unidos e Europa (CHARLES e DUSTIN, 2009; TELAKU et al, 2009, ALTER, 2007; EDEY, BARRACLOUGH e JOHNSON, 2010).

A contaminação pelo HCV ocorre predominantemente através da via parenteral. Alguns grupos foram citados por Alter (2007) como predisponentes à contaminação com o HCV. São eles: pacientes que recebem transfusão sanguínea, múltiplos parceiros sexuais, usuários de drogas injetáveis e pessoas com várias exposições parenterais, dentre as quais destacam-se os pacientes renais crônicos, especialmente aqueles que têm a hemodiálise como terapia de escolha.

O HCV é o agente causal de mais de 90% das hepatites pós-transfusionais. Assim, todas as pessoas que receberam transfusão até o início dos anos 90, com ou sem história de hepatite, devem ser avaliadas para provável contaminação pelo HCV (BABINSKI et al, 2008). No Brasil há obrigatoriedade nos testes anti-HCV em todos os candidatos a doadores de sangue desde 1993, fato que reduziu a incidência desse vírus; porém as outras vias de contaminação continuam preocupando as autoridades.

Do total de casos de hepatite C registrados entre 1999 e 2010, 47.830 foram na região Sudeste e 15.095, na Sul. Juntas, essas duas regiões concentram 90% dos casos confirmados no país. As taxas de incidência mais elevadas também se concentram nessas regiões. Enquanto o

país registrou incidência de 5,3 casos/ 100 mil habitantes confirmados para hepatite C, em 2009, a região Sudeste apresentou 8,3 e a Sul, 7,4 casos/ 100 mil habitantes (BRASIL, 2011).

No estado do Maranhão, 230 casos foram confirmados na série histórica dos anos de 1999 a 2010, sendo 63 nesse último ano. A taxa de detecção no Brasil, em 2009, foi de 5,3 casos por 100 mil habitantes, para a região Nordeste foi de 1,2 e para o Maranhão, 0,5 (BRASIL, 2011).

Estima-se que 5-20% dos pacientes infectados com o vírus da hepatite C desenvolverão cirrose e de 1 a 4% desenvolvem anualmente adenocarcinoma hepatocelular (MOHAMED, 2010).

Os pacientes em hemodiálise têm elevado risco para infecção pelo vírus da hepatite C devido ao número de hemotransfusões a que são submetidos, além de acesso vascular prolongado e a exposição a outros pacientes infectados e equipamentos contaminados (TELAKU et al, 2009; MEDEIROS et al, 2004; PENIDO, 2006; MOHAMED,2010). Mina et al (2010) e Vaisbich et al. (1998) apontam o carcinoma hepatocelular e cirrose hepática como as principais conseqüências destas infecções na população de pacientes renais crônicos, além de desenvolverem curso crônico da doença.

2. JUSTIFICATIVA

A importância em se estudar o vírus da hepatite C em pacientes renais crônicos está no difícil diagnóstico de infecção aguda pelo HCV, devido o longo período de janela imunológica e também por esta população apresentar níveis mais baixos de ALT do que a população com função renal normal, apresentando aumento discreto durante a infecção aguda pelo vírus, nem sempre atingindo o nível superior de normalidade (CARNEIRO et al. 2001).

Pacientes em hemodiálise apresentam alto risco de contrair o vírus da hepatite C (HCV). Estes têm uma tendência aumentada para se tornar portadores crônicos do HCV e também para ser reservatório potencial para a sua transmissão, possivelmente contribuindo para a propagação nosocomial do HCV em centros de diálise. Além disso, a hepatite C parece aumentar a taxa de mortalidade neste grupo de pacientes (AMORIM et al, 2010).

Adicionalmente, pacientes portadores do HCV em terapia renal de substituição apresentam risco de mortalidade maior que os pacientes não reagentes (ESPINOSA et al, 2001). Até o momento, não há estudos suficientes que demonstrem o perfil destes pacientes na cidade de Imperatriz-MA, como se comportam, tampouco as características do vírus nesta região, para que se possa comparar com outras realidades.

Partindo do exposto, realizou-se este estudo a fim de solucionar o questionamento sobre qual a prevalência do HCV em pacientes em tratamento na Clínica de Doenças Renais de Imperatriz-MA. Assim, espera-se contribuir com a melhoria de atividades preventivas de disseminação do vírus, além de esclarecer as equipes de saúde que atendem os clientes em unidades de hemodiálise em todo o estado.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Hepatites Virais

As hepatites virais são doenças infecciosas, de transmissibilidade inter-humana, evolução aguda ou crônica, que, pela sua elevada morbidade universal, constituem importante problema de saúde pública (VERONESI E FOCACCIA, 2004).

As formas agudas de hepatite podem evoluir de forma benigna, prolongada (benigna, porém com longo curso de doença) e grave (fulminante). Há formas intermediárias de hepatites agudas com insuficiência hepática transitória (VERONESI E FOCACCIA, 2004). A evolução das hepatites agudas benignas ocorre em quatro fases: período de incubação, fase prodrômica ou pré-ictérica, fase ictérica e fase convalescente.

O período de incubação consiste no tempo que medeia a penetração do vírus no organismo e o início dos sintomas e varia de acordo com o tipo de vírus: hepatite A, duas a seis semanas; hepatite B, de dois a seis meses; hepatite C, duas semanas a cinco meses; hepatite delta, ainda não totalmente esclarecida; hepatite E, duas a oito semanas; hepatites não A-E, ainda não determinadas (VERONESI, FOCACCIA, 2004).

Em meados de 1970, após o desenvolvimento de testes sorológicos para o diagnóstico das infecções pelos vírus das hepatites A e B, verificou-se que grande parte dos casos de hepatite pós-transfusional não apresentava marcadores sorológicos para esses agentes, recebendo então a denominação de hepatite não A e não B (HNANB), passando somente depois a chamar-se hepatite C.

3.2.Hepatite C

3.2.1 Epidemiologia do HCV

A prevalência da infecção pelo HCV é considerada baixa no Reino Unido, Escandinávia (0,01% a 0,1%), Américas, Europa Ocidental, Austrália e África do Sul (0,2% a 0,5%). Prevalências intermediárias são encontradas no Leste Europeu, Mediterrâneo, Oriente Médio e Índia. Outros países com prevalência intermediária incluem Brasil, Europa Oriental, partes da África e Ásia. O Egito possui alta prevalência de infecção pelo HCV (17% a 26%), além de Hubei, Mongólia e Paquistão (MARTINS et al, 2011) (Figura 1).

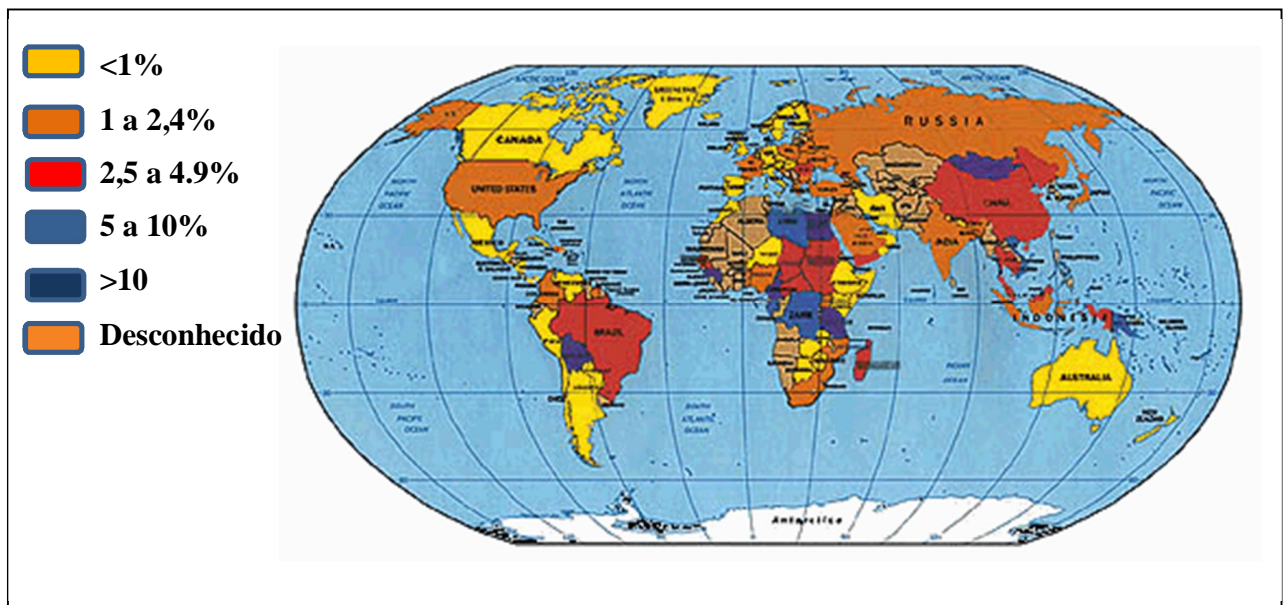


Figura 1: Prevalência mundial da Hepatite C

Fonte: JORGE, 2012

No Brasil encontram-se taxas semelhantes aos demais países do mundo. Segundo dados do Ministério da Saúde (MS), de 1999 a 2010 foram registrados um total de 307.446 casos, sendo 69.952 casos só do HCV (Quadro 1). Toledo Jr. et al (2005) investigaram a soroprevalência do HCV nas diferentes regiões brasileiras. Como resultado obtiveram maior incidência nos estados da região norte e sul, conforme explícito na figura 2.

Hepatite	Número de casos
A	130.354
B	104.454
C	69.952
D	1.812
E	874

Quadro 1: Dados de hepatites virais notificados no Brasil entre 1999 e 2010
 Fonte: Brasil, 2011

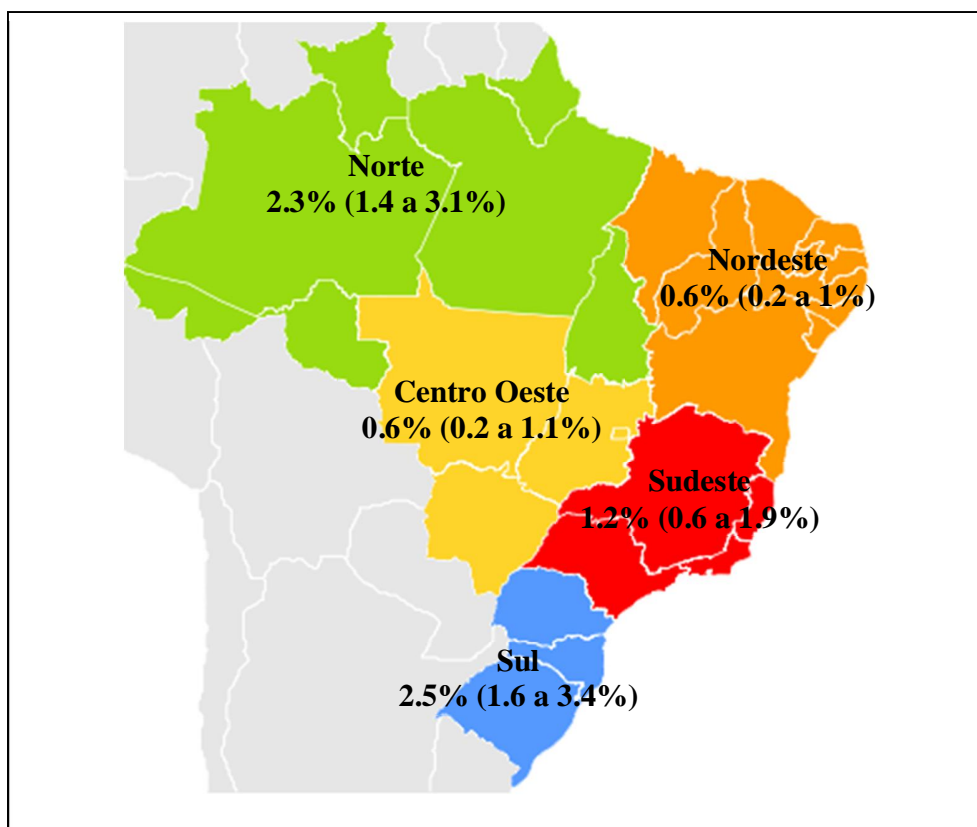


Figura 2: Prevalência da Hepatite C no Brasil
 Fonte: Adaptado de TOLEDO JÚNIOR et al, 2005

3.2.2 Genoma do HCV

A sequência completa do vírus da hepatite C (HCV) foi determinada pelo isolamento de vários clones parcialmente complementares através de hibridizações com os clones prévios. Nesta sequência, encontra-se uma única longa fase de leitura aberta, que compreende quase todo o genoma e codifica uma poliproteína de pouco mais de 3000 aminoácidos. O vírus HCV possui regiões não traduzidas nas extremidades 5' e 3' do genoma viral (CHOO E PINHO, 2007).

O HCV possui habilidade de apresentar mutações frente à pressão do sistema imunológico, o que lhe confere grande variedade genética. Atualmente são conhecidos 6 genótipos distintos e numerosos subtipos, sendo o genótipo 1 o mais resistente a tratamento (VASCONCELOS, 2006; SABAHI, 2009).

O vírus da hepatite C é um RNA de fita simples com polaridade positiva e cerca de 9400 nucleotídeos, pertencente à família *Flaviviridae*, gênero *hepacivirus*, clonado por Choo e colaboradores em 1989. O vírus tem sua replicação no citoplasma dos hepatócitos. Sua estrutura é composta por uma região central denominada core, onde está presente o material genético, que é revestida por um material protéico e um envelope externo composto por lipídeos e glicoproteínas E1 e E2 (figura 3). As proteínas do core e as glicoproteínas E1 e E2 são as principais proteínas do virion (NAKATANI, 2008; SABAHI, 2009; PERONE et al, 2008).

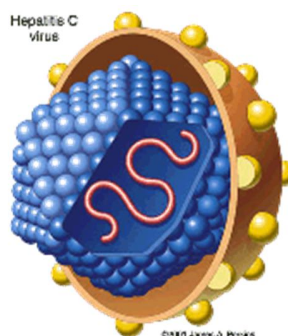


FIGURA 3: Estrutura do HCV

FONTE: JORGE, 2011

O genoma do HCV contém uma única fase de leitura aberta (ORF, *open reading frame*) que codifica para uma poliproteína de cerca de 3000 aminoácidos. Possui duas regiões não traduzidas: 5'UTR com aproximadamente 341 nucleotídeos; e região 3'UTR com aproximadamente 230 nucleotídeos (Figura 4). A região 3'UTR (região não traduzida) é composta de uma região variável de 80 nucleotídeos, um trato poli U/UC, de comprimento variável e uma região altamente conservada de aproximadamente 98 nucleotídeos chamada cauda X, importantes para a replicação e infecciosidade do HCV (TANAKA et al, 1996).

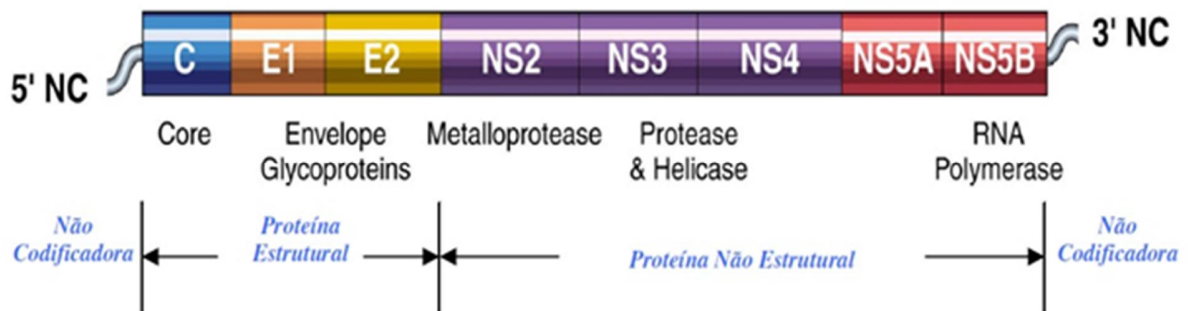


Figura 4: Estrutura do genoma do HCV

Fonte: Cherubini, 2005

O vírus HCV possui vasta variedade genômica. Algumas regiões do genoma (E1 e E2) são variáveis enquanto outras (5'UTR) são mais estáveis. Tem-se descrito variações de até 51% na sequência de aminoácidos da proteína E1 em diferentes isolados do vírus, o que permitiu classificar o vírus C em seis grupos ou genótipos, numerados de 1 a 6, que diferem uns dos outros 30-35% ao nível nucleotídico, conforme ilustra a figura 5 (PERONE et al, 2008). Por sua vez, cada um destes genótipos possui uma série de subtipos (> 80 no total), designados por letras, que diferem uns dos outros 20-25% ao nível nucleotídico.

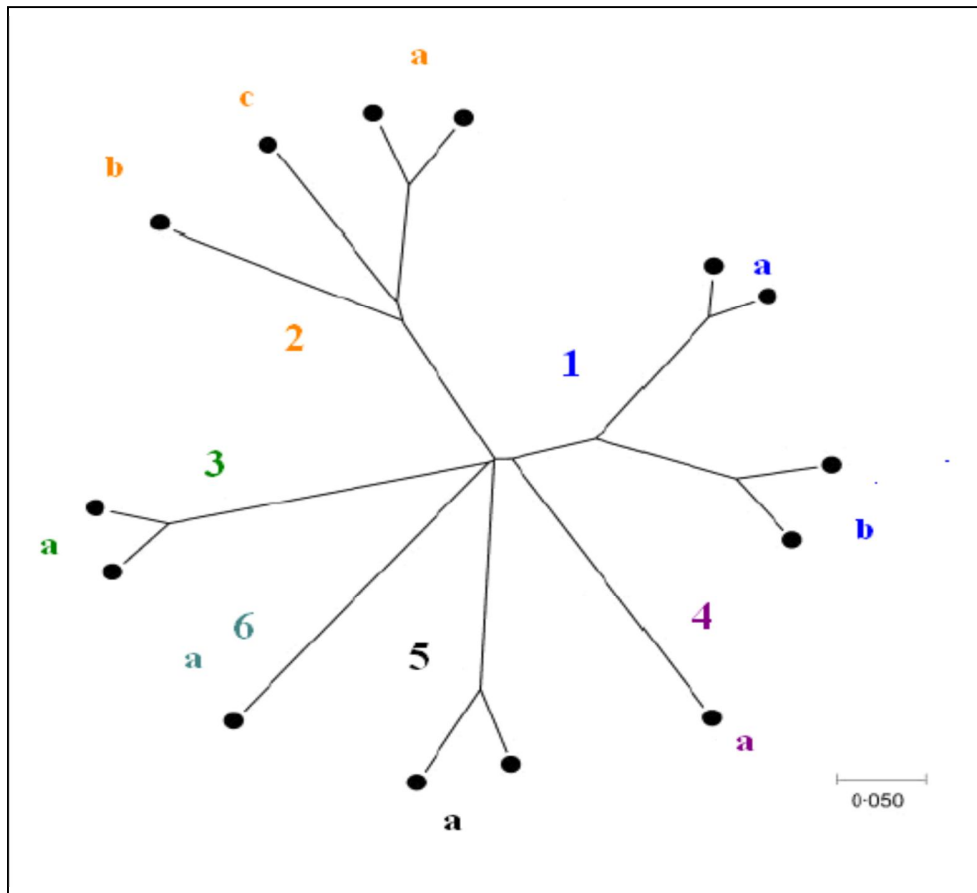


Figura 5: Árvore filogenética de sequências do genoma completo do HCV representando os 6 genótipos.

Fonte: SIMMONDS, 2004

Os genótipos e subtipos do VHC possuem prevalências e distribuições geográficas diversas e, de um modo genérico, consideram-se dois padrões epidemiologicamente distintos. As estirpes que surgem isoladamente em áreas geográficas restritas são geralmente de um único genótipo com um grande número de subtipos e conseqüente extensa diversidade genética (Smith *et al.*, 1997). Estas estirpes endêmicas refletem baixos níveis de transmissão, a longo prazo, em determinadas populações e representam as populações virais que estão na origem das estirpes epidêmicas (Simmonds, 2004). As regiões consideradas potencialmente endêmicas são a Costa da Guiné na África Ocidental para o genótipo 1, a África Central para o genótipo 2, o Norte do subcontinente indiano para o genótipo 3, a África Central para o genótipo 4 e o Sudeste Asiático

para o genótipo 6. Em relação ao genótipo 5 continua por descobrir uma área endêmica, havendo evidências que apontam para a África do Sul (Smith *et al.*, 1997 *apud* CALADO, 2009).

As estirpes com distribuição global apresentam prevalências elevadas e baixos níveis de variação genética. Geralmente há co-circulação de vários genótipos do HCV, sendo estes representados por um número reduzido de subtipos. Este padrão é consistente com introduções relativamente recentes e limitadas do HCV a partir de áreas endêmicas (Simmonds, 2004). Estas estirpes epidêmicas disseminaram-se rapidamente por todo o mundo durante o século XX, como resultado da introdução de determinados fatores de risco, nomeadamente, transfusões sanguíneas e partilha de material de injeção.

Os principais genótipos e subtipos encontrados nos países industrializados incluem: o subtipo 1a distribuído globalmente no Norte da Europa e EUA; o subtipo 1b associado a indivíduos de idade mais avançada e a transfusões sanguíneas no passado; o subtipo 3a distribuído particularmente na Europa; os subtipos 2a, 2b e 2c, encontrados nos países mediterrâneos e Extremo Oriente; o subtipo 4a, altamente distribuído em África e no Médio Oriente, associado no Egito ao tratamento massivo da *Shistosomose*; o subtipo 5a prevalente na África do Sul; o genótipo 6 encontrado em Hong Kong, Vietnã e, mais recentemente, Austrália.

No Brasil, genótipo tipo 1 é mais frequente em todos os estados da federação. A pesquisa de Campiotto *et al* (2005, p. 43), demonstrou através de pesquisas com técnicas de biologia molecular, a distribuição e a prevalência dos diversos genótipos do HCV em diversas regiões do Brasil. Os genótipos 1, 2, 3, 4 e 5 foram encontrados nos 1.688 pacientes que faziam parte do estudos e sua distribuição geográfica de acordo com o tipo de genótipo pode ser observado na figura 06. Observa-se ainda que o genótipo encontrado com maior frequência foi o 1, em 64,9% das amostras analisadas.

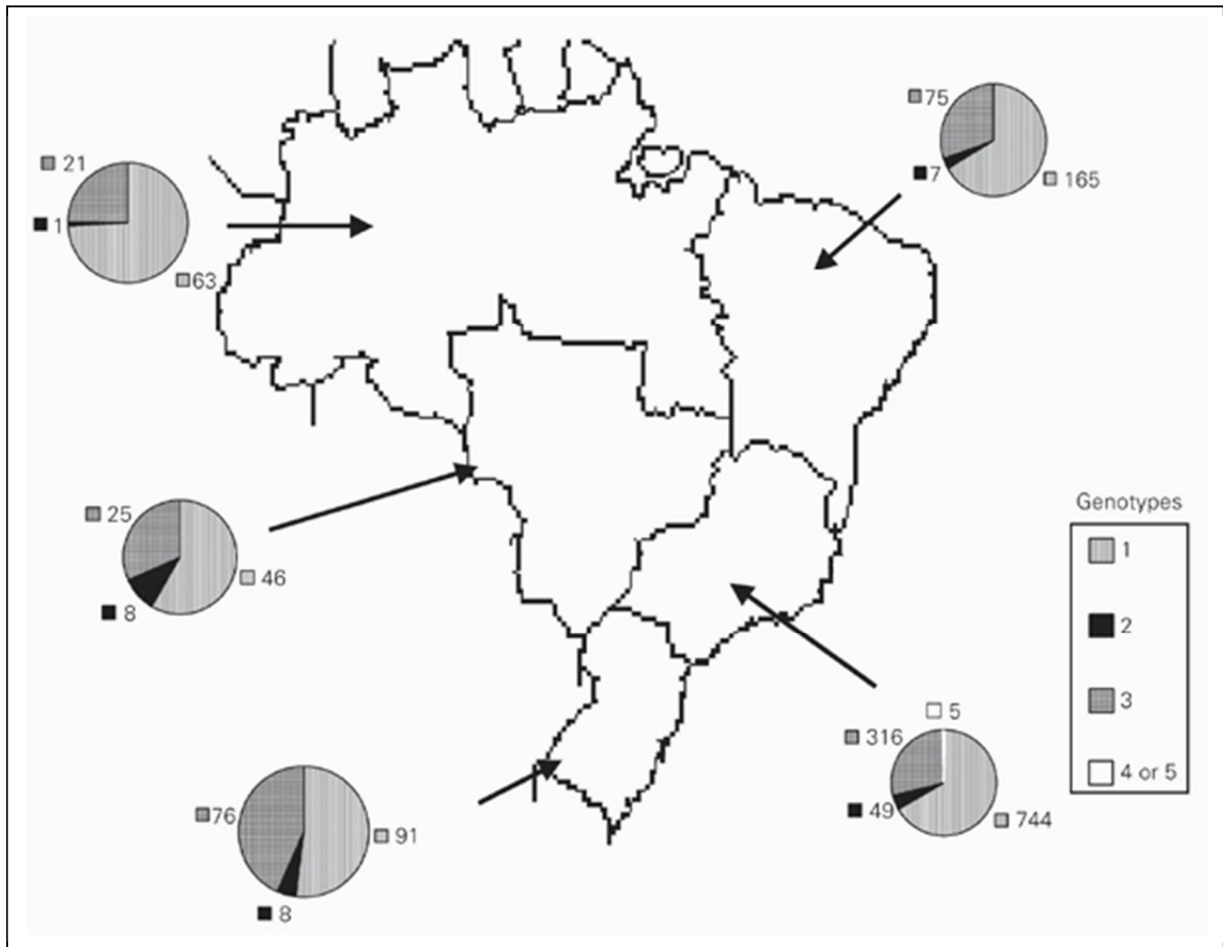


Figura 6: Distribuição percentual dos genótipos do HCV nas diferentes regiões do Brasil
 Fonte: CAMPIOTTO et al, 2005

3.2.3 Ciclo de replicação do HCV

A infecção pelo HCV constitui um processo dinâmico com uma meia vida viral de poucas horas e produção de aproximadamente 10^{12} virions ao dia. O vírus da hepatite C é capaz de infectar somente o homem e o modelo no chimpanzé. Recentes estudos demonstraram que a entrada da partícula viral na célula do hospedeiro é um processo que envolve diferentes passos. Os hepatócitos são o principal alvo, mas outras células como as células B, células dendríticas podem ser infectadas. Um dos receptores descritos é CD81 que provavelmente se liga à

glicoproteína do envelope E2. O vírus entra na célula por endocitose mediada por clatrina e presume-se que ocorra fusão de peptídeos do envelope viral à membrana do endossoma, mediado por baixo pH, conforme esquematizado na figura 7 (NAKATANI, 2008; SABAHI,2009).

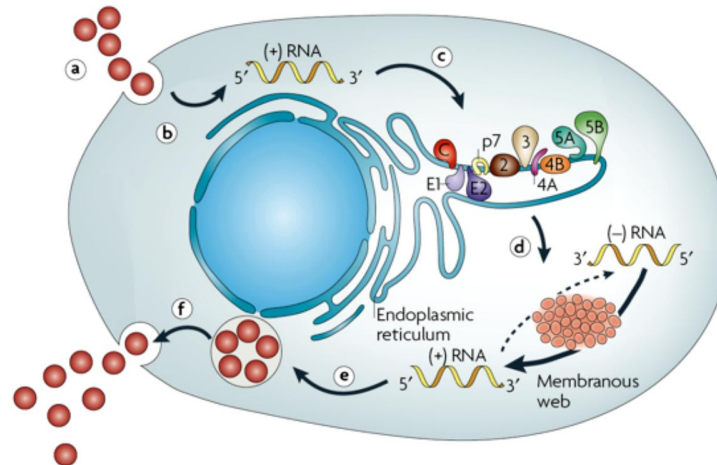


Figura 7: Ciclo de vida do HCV

Fonte: Moradpour et al., 2007

A replicação do HCV ocorre através da fita de RNA de polaridade positiva que serve como molde para a síntese da fita de RNA de polaridade negativa e assim sucessivamente, sendo que a enzima-chave para este processo é a NS5B RdRp (RNA polimerase RNA dependente) (NAKATANI, 2008).

3.2.4 Tratamento da Hepatite C

O tratamento da hepatite C crônica deve ser realizado para os portadores do vírus HCV identificado por detecção por biologia molecular de ácido ribonucléico ó teste qualitativo do HCV; ter realizado, nos últimos 24 meses, biópsia onde tenha sido evidenciada atividade necro-

inflamatória de moderada a intensa; idade entre 3 e 70 anos; ter contagem de plaquetas acima de $50.000/\text{mm}^3$ e de neutrófilos acima de $1500/\text{mm}^3$ (BRASIL, 2008; BABINSKI et al, 2008).

As drogas padronizadas para o tratamento da hepatite C são: Interferon peguilado (Peg), Ribavirina (RBV) e Interferon convencional (IFNc). O esquema terapêutico padrão para pacientes virgens de tratamento consiste na associação de interferon peguilado e ribavirina.

A dose recomendada do interferon peguilado -2a é de $180\mu\text{g}/\text{semana}$ e para o interferon peguilado -2b a dose é de $1,5\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{semana}$, administradas por via subcutânea em combinação com a ribavirina (STRAUSS et al,2009).

Para os pacientes infectados com o genótipo 1, a dose de ribavirina varia de acordo com o peso, sendo utilizados $1000\text{mg}/\text{dia}$ em pacientes com peso menor ou igual a 75Kg ou $1200\text{mg}/\text{dia}$ para pacientes com peso superior a 75Kg . A infecção pelo genótipo 2 ou 3 requer tratamento com dose de ribavirina de $800\text{mg}/\text{dia}$ em combinação com peginterferon (STRAUSS et al, 2009).

Os pacientes que não respondem ao tratamento com interferon convencional associado ou não à ribavirina necessitam de retratamento. Brasil (2008) sugere a associação entre interferon peguilado e ribavirina, para os portadores do genótipo 1, e interferon convencional mais ribavirina, para os pacientes portadores do genótipo 2 ou 3. O tempo de retratamento pode variar de 24 a 48 semanas.

3.3 Hepatites em Unidades de Diálise

Segundo Morsch et al (2006), desde a instituição da terapia renal substitutiva, foi reconhecido que tanto pacientes quanto membros da equipe estavam suscetíveis a adquirir hepatites virais. Embora a cada ano se reconheçam novos tipos de vírus transmissíveis

parenteralmente, o vírus da hepatite C é o de maior prevalência nos pacientes em terapia de substituição renal.

Para Trevisoli (2008), a taxa de prevalência de hepatite C em unidades de hemodiálise apresenta grande variação nos diferentes países. Na Holanda 3%, na Itália 22,5%, e no Egito, 80%. A prevalência do HCV nesta população é maior nos países em desenvolvimento, mas também nos países desenvolvidos observa-se uma prevalência maior em pacientes renais crônicos do que na população geral (TREVISOLI, 2008).

O rastreamento sorológico deve ser realizado para que se possa isolar os pacientes portadores dos suscetíveis e prevenir o surgimento de novos casos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda que os testes para hepatite C sejam feitos a cada seis meses, para pacientes com sorologia negativa (BRASIL,2004). Aqueles sabidamente positivos não necessitam realizar este exame específico.

Os pacientes renais crônicos em tratamento por hemodiálise estão expostos a infecções pelo vírus C da hepatite, devido o reprocessamento dos filtros, equipamentos, equipe e transfusões (MORSCH et al, 2006).

O filtro usado para a retirada de toxinas e líquido é o capilar. Trata-se de um feixe de fibras paralelas composto de membrana semipermeável. A ele são conectadas as linhas por onde o sangue é retirado e devolvido ao paciente. Todo este sistema, capilar e linhas, é reutilizado por 12 a 20 vezes dependendo do tipo de equipamento de que a unidade disponha. Nas bancadas da sala de reprocessamento há a possibilidade de troca de material biológico entre os diversos pacientes (BRASIL, 2004).

As máquinas usadas na hemodiálise são submetidas a desinfecções diárias, e como forma de controlar o grau de infecção dos pacientes, mensalmente são coletadas amostras de água das máquinas para análise microbiológica.

A RDC 154/2004, com relação ao paciente HCV positivo, afirma que a sala de diálise não necessita ser separada das demais, porém cuidados devem ser tomados quanto à ocorrência de infecção cruzada e o reprocessamento deve ser separado dos demais (BRASIL, 2004).

3.4 O Paciente Renal Crônico

A doença renal crônica constitui atualmente importante problema de saúde pública. No Brasil, a prevalência de pacientes mantidos em programas assistenciais destinados ao controle e tratamento de Insuficiência Renal Crônica (IRC) dobrou nos últimos anos. A doença tem como principais complicações o aumento da uréia no sangue (azotemia), a qual desencadeia uma série de sinais e sintomas conhecidos como uremia ou síndrome urêmica. As causas principais podem ser: pré-renal (em decorrência da isquemia renal); renal (consequente de doenças como as glomerulopatias, hipertensão arterial, diabetes); e pós-renal (em virtude da obstrução do fluxo urinário) (QUEIROZ et al, 2008).

O paciente necessita da terapia de substituição para a remoção das toxinas urêmicas e líquidos ora acumulados pelo metabolismo celular e ingestão alimentar. Algumas opções são disponibilizadas e cada paciente se adapta melhor a uma delas.

A hemodiálise é a mais usada modalidade terapêutica e consiste na retirada do sangue através de um acesso vascular (fístula arterio-venosa -FAV ou cateter vascular, conforme figuras 8 e 9, respectivamente) e devolução do mesmo já filtrado para o paciente. O processo no Brasil dura 4 horas e o paciente necessita de três sessões semanais, no mínimo (TRENTINI et al, 2004). A fístula é produzida através da anastomose entre uma artéria e uma veia e é considerada o melhor acesso para hemodiálise.

Fístula artério-venosa

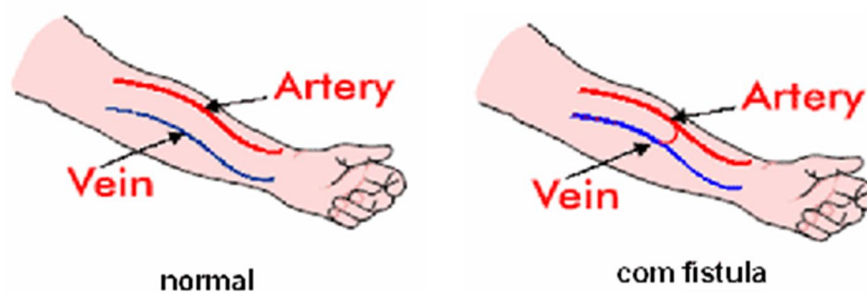


Figura 8: Fístula arteriovenosa.

Fonte: Martin, 2012

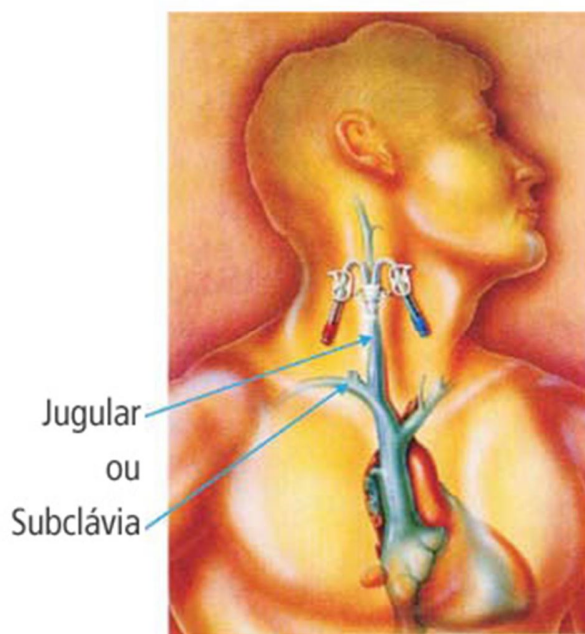


Figura 9: Cateter para hemodiálise

Fonte: Hemodiálise ó parte 2, 2012

A FAV é indicada apenas para pacientes com insuficiência renal crônica, consiste na anastomose subcutânea de uma com uma veia. Ao longo de 30 dias, o ramo venoso da fístula se dilata e suas paredes se espessam, possibilitando a inserção das calibrosas agulhas de diálise (FERMI, 2010).

O cateter vascular é um dispositivo temporário usado em pacientes com insuficiência renal aguda e para aqueles pacientes crônicos cuja FAV ainda não foi confeccionada ou ainda encontra-se em fase de maturação. A veia de escolha para o implante é a jugular interna, devido menores complicações e médio e longo prazos.

O sangue removido do paciente é filtrado em um feixe de fibras paralelas (dialisador) feito de uma membrana semipermeável contendo de um lado o sangue concentrado de toxinas nitrogenadas oriundas do metabolismo celular e da ingestão pela alimentação. Do outro lado passa, em sentido oposto, o dialisato, solução-tampão de bicarbonato. O processo ocorre por difusão simples e está ilustrado na figura 10 (FERMI, 2010).

Antes de passar pelo dialisador, porém, o sangue passa por um monitor de pressão e em seguida recebe o anticoagulante para evitar obstrução do sistema extracorpóreo com perda de sangue. Depois do dialisador, o sangue segue pelo detector de ar e só depois retorna ao paciente.

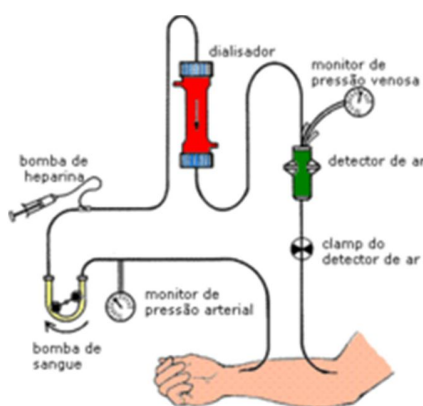


Figura 10: Esquema da hemodiálise
Fonte: ELEMENTOS DE QUIMICA_FISICA, 2007

Para a realização da hemodiálise de forma segura, é necessário o cumprimento de alguns pontos, dentre eles: adequado sistema de tratamento de água, análise laboratorial precisa que ateste a qualidade da água, realização periódica de exames dos pacientes, garantia de internação, serviço de remoção de pacientes, sistema de referência para a realização de transplante renal, dentre outros.

Outra modalidade terapêutica para portadores de IRC é a diálise peritoneal, que consiste na introdução de um cateter na cavidade peritoneal e infusão de uma solução hipertônica específica (dialisato) a fim de promover a remoção de solutos e água acumulados pelo paciente (figura 11).

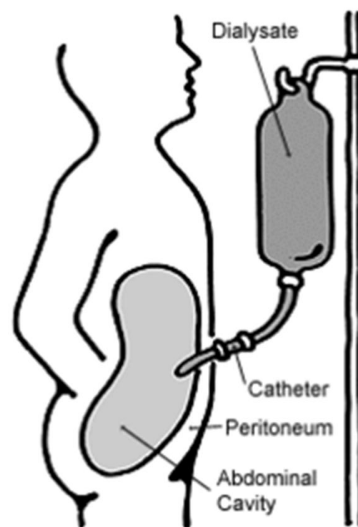


Figura 11: Diálise peritoneal

Fonte: SISTEMA RENAL- FISIOLÓGIA HUMANA, 2009

O transplante renal consiste no enxerto de um novo órgão de um doador vivo ou não, com compatibilidade comprovada (figura 12). É uma modalidade terapêutica que dispensa o uso de equipamentos. O paciente necessita realizar exames específicos no período pré-operatório e fazer

rigoroso acompanhamento ambulatorial e uso de medicamentos imunossupressores durante toda a vida.

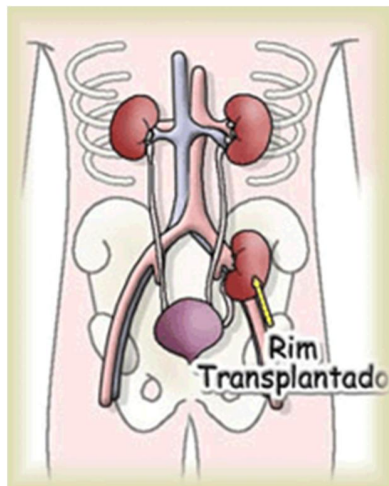


Figura 12: Transplante renal
Fonte: Transplante renal, 2012

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a prevalência dos vírus da Hepatite C nos pacientes submetidos a terapias de substituição renal na cidade de Imperatriz- Maranhão.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a prevalência da infecção pelo HCV nos pacientes submetidos às terapias de substituição renal na cidade de Imperatriz- Maranhão.
- Caracterizar o genótipo viral entre os pacientes portadores do HCV.
- Identificar os principais fatores de risco envolvidos na transmissão do HCV na população de pacientes renais crônicos e associar com os dados laboratoriais.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo do tipo transversal, envolvendo a população de pacientes renais crônicos submetidos ao tratamento de substituição renal, na cidade de Imperatriz- Maranhão, entre os meses de janeiro e dezembro de 2010.

5.2 Local da pesquisa

O estudo foi realizado na Clínica de Doenças Renais, localizada na cidade de Imperatriz-MA. Trata-se de uma unidade-satélite, de caráter particular, conveniada ao Sistema Único de Saúde, que atende a população local além de estados circunvizinhos, como Tocantins e Pará. A referida unidade foi inaugurada há 25 anos e conta com equipamentos modernos para a realização do tratamento hemodialítico, além de ampla estrutura para o treinamento e acompanhamento do paciente de diálise peritoneal. O sistema de referência para transplante renal é a cidade de São Luis, capital do estado.

A equipe é composta de médicos, enfermeiros, assistente social, psicólogo, nutricionista, além da equipe de apoio, como pessoal de manutenção, administração e cirurgiões vasculares. O funcionamento diário é distribuído em três turnos, sendo 35 pacientes atendidos em cada um deles.

5.3 População e amostra

A população alvo da pesquisa foi composta por 181 pacientes em terapia renal substitutiva, seja hemodiálise ou diálise peritoneal. Participaram do estudo 181 pacientes que foram selecionados a partir de critérios de inclusão e exclusão.

5.4 Critérios de inclusão

Pacientes com diagnóstico médico de insuficiência renal crônica, já em tratamento substitutivo, de ambos os sexos e que concordaram em participar do estudo, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apendice1).

5.5 Critérios de exclusão

Pacientes que não concordaram com a pesquisa, além dos pacientes em estado grave e/ou que não tiveram diagnóstico confirmado de doença crônica. Existem condições que lesionam os rins de forma reversível; assim, o paciente permanece em tratamento por curto período e não é classificado como paciente crônico, sendo, portanto excluído da amostra.

5.6 Avaliação ética

O projeto foi apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Núcleo de Medicina Tropical UFPA (Anexo 1). Todos os sujeitos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), em conformidade com a Resolução 196/96, que trata da pesquisa envolvendo seres humanos.

5.7 Obtenção dos dados epidemiológicos

Foram obtidos utilizando questionário especificamente elaborado para este estudo, constando dos seguintes dados: identificação, estilo de vida, prática sexual, número de parceiros, condição de saúde contemplando o tempo de tratamento dialítico, realização de endoscopia digestiva, transfusões de sangue e derivados, transplante de órgãos, antecedentes familiares, condições habitacionais, sócio-econômicas e últimos exames realizados na unidade (Apêndice 2).

5.8 Coleta de material biológico

Como rotina da clínica, faz-se mensalmente a coleta de material biológico dos pacientes para análise de uréia, creatinina, hemoglobina, hematócrito, cálcio, fósforo e TGP. Para tanto, coleta-se aproximadamente 10mL de sangue periférico, extraído da fístula ou cateter, em tubo sem anticoagulante. A cada seis meses é realizado o teste sorológico para pesquisa do HCV de todos os pacientes sabidamente negativos para este teste.

Para a realização deste estudo, foram encaminhadas as amostras congeladas ao Laboratório de Patologia Clínica das Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, na cidade de Belém-PA, onde foram realizados os testes moleculares para detecção do RNA (RT-PCR) e genótipo viral (RFLP).

5.9 Procedimentos laboratoriais

Diagnóstico sorológico da hepatite C

Foram empregados testes sorológicos de ELISA (Ensaio Imunoenzimático) de 3ª geração, utilizando-se kits comerciais (kit ETI-AB-HCVK-4, DiaSorin, Itália) para detecção de anticorpos HCV específicos no soro dos pacientes.

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

O primeiro poço da placa ficou para o branco da reação, na sequência da microplaca de ELISA, foram dispensados 200 µL do controle negativo em triplicata (3 poços), 200 µL do calibrador em duplicata (2 poços) e 200 µL do controle positivo em amostra única (1 poço).

Adicionou-se 200 μL do Diluente de Amostra em todos os poços que continham as amostras dos pacientes a serem dosadas, depois houve a dispensação de 10 μL do soro do paciente no poço correspondente e a homogeneização cuidadosa da placa de ELISA, a fim de retirar eventuais bolhas, porém tomando cuidado para não contaminar os poços adjacentes.

Dispensou-se 50 μL do Diluente do Reagente em todos os poços de controles, calibradores e amostras; cobrindo as tiras com adesivo para evitar evaporação e contaminação das amostras; e realizou-se a incubação da microplaca de ELISA por 45 min a 37°C.

Após incubação, o líquido nos poços foi desprezado e houve a lavagem de cada poço da microplaca de 4 a 5 vezes com 300 μL da Solução de Lavagem diluída, 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.

Foi pipetado 100 μL de Conjugado Enzimático, exceto no poço do branco, coberta novamente a microplaca de ELISA com adesivo e incubada por 45 min a 37°C. Após incubação, desprezou-se o líquido nos poços e ocorreu a lavagem de cada poço da microplaca de 4 a 5 vezes com 300 μL da Solução de Lavagem diluída, 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.

Foi acrescentado 100 μL de Cromógeno/Substrato em todos os poços e homogeneizado. A microplaca foi incubada e protegida da luz intensa e direta, à temperatura ambiente (18-24°C) por 15 min. Pipetou-se 100 μL de Ácido Sulfúrico em todos os poços, na mesma ordem em que foi pipetado o cromógeno, para parar a reação enzimática e medir a absorbância da solução obtida em leitor de ELISA com filtro de 450 nm.

O teste foi validado de acordo com os valores do controle de qualidade preconizados pelo fabricante e que devem tanger os valores para o branco da reação $\leq 0,100$; controle negativo $\leq 0,050$; controle positivo $\times 1,000$; e calibrador $\times 1,100$. Para as amostras testadas, os valores reagentes e não reagentes para pesquisa de anticorpos anti-HCV tiveram interpretação da seguinte maneira: não reagentes com valores $\leq 0,9$; reagentes com valores $\times 1,1$; e indeterminados entre os valores $0,9$ ó $1,1$.

Deteção dos ácidos nucléicos do Vírus da Hepatite C por Biologia Molecular

Extração do Ácido nucleico.

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

Foram pipetados 560 μL de tampão AVL (lise) contendo RNA em tubo de centrífuga de 1,5 mL identificado, adicionados 140 μL da amostra e homogeneizado em agitador vórtex por 15 segundos (s); incubando a temperatura ambiente ($15\text{-}25^\circ\text{C}$) por 10 min. Após incubação, centrifugou-se rapidamente o tubo para remover partículas dispersas.

Adicionou-se 560 μL de etanol (96-100%) na amostra que posteriormente foi homogeneizada no vórtex por 15 s, e centrifugada rapidamente. Depois, cuidadosamente, foram transferidos 630 μL para as colunas devidamente identificadas, centrifugadas a 14.000 rpm por 1 min e descartada a parte de baixo, ficando só com a coluna para encaixar em outro tubo.

O resto das amostras foi colocado nas colunas devidas, centrifugadas a 14.000 rpm por 1 min e descartada a parte de baixo, ficando só com a coluna para encaixar em outro tubo. Lavou-se com 500 μL de tampão da lavagem (AW1) e houve nova centrifugação por 1 min, mantendo a

coluna e descartando a parte de baixo. Lavou-se com 500 μL de tampão da lavagem (AW2) e realizada centrifugação por 4 min, mantendo a coluna e descartando a parte de baixo.

Os tubos para RNA foram identificados para colocar as colunas. Adicionou-se 60 μL de tampão AVE em cada amostra, que depois foram centrifugadas por 1 min, descartando a coluna e ficando com o tubo. Colocou-se em banho-maria por 10 min a 65°C, depois ocorrendo breve centrifugação e armazenamento imediato no gelo. As amostras extraídas foram congeladas e armazenadas em freezer a -20°C.

Realização da RT-PCR

A RT-PCR permite amplificar os trechos codificantes diretamente a partir de moléculas de RNAm. Após a extração do RNA, sintetiza-se uma fita única de DNA complementar ao RNAm (DNAc) empregando-se a enzima transcriptase reversa de origem viral. A fita de RNA do híbrido RNA/DNA é digerida com RNase, e a fita de DNAc é replicada por uma DNA polimerase. A partir do DNAc, emprega-se o método de PCR usual para amplificação.

Neste estudo, o DNA complementar (cDNA) foi sintetizado de acordo com a técnica de RT-PCR qualitativa, utilizando-se a região conservada 5 NCR do vírus. A metodologia foi adaptada no Laboratório de Patologia Clínica das Doenças Tropicais a partir da técnica obtida no Laboratório de Hepatites Virais do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, da seguinte maneira: a reação para uma amostra continha: Tampão: 12 μL ; iniciador k10: 1 μL ; iniciador k11: 1 μL ; água ultrapura livre de DNase e RNase: 5 μL ; Enzima Taq polymerase One-Step (Invitrogen): 1 μL . O iniciador k10 constitui-se da sequência 5'GGC GAC ACT CCA CCA TRR3' e o iniciador k11 da sequência 5'GGT GCA CGG TCT ACG AGA CC3'.

O volume da reação por amostra foi de 20 μL e o volume do produto da extração foi de 5 μL , perfazendo um volume total por tubo de 25 μL . As amostras foram colocadas em

termociclador e a reação 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, mantendo a reação à 4°C.

Para visualização do produto da 1ª PCR (RT-PCR), foi feito um gel de agarose a 1% (1g de agarose para 100mL de tampão TEB 1X e 3 µL de brometo de etídio), que migrou na cuba de eletroforese com 100V, 500A por 60 minutos. Os resultados foram visualizados através de luz UV (ultravioleta). Os pacientes positivos, que apresentarem uma banda com fragmento de 279 pb, continuaram os procedimentos e os negativos, que não apresentaram uma banda foram liberados como indetectáveis por este método. A figura 13 apresenta um modelo laboratorial para classificar os pacientes reagentes dos não reagentes.

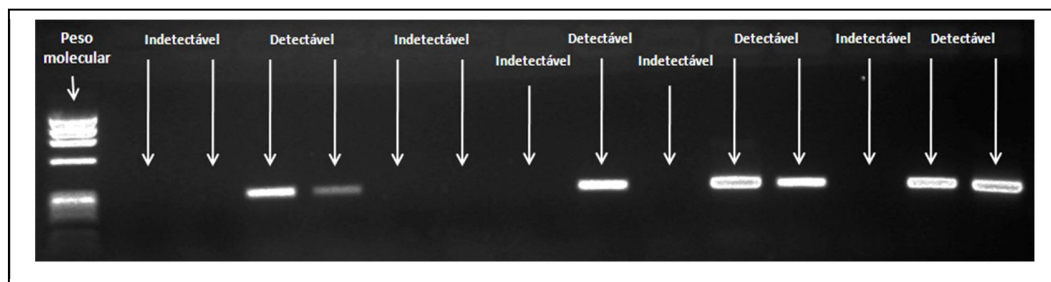


Figura 23. Visualização de uma banda do produto da PCR em gel de agarose observado em luz ultra-violeta. (protocolo da pesquisa).

A 2ª PCR (RFLP) é responsável por fazer a amplificação do cDNA, produto da 1ª PCR. Para esta etapa, também com adaptações feitas no Laboratório de Patologia Clínica das Doenças Tropicais, foram necessários para a reação de uma amostra: Tampão 10X: 2,5 µL; dNTP: 4 µL; MgCl₂: 1,5 µL; *primer* ou iniciador k15: 1 µL; *primer* ou iniciador k16: 1 µL; água ultrapura livre de DNase e RNase: 12,5 µL; Enzima Taqplatinum (Invitrogen): 0,5 µL. O *primer*

k15 constitui-se da sequência 5'ACC ATR RAT CAC TCC CCT GT3' e o *primer* k16 da sequência 5'CAA GCA CCC TAT CAG GCA GT3'.

O volume da reação por amostra foi de 23 µL e o volume do produto da 1ª PCR foi de 2 µL, perfazendo um volume total por tubo de 25 µL. As amostras foram colocadas em termociclador e a reação realizada a temperatura inicial de desnaturação a 94°C por 4 minutos, seguida de 35 ciclos, com temperatura de desnaturação a 94°C por 30 segundos, de anelamento a 55°C por 45 segundos, de extensão a 72°C por 1 minuto e temperatura de extensão final de 72°C por 7 minutos, mantendo a reação à 4°C.

O produto da 2ª PCR foi observado através de um gel de agarose a 1% (1g de agarose para 100 mL de tampão TEB 1X e 3 µL de brometo de etídio), que migrou na cuba de eletroforese com 100V, 500A por 60 minutos. Os resultados foram visualizados através de luz UV (ultravioleta). Os pacientes positivos, que apresentaram õbandaö (fragmento amplificado), continuaram os procedimentos e os negativos, que não apresentarem õbandasö foram repetidos para o procedimento da 2ª PCR para confirmar o resultado.

Determinação do genótipo do vírus

Os pacientes positivos para a 2ª PCR foram submetidos à genotipagem do vírus através do método de RFLP (*RestrictionFragmentLengthPolymorphisms*), utilizando um par de enzimas de restrição, AVA II e RSA I. Essa técnica também foi adaptada no Laboratório de Patologia Clínica das Doenças Tropicaisàpartir da técnica obtida no Laboratório de Hepatites Virais do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

Na determinação do genótipo viral, cada amostra foi utilizada duas vezes, sendo uma reação para AVA II e uma para RSA I, portanto cada amostra possuiu dois tubos correspondentes.

Para a preparação do mix de uma amostra para a enzima de restrição AVA II (Promega), foram utilizados: Buffer C X30: 2 μ L; água ultrapura livre de DNase e RNase: 12,5 μ L; AVA II: 0,5 μ L. Para o mix de uma amostra de RSA I (Invitrogen), foram necessários: React1 10X: 2 μ L; água ultrapura livre de DNase e RNase: 11 μ L; RSA I: 2 μ L.

O volume do mix por amostra foi de 15 μ L e o volume da amostra (produto da 2ª PCR) de 5 μ L, perfazendo um volume total por tubo de 20 μ L para cada microtubo correspondente a sua enzima de restrição. As amostras formaram pares de microtubos AVA II e RSA I e foram colocadas em banho-maria a 37°C durante à noite (12 a 16 horas) para digerir (cortar) os fragmentos.

Para visualização do produto da digestão (RFLP) e verificação dos genótipos, foi preparado um gel de agarose a 2% (2g de agarose para 100 mL de tampão TEB 1X e 3 μ L de brometo de etídio), que migrou em cuba de eletroforese com 100V, 500A por 60 minutos. Os resultados foram visualizados através de luz UV (ultravioleta). Os pacientes positivos apresentaram bandas de tamanhos diferentes. O número de bandas e sua disposição no gel formaram padrões de combinação correspondentes a cada genótipo viral (Figura 14).



Figura 14: Visualização da combinação dos cortes feitos pelas enzimas de restrição AVA II e RSA I. Nesta figura é possível observar os genótipos 1 e 3 (protocolo da pesquisa).

5.10 Análise estatística

Foi empregado neste estudo o *Odds Ratio* como teste estatístico, já que buscou investigar se houve diferenças entre os pacientes positivos e negativos com relação aos itens abordados. O programa de computador utilizado foi o BioEstat 5.0 (AYRES et al, 2007). A significância estatística aceita foi ao nível de 95%.

6 RESULTADOS

6.1. Caracterização da Amostra

Foram pesquisados 181 pacientes em tratamento de substituição renal na cidade de Imperatriz-MA. Do total da amostra, 65,2% (118/181) eram do sexo masculino, 48% (87/181) tinham entre 41 e 60 anos e 97,2% (176/181) faziam hemodiálise (Tabela 1). A média de idade observada foi de 52 anos, com faixa etária variando entre 12 e 87 anos. Apenas 2,8% (5/181) faziam diálise peritoneal, já que a maioria dos pacientes ingressam em terapia em estado grave, não tendo indicação para diálise peritoneal; ao estabilizarem não aceitam mais mudar de terapia.

TABELA 1: Dados de caracterização da amostra, incluindo as variáveis gênero, idade e tipo de tratamento dos pacientes renais crônicos participantes do estudo

VARIÁVEIS		N	%
GÊNERO	Masculino	118	65,2%
	Feminino	63	34,8%
IDADE	Menos de 21 Anos	3	1,6%
	21 a 40 Anos	39	21,5%
	41 a 60 Anos	87	48%
	Mais de 60 Anos	52	28,9%
TIPO DE TRATAMENTO	Hemodiálise	176	97,2%
	Diálise Peritoneal	5	2,8%

A causa da doença renal foi secundária à hipertensão, diabetes e glomerulonefrite em 49,1% (89/181), 21,5% (39/181) e 16% (29/181), respectivamente, e desconhecida em 8,8% (16/181), conforme tabela 2. No item outras causas na tabela, foram encontradas Doença de Alport, Lupus Eritematoso Sistêmico e Mieloma com frequência de 0,5% (1/181) cada, totalizando 1,5% (3/181).

TABELA 2: Diagnóstico da causa da doença renal crônica nos 181 pacientes estudados entre janeiro e dezembro de 2011

CAUSA	N	%
Hipertensão	89	49,1
Diabetes	39	21,5
Glomerulonefrite	29	16,0
Desconhecida	16	8,8
Rins policísticos	3	2,1
Outras	3	1,5
Pielonefrite	2	1,0
TOTAL	181	100

6.2. Dados Sócio-Epidemiológicos

Entre os pacientes participantes, 61,9% (112/181) eram casados, com baixa nível de escolaridade, onde 71,9% (130/181) tinham o ensino fundamental incompleto ebaixo nível sócio econômico, com 97,8% (177/181) que possuíam renda familiar mensal entre 1 e 5 salários mínimos (Tabela 3).Dentre os pacientes com renda entre 1 e 5 salários mínimos, 80,8% (143/177) possuíam renda exata de um salário mínimo.

TABELA 3: Distribuição da amostra segundo dados sócio-epidemiológicos

ESTADO CIVIL	Casados e união estável	114	61,90
	Solteiros, viúvos e divorciados	67	38,10
ESCOLARIDADE	Analfabeto	11	6,20
	Ensino fundamental incompleto	130	71,90
	Ensino fundamental completo	4	2,20
	Ensino médio incompleto	24	13,20
	Ensino médio completo	10	5,50
	Ensino superior incompleto	1	0,50
	Ensino superior completo	1	0,50
RENDA FAMILIAR	Inferior a 1 salário mínimo	1	0,60
	Entre 1 e 5 salários mínimos	177	97,80
	Superior a 10 salários mínimos	3	1,60

6.3. Fatores de Risco para aquisição do HCV

Os pacientes foram questionados sobre a prática de determinadas ações que aumentam a transmissão do HCV (Tabela 4). São elas: uso de drogas, história de DST, realização de endoscopia, transfusão sanguínea, tatuagem, manicure, uso de preservativo, tabagismo e uso de álcool. nesse grupo de pacientes estudados se destacou o fato de que 92,0% (166/181) já realizaram transfusão sanguínea, 99% (179/181) já haviam anteriormente sido internados em hospital e 89,6% (162/181) nunca ou eventualmente usam preservativo na prática sexual.

TABELA 4: Distribuição da amostra segundo os fatores de risco para o HCV

VARIÁVEIS	N (%)
Uso de drogas	
Sim	6 (3)
Não	175 (97)
Transfusão Sanguínea	
Sim	166 (92)
Não	15 (8)
Internação hospitalar	
Sim	179 (99)
Não	2 (1)
Tatuagem	
Sim	6 (3)
Não	175 (97)
Compartilhamento de perfuro cortante	
Nunca e raramente	170 (94)
Frequentemente	11 (6)
Uso de preservativo	
Nunca ou Algumas vezes	162 (89,6)
Sempre	19 (10,4)
Doenças Sexualmente Transmissíveis	
Sim	19 (10)
Não	162 (90)
Tabagismo	
Nunca ou Eventualmente	175 (96,6)
Frequentemente	6 (3,4)
Etilismo	
Nunca ou Eventualmente	177 (97,8)
Frequentemente	4 (2,2)

Quando se investigou o tempo de tratamento dos pacientes, obteve-se como resultados que 52,6% (95/181) estão em tratamento há menos de 5 anos, 32% (58/181) entre 5 e 10 anos, 12,1% (22/181) entre 10 e 15 anos e 3,3% (6/181) tempo superior a 15 anos de terapia.

6.4. Diagnóstico do HCV

O diagnóstico sorológico para pesquisa de anticorpos HCV específicos foi realizado no laboratório Laboracin em Imperatriz-MA. Amostras biológicas para o HCV são coletadas no ato de admissão e repetidas a cada seis meses. Neste estudo, dos 181 pacientes examinados, 7,2% (13/181) apresentaram reagente na pesquisa de anticorpos para esse vírus (Tabela 5). Destes 13 pacientes soro reagentes para o HCV, o RNA viral foi isolado em 5 (38%), sendo todos portadores do genótipo 1.

TABELA 5: Distribuição da amostra segundo os resultados sorológicos para o HCV.

Teste Sorológico Anti-HCV	N	%
Reagente	13	7,2
Não reagente	168	92,8

6.5. Comparação das causas da IRC com a positividade para o HCV

Ao se comparar a causa da insuficiência renal crônica com a positividade para o HCV não encontramos diferença com os pacientes não reagentes, ou seja, a hipertensão despontou com maior incidência, seguida do diabetes e glomerulonefrite (Tabela 6).

TABELA 6: Distribuição da amostra segundo os resultados sorológicos para o HCV.

Causas da IRC	N	%
HIPERTENSÃO	8	61,5
DIABETES	1	7,8
GLOMERULONEFRITE	4	30,7

6.6. Comparação das variáveis estudadas entre os diferentes grupos de diagnóstico.

Quando se estabelece uma associação entre as variáveis independentes e a soropositividade para o anti-HCV, observa-se quanto ao gênero que há maior incidência de positividade para o HCV em pacientes do sexo masculino, com 92% (12/13). Os demais itens como estado civil, uso de drogas, DST, transfusão sanguínea, tatuagem, compartilhamento de material perfuro-cortante, uso de preservativo, internação hospitalar, tabagismo e etilismo não apresentaram diferença significativa entre os reagentes e não reagentes (Tabela 6).

TABELA 7: Comparação das variáveis estudadas entre os pacientes reagentes e não reagentes na pesquisa sorológica de anticorpos HCV específicos.

Variáveis	HCV		OR (95% IC)	P
	Não Reagente (168) N (%)	Reagente (13) N (%)		
Sexo				
Masculino	106 (63)	12 (92)	7.01	0.005
Feminino	62 (37)	1 (8)	(0.89-55.28)	
Estado civil				
Solteiro, viúvo, divorciado.	64 (38)	3(23)	2.05	0.43
Casado, União estável.	104 (62)	10 (77)	(0.54-7.73)	
Uso de drogas				
Sim	5 (3)	1 (8)	0.36	0.91
Não	163 (97)	12 (92)	(0.03-3.40)	
DST				
Sim	18 (11)	1 (8)	1.44	0.89
Não	150 (89)	12 (92)	(0.17-11.73)	
Transfusão sanguínea				
Sim	154 (92)	12 (92)	0.91	0.65
Não	14 (8)	1 (8)	(0.11-7.57)	
Tatuagem				
Sim	5(3)	1(8)	0.36	0.91
Não	163 (97)	12 (92)	(0.03-3.40)	
Compartilhamento de material perfuro cortante				
Frequentemente	10 (6)	1 (8)	0.75	0.72
Nunca e raramente	158 (94)	12 (92)	(0.08-6.44)	
Uso de preservativo				
Algumas vezes e nunca	151(32,1)	11(38,5)	1.61	0.89
Sempre	17 (10,1)	2 (15,4)	(0.33-7.90)	
Internação hospitalar				
Sim	167 (99)	12 (92)	13.91	0.32
Não	1(1)	1 (8)	(0.81-236.55)	
Tabagismo				
Frequentemente	5 (3)	1 (8)	0.36	0.91
Nunca e raramente	163 (97)	12(92)	(0.03-3.40)	
Etilismo				
Frequentemente	3 (2)	1 (8)	0.21	0.67
Nunca e raramente	165(98)	12 (92)	(0.02-2.26)	

Ao se analisar o item tempo de tratamento, foi observado que a presença de anticorpos HCV específico foi maior nos pacientes com mais de 15 anos de terapia. Adicionalmente, os pacientes sororeagentes para o HCV apresentaram níveis alterados nos valores da alanina aminotransferase (ALT) (Tabela 8).

TABELA 8: Comparação das variáveis estudadas entre os pacientes reagentes e não reagentes na pesquisa sorológica de anticorpos HCV específicos.

Variáveis	HCV		OR (95% IC)	P
	Não Reagente (168) N (%)	Reagente (13) N (%)		
Tempo de tratamento				
Menos de 5 anos	91 (54,2)	4 (30,8)	10.63 (1.31-85.83)	0.01
5 a 10 anos	56 (32,7)	2 (15,4)		
11 a 15 anos	19 (12,0)	3 (23,0)		
Mais de 15 anos	2 (1,1)	4 (30,8)		
Resultado de ALT				
Menor que 41 U/l	159 (94,7)	7 (53,9)	15.14 (4.20-54.49)	0.01
Maior que 41 U/l	9 (5,3)	6 (46,1)		
Resultado de Fosfatase Alcalina				
Menor que 115 U/l	93 (55,4)	9 (69,2)	0.55 (0.16-1.86)	0.49
Maior que 115 U/l	75 (44,6)	4 (30,8)		

7. DISCUSSÃO

Este estudo evidenciou prevalência da doença renal crônica maior em homens do que em mulheres, 65,2% contra 34,8%, corroborando com os estudos de Leão et al (2010) e Joukar et al (2011), que encontraram frequências semelhantes, 55,6% e 61,0%, respectivamente. Este dado pode ser justificado pelo fato de as mulheres terem maior cuidado com a saúde do que os homens. De um modo geral, a incidência de doenças que lesionam os rins também são mais elevadas em homens do que em mulheres.

Quando se investigou a idade dos entrevistados, descobriu-se que a faixa etária compreendida entre 41 e 60 anos tem o maior percentual de pacientes em programa regular de hemodiálise ou diálise peritoneal. Joukar et al (2011) encontraram maior frequência entre 50 e 70 anos, com 48,6% dos pacientes. A doença renal crônica é mais incidente entre indivíduos com faixas etárias elevadas devido ao tempo em que a doença de base demora até que o grau de comprometimento renal desenvolva sintomas.

O tipo de tratamento com maior número de pacientes foi a hemodiálise, predominantemente, com 97,2% do total. Sesso et al (2008), encontraram 89,4% dos pacientes em tratamento por hemodiálise. A maioria dos pacientes que ingressam em terapia o fazem em estado mais crítico, o que os leva à hemodiálise, por oferecer remoção de toxinas e líquido de forma mais rápida do que a diálise peritoneal. Uma vez em hemodiálise, poucos optam pela mudança da terapia.

A causa da insuficiência renal crônica no estado de Minas Gerais foi citada por Leão et al (2010) como desconhecida em 29,2% da amostra. Hipertensão foi citada como a terceira maior causa de doença renal crônica naquela população. Sesso et al (2008) encontraram maior

incidência de hipertensão arterial (36%), seguida de diabetes (26%) no Brasil. Nesse estudo a causa principal foi hipertensão arterial, com 49,1% dos casos investigados.

O estado civil predominante foi de pacientes casados (61,9%), concordando com El Khouri et al (2010) que encontraram em sua pesquisa um total de 56% de pacientes casados.

Quanto a análise dos fatores de risco considerados importantes para a aquisição do HCV nesse estudo 92% já realizaram transfusão sanguínea e 99% relataram internação hospitalar anteriores. Contudo, outros fatores de risco considerados importantes foram raros nessa população estudada, como: o uso de drogas, presença de tatuagens ou piercings e o compartilhamento com familiares de material perfuro cortante. Todos estes dados concordam com os resultados de Leão et al (2010).

A soroprevalência para o anti-HCV observada nesses pacientes foi de 7.2%, bem superior ao descrito para a região nordeste do Brasil que é de 0,6% e da população brasileira geral que é de 1 a 2% (TOLEDO JÚNIOR et al, 2005; MARTINS et al, 2011).

Estudos realizados em centros de hemodiálise têm demonstrado resultados semelhantes ao presente trabalho. Sesso et al (2008) citam 7,6% de incidência do HCV no Brasil. Outros trabalhos demonstram resultados diferentes, como Joukar et al (2011) e Leão et al (2010), que encontraram incidências de 23,1% e 10,6%, respectivamente, em estudos realizados no Irã e Brasil (Minas Gerais). No estudo de Khouri et al (2010) os valores encontrados foram menores, 5,76% em uma cidade do interior do estado do Maranhão (MARTINS et al, 2011).

O genótipo 1 foi encontrado em todos os pacientes com sorologia positiva para o HCV neste estudo. Resultados semelhantes foram citados por Perone et al (2008) em estudo realizado em Belo Horizonte ó MG, com 78,4% de frequência do genótipo 1 nos pacientes HCV positivos. Amorim et al (2010) evidenciaram incidência do genótipo 1 em 88,2% dos pacientes hemodialisados em Brasília ó DF.

Na comparação dos fatores de risco para aquisição do HCV entre os pacientes não reagentes e reagentes foi observada uma maior prevalência do gênero masculino (92%) dentre os reagentes ao anti-HCV. Valores semelhantes foram descritos por Joukar et al (2011), onde 67% dos pacientes pesquisados foram do sexo masculino.

Outro dado relevante encontrado foi o tempo de tratamento, pois quanto maior o tempo maior é o risco de aquisição do HCV. Mello et al (2007) citam que 62% dos pacientes positivos tinham mais de 5 anos de tratamento dialítico, resultado semelhante ao presente estudo.

O desenvolvimento deste estudo trouxe importantes conhecimentos sobre o perfil dos pacientes renais crônicos atendidos nas clínicas de Hemodiálise na cidade de Imperatriz-MA, bem como, informações primordiais sobre a infecção pelo HCV nesse grupo.

Sugerimos que os pacientes HCV reagentes sejam dialisados em salas separadas, pois, assim, os riscos de infecção cruzada podem ser reduzidos. Enfatizamos que a portaria ministerial vigente não exija tal separação.

8. CONCLUSÃO

- A prevalência do HCV foi de 7.2% nos pacientes renais crônicos em terapia dialítica na cidade de Imperatriz-MA.
- Nos pacientes renais crônicos em terapia dialítica na cidade de Imperatriz-MA foi encontrado somente o genótipo viral 1 do HCV.
- O sexo masculino e o tempo de tratamento representaram importantes fatores de riscos para a aquisição do vírus HCV.
- Os pacientes sororeagentes para o HCV apresentaram níveis alterados nos valores da alanina aminotransferase (ALT).
- Este estudo teve como importância a identificação da incidência do HCV em renais crônicos no interior do estado do Maranhão. Apesar de uma pequena quantidade de pacientes, os dados foram coincidentes com o país.
- A partir dos dados apresentados neste trabalho, será mais fácil modificar as rotinas ora estabelecidas no sentido de minimizar a transmissão do vírus.

9. REFERÊNCIAS

- ALTER, M.J. Epidemiology of hepatitis C virus infection. **World Journal of Gastroenterology**; 13(17): 2436-2441, 2007.
- AMORIM, R.M.S.; RAIOL, T.; TREVIZOLI, J.E.; NEVES, F.A.R.; MARTINS, C.R.F.; MARTINS, R.M.B. Hepatitis C genotypes in hemodialysis patients in the Federal District, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 52 (1):57-60, 2010.
- AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. **BioEstat 5.0 ó aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém. Mamirauá, 2007.
- BABINSKI, C.E.; NUNES, E.M.A.; LOCATELLI, R.; MELLA JR, S.E. Prevalência de infecção pelo vírus da hepatite A, hepatite B e hepatite C, no município de Maringá, norte do Paraná, no período de 2001 a 2004. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 2, p. 117-124, maio/ago, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Hepatites Virais: o Brasil está atento**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
- _____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 154. 2004.
- _____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de AIDS, DST e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico Hepatites Virais**. Brasília: Ministério da Saúde, Ano II, n.1. 2011.
- _____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Relatório de situação ó Maranhão. Série C, projetos, programas e relatórios: Ministério da Saúde, Brasília, 2011.
- CALADO, R.D.A. **Diversidade genética do vírus da Hepatite C circulante numa população de usuários de drogas injetáveis de Lisboa**. Lisboa, 2009. 102 f. Dissertação (mestrado) ó Universidade Nova de Lisboa. Lisboa, 2009.
- CAMPIOTTO, S., PINHO, J.R.R., CARRILHO, F.J.; 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**. 38 (1): 41-49. 2005.
- CARNEIRO, M.A.S.; MARTINS, R.M.B.; TELES, S.A.; SILVA, S.A.; LOPES, C.L.; CARDOSO, D.D.P.; VANDERBORGHT, B.O.M.; YOSHIDA, C.F.T. Hepatitis C prevalence and risk factors in hemodialysis patients in central Brazil: a survey by Polymerase Chain Reaction and serological methods. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 96: 765-769, 2001.
- CHARLES, E.D., DUSTIN, L.B. Hepatitis C virus-induced cryoglobulinemia. **Kidney International**, 76 (8): 55-58, 2009.
- CHEINQUER, H., FOCACCIA, R., Tratamento das formas crônicas. In: FOCACCIA, R. **Tratado de hepatites virais**. 2.ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2007. p.493- 557.

CHERUBINI, C. Prevenzione della trasmissione nosocomiale dell' infezione HCV. 2005. Disponível em www.malattidireni.it. Acesso em 15/05/2012.

CHOO, Q., PINHO, J.R.R. **Virologia molecular. Variabilidade viral**. In: FOCACCIA, R. Tratado de hepatites virais. Cap. 4.1., 2.ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2007. p.177- 186.

EDEY, M., BARRACLOUGH, K., JOHNSON, D. W. Review article: hepatitis B in dialysis. **Nefrology**, 15, 137-145, 2010.

ELEMENTOS DE QUIMICA_FISICA. Disponível em: www.elementosmiebm.blogspot.com.br. Acesso em 20/05/2012.

ESPINOSA, M.; MARTIN-MALO, A.; LARA, M.A.A.; ALJASSO,P. Risk of death and liver cirrhosis in anti-HCV positive long-term hemodialysis patients. **Nephrology Dialysis Transplantation**, 16: 1669-74, 2001.

FERMI, M.R.V. **Diálise para enfermagem- guia prático**. 2.ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2010.

GOMES, S.A. Genoma Viral. In: FOCACCIA, R. **Tratado de hepatites virais**. Cap. 3.1., 2.ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2007. p.107- 113.

HEMODIÁLISE ó PARTE 2. Disponível em: www.unicagestao.egaleo.uin5.net>. Acesso em 20/05/2012.

JORGE, S.G. **Hepatite B: introdução e epidemiologia**. Disponível em: <http://www.hepcentro.com.br>>Acesso em: 10 jan. 2011.

JOUKAR, F.; BESHARATI, S.; MIRPOUR, H.; MANSOUR-GHANAEI, F. Hepatitis C and Hepatitis B seroprevalence and associated risk factors in hemodialysis patients in Guilan province, north of Iran. **Hepatitis monthly**,11 (3): 178-181, 2011.

EL KHOURI, M.; CORDEIRO, Q.; LUZ, D.A.B.P.; DUARTE, L.S.; GAMA, M.E.A.; CORBETT, C.E.P. Endemic hepatitis E and C virus infections in a Brazilian eastern amazon region. **Arq. Gastroenterol**,v.47, n. 1, jan-mar, 2010.

LAURENTI, R.; JORGE, M.H.P.M.; GOTLIEB, S.L.D. Perfil epidemiológico da morbimortalidade masculina. **Ciências e saúde coletiva**. 10(1): 35-46, 2005.

LEÃO, J.R.; PACE, F.H.L.; CHEBLI, J.M.F. Infecção pelo vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise: prevalência e fatores de risco. **Arq. Gastroenterol**, v.47, n.1, jan-mar, 2010.

LEWIS-XIMENEZ, L.L. Epidemiologia molecular de hepatite B e C, Brasil, 2008. Disponível em: www.epi2008.com.br>. Acesso em: 25/02/2012.

MARTIN, I. Disponível em www.renalvida.com.br>. Acesso em 13/10/2012.

MARTINS, T.; NARCISO-SCHIAVON, J.L.; SCHIAVON, L. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. **Rev. Assoc. Med. Bras**. 57 (1): 107-112. 2011.

MEDEIROS, M.T.G.; LIMA, J.M.C.; LIMA, J.W.O.; CAMPOS, H.H.; MEDEIROS, M.M.C.; COELHO FILHO, J.M. Prevalência e fatores associados à hepatite C em pacientes de hemodiálise. **Rev. Saúde Pública.** 38(2): 187-93.2004.

MELLO, L.A.; MELO-JUNIOR, M.R.; ALBUQUERQUE, A.C.C.; COELHO, M.R.C.D. Soroprevalência da hepatite C em pacientes hemodialisados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** 40 (3): 290-294, mai-jun, 2007.

MINA, P.; GEORGIADOU, S.P.; RIZOS, C.; DALEKOS, G.N.; RIGOPOULOU, E.I. Prevalence of occult hepatitis B vírus infection in hemodialysis patients from central Greece. **World Journal of Gastroenterology**, vol 16, n.2, Janeiro 2010.

MOHAMED, W.Z. Prevention of hepatitis C virus in hemodialysis patients: five years experience from a single center. **Saudi J. Kidney Dis Transpl.** 21(3): 548-554, 2010.

MORADPOUR, D.; PENIN, F.; RICE, C.M. Replication of Hepatitis C virus. **Nat. Rev. Microbiol**, 2007; 5: 453-463.

MORSCH, C., VICARI, A., JACOBY, T., BARROS, E. **O controle de infecções na unidade de diálise.** In: Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento. Cap 32, 3.ed. Porto Alegre, 2006.

NAKATANI, S.N. **Genotipagem do vírus da hepatite C por PCR em tempo real com base na análise da região NS5B.** São Paulo, 2008. Tese (doutorado) ó Universidade de São Paulo.

PENIDO, J.M.M.O. **Soroprevalência de hepatite C em pacientes em hemodiálise no estado de Minas Gerais.** Belo Horizonte, 2006. Dissertação (mestrado)- Universidade Federal de Minas Gerais.

PERONE, C.; CASTILLO, D.M.; PEREIRA, G.L.; CARVALHO, N.O.; JANUÁRIO, J.N.; TEIXEIRA, R. Alta prevalência do genótipo 1 em portadores de hepatite C crônica em Belo Horizonte, MG. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** 41 (3): 238-242, mai-jun, 2008.

PUJOL, F.H. & Devesa, M. (2005). Genotypic Variability of Hepatitis Viruses Associated to Chronic Infection and to the Development of Hepatocellular Carcinoma. **J. Clin. Gastroenterol.** 39: 611-618.

QUEIROZ, M.V.O.; DANTAS, M.C.Q.; RAMOS, I.C.; JORGE, M.S.B. Tecnologia do cuidado ao paciente renal crônico: enfoque educativo-terapêutico a partir das necessidades dos sujeitos. **Texto Contexto Enferm**, Florianópolis, 2008 Jan-Mar; 17(1): 55-63.

SABAHI, A. Hepatitis C vírus entry: the early steps in the viral replication cycle. **Virology Journal.** 6:11, 2009.

SESSO, R.; LOPES, A.A.; THOMÉ, F.S.; BEVILACQUA, J.L.; ROMÃO JÚNIOR, J.E.; LUGON, J. Relatório do censo de diálise 2008. **J. Bras. Nefrol.** 30(4). 133-8, 2008.

SIMMONDS, P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus ó 15 years on. **Journal of General Virology** (2004), 85, 3173-3188.

SISTEMA RENAL ó FISIOLOGIA HUMANA. Disponível em: www.fisiorenal.blogspot.com.br. Acesso em 20/05/2012.

STANNARD, L. **Virus Ultra Structure**. Disponível em: <<http://www.web.uct.ac.za>> Acesso em 10/03/2011.

STRAUSS, E., SETTE JR, H., NOBRE, M.R.C., BARROS, M.F.A., PESSÔA, M.G., LOPES, E., OLIVEIRA, C.P.M.S., DE MENDONÇA, J.S., OLIVEIRA, M.B., GALIZZI FILHO, J., LOPES, A.C. **Hepatite B crônica: tratamento**. Projeto Diretrizes, 2009 .

TANAKA, T., TAKO, N., CHO, M. J., SUGIYAMA, K., SHIMOTOHNO, K. Structure of the 3' terminus of the hepatitis C virus genome. **Journal of Virology** 1996; 70(5): 3307-12.

TELAKU, S.; FEJZA, H.; ELEZI, Y.; BICA, J. T. Hepatitis B and C in dialysis units in Kosova. **Virology Journal**, 2009, 6:72.

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 of Infectious Diseases**. 9 (5): 374-383, 2005.

Transplante renal. Disponível em: <transdoreso.org>. Acesso em 21/05/2012.

TRENTINI, M., CORRADI, E.M., ARALDI, M.A.R., TIGRINHO, F.C. Qualidade de vida em pessoas dependentes de hemodiálise considerando alguns aspectos físicos, sociais e emocionais. **Enferm**. 2004. Jan-Mar; 13(1): 74-82.

TREVISOLI, J.E. **Hepatite C em pacientes portadores de insuficiência renal crônica em hemodiálise: aspectos histológicos, bioquímicos e virológicos**. Tese (Doutorado em patologia molecular) ó Brasília, Universidade de Brasília, 2008. 113p.

VAISBICH, M.H.; FURUSAWA, E.A.; FUJIMURA, M.D.; DIOGO, C.L.; OLIVEIRA, L.C.; OKAY, Y.; KOCH, V.H. Vacina contra hepatite B em crianças com insuficiência renal crônica sob tratamento conservador. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, 20 (2): 138-143, 1998

VASCONCELOS, R.R.; Fatores associados às formas evolutivas graves da infecção crônica pelo vírus da hepatite C. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 39 (5):433-438, set-out, 2006.

VERONESI, R., FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2ed. São Paulo. Atheneu, 2004.

10. APÊNDICES



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL**

PROJETO: Soroprevalência de hepatites B e C em pacientes em terapia de substituição renal na cidade de Imperatriz – Maranhão no período de janeiro de 2010 e dezembro de 2010.

I - IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____ Idade: _____
 Sexo: () Masc. () Fem. Peso _____ Altura _____ Cor: _____
 Naturalidade: _____ Data de nascimento ____/____/____
 Residência Atual _____
 Tempo de residência: _____
 Telefones: _____
 Paciente encaminhado por qual instituição? _____

II – ESTILO DE VIDA

Estado Marital: () Solteira () Casada () União estável
 Uso de preservativo: () Sempre () Algumas vezes () Nunca
 Uso de anticoncepcional: () Sim () Não Qual? _____
 Uso de álcool: () Frequentemente () Eventualmente () Nunca
 Fumo: () Frequentemente () Eventualmente () Nunca
 Uso de drogas: () Sim () Não Qual? _____
 Idade da primeira relação sexual _____ Nº de parceiros nos últimos dois anos _____
 Já teve alguma DST? () Sim () Não Qual? _____

III – CONDIÇÃO DE SAÚDE

Já realizou exame de endoscopia? () Não () Sim Quando e quantas vezes? _____
 Transfusão sanguínea? () Não () Sim Quando e quantas vezes? _____
 Transplantes de órgãos? () Não () Sim Quando e quantas vezes? _____
 Hemodiálise () Não () Sim Quando e quantas vezes? _____
 Internação hospitalar () Não () Sim Quando e quantas vezes? _____
 Cirurgias dentárias? () Não () Sim Quando e quantas vezes? _____
 Tatuagem? () Não () Sim Quando e quantas vezes? _____
 Manicure () Não () Frequentemente () Raramente _____
 Doenças : Diabetes () Não () Sim
 Hipertensão () Não () Sim
 Cardiopatas () Não () Sim
 Distúrbios renal () Não () Sim
 Doenças infecciosas () Não () Sim Qual? _____
 Outras? _____
 Toma algum medicamento controlado? () Não () Sim Qual? _____

IV- ANTECEDENTES FAMILIARES:

1- Algum familiar já teve hepatite? Sim () Não ()
 Quem e qual? _____

V - CONDIÇÕES HABITACIONAIS

Saneamento: () Bom () Razoável () Ruim

Abastecimento de água: () Encanada () Poço () Rios e lagos

Fossa: () Sanitária () Fossa Negra

Número de pessoas na casa: ____ Adultos () ____ Crianças () Número de cômodos da casa: ____

VI – CONDIÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS**→ GRAU DE INSTRUÇÃO**

Grau de instrução	pts	Grau de instrução	Pts
ANALFABETO/SEMIANALFABETO		2º GRAU INCOMPLETO (1º A 3º ANO)	
FUNDAM INCOMPLETO (1ª A 4ª)		2º GRAU COMPLETO	
FUNDAM COMPLETO		ENS SUPERIOR INCOMPLETO	
ENS MÉDIO INCOMPLETO (5ª A 8ª)		ENS SUPERIOR COMPLETO	
ENS MÉDIO COMPLETO			

PROFISSÃO: _____

→ SALÁRIO FAMILIAR

() < que 1 mínimo () 2 mínimos () > que 10 mínimos

() 1 mínimo () de 3 a 5 mínimos () de 5 a 10 mínimos

→ POSSE DE ITENS:

Itens	Sim	Não	Quantidade	Pts
TELEVISÃO EM CORES				
SOM/RÁDIO				
GELADEIRA				
FREEZER/DUPLEX				
SOFÁ				
VÍDEO CASSETE E/OU DVD				
BANHEIRO				
AUTOMÓVEL				
EMPREGADA MENSALISTA				

VII – EXAMES REALIZADOS

EXAMES	VALORES	DATA
TGO		
TGP		
Gama GT		
Fosfatase Alcalina		
Anti-HCV		
PCR		
Biópsia		
Genótipo		

Responsável pela coleta:



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL**

TERMO DE ESCLARECIMENTO E CONSENTIMENTO LIVRE

PROJETO: Soroprevalência de hepatites B e C em pacientes em terapia de substituição renal na cidade de Imperatriz ó Maranhão no período de janeiro de 2010 e dezembro de 2010.

Esta pesquisa possui como principal objetivo estudar a prevalência da infecção pelo vírus hepatite B e C nos pacientes atendidos nas unidades de nefrologia da cidade de Imperatriz-MA. Para tanto é necessário coletar sangue, com essa finalidade prestamos os seguintes esclarecimentos:

- 1-Serão realizados exames de sangue para pesquisar a infecção pelo vírus da Hepatite B e C.
- 2- O benefício para quem participa da pesquisa é a realização dos exames que auxiliaram no diagnóstico e tratamento da doença.
- 3- Os exames realizados pela pesquisa serão gratuitos, não necessitando nenhum custo por parte do participante para sua realização.
- 4- Os resultados dos exames realizados pela pesquisa serão usados como dados da pesquisa, omitindo-se a identidade do participante.
- 5- Somente o pesquisador responsável e o médico ficarão sabendo da participação e se for necessário, autoridades de saúde poderão ser informados para tomar medidas que beneficiem o participante da pesquisa ou outras pessoas.
- 6- Ninguém é obrigado a participar da pesquisa, assim como poderá se retirar dela no momento que desejar, sem qualquer prejuízo pessoal.

Solicitamos assim, a sua autorização para efetuarmos o referido exame e realizarmos uma entrevista, sendo que a mesma é confidencial; para desenvolvermos o estudo em questão.

CONSENTIMENTO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo do mesmo, assim como seus benefícios. Declaro ainda que por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame.

Belém, _____ / _____ / _____

ASSINATURA DO PACIENTE

Pesquisadora responsável: Maria Izabel Leite da Silva
Endereço: Av. Dorgival Pinheiro de Sousa, 1400 ó Centro ó Imperatriz-MA
Telefone: (99) 3524-3658E-mail: izabelleite@yahoo.com.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. **Protocolo:** N°017/2011-CEP/NMT
2. **Projeto de Pesquisa:** Prevalência de Hepatites B e C em Pacientes em Terapia de Substituição Renal na Cidade de Imperatriz – Maranhão.
3. **Pesquisador Responsável:** Maria Izabel Leite da Silva
4. **Instituição / Unidade:** NMT/UFPA.
5. **Data de Entrada:** 16/05/2011.
6. **Data do Parecer:** 31/05/2011.

PARECER

O Comitê de Ética em Pesquisa do NMT/UFPA apreciou o protocolo em tela e, verificou que foram atendidas todas as exigências da Resolução 196/96-CNS/MS. Portanto, manifesta-se pela sua aprovação.

Parecer: **APROVADO.**

Belém, 31 de maio de 2011.

Prof.ª Dr.ª Helen Thais Fuzii
Coordenadora do CEP-NMT/UFPA.