



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

MARIA DE JESUS RODRIGUES DE FREITAS

**PESQUISA E GENOTIPAGEM DO VÍRUS DA HEPATITE C EM PORTADORES DE
DOENÇAS RENAIIS CRÔNICAS SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE**

Belém-Pará

2012

MARIA DE JESUS RODRIGUES DE FREITAS

**PESQUISA E GENOTIPAGEM DO VÍRUS DA HEPATITE C EM PORTADORES DE
DOENÇAS RENAIIS CRÔNICAS SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Doenças Tropicais.

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

Belém-Pará

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Biblioteca da UEPA/CCBS/CAMPUS II

F866p Freitas, Maria de Jesus Rodrigues

Pesquisa e genotipagem do vírus da hepatite C em portadores de doenças renais crônicas submetidos à hemodiálise / Maria de Jesus Rodrigues; Orientadora Luisa Carício Martins. 2012.
101 f.

Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais) ó Universidade Federal do Pará. Nucleo de Medicina Tropical, Belém, 2012.

1. Hepatite C. 2. Genótipos 3. Hemodiálise. 4. Doenças Renais. I.Martins, Luisa Carício. Orient. II. Título.

CDD 21. ed. 616.3623

MARIA DE JESUS RODRIGUES DE FREITAS

**PESQUISA E GENOTIPAGEM DO VÍRUS DA HEPATITE C EM PORTADORES DE
DOENÇAS RENAIIS CRÔNICAS SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Doenças Tropicais.

Aprovado em: 20/12/2012

Banca examinadora:

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Luísa Carício Martins.
Núcleo de Medicina Tropical ó NMT/UFPA

Prof. Dr, José Luiz do Nascimento
Núcleo de Medicina Tropical ó NMT/UFPA

Prof^ª Dr^ª Tereza Cristina Corvelo
Núcleo de Medicina Tropical ó NMT/UFPA

Prof^ª Dr^ª Hellen Thaís Fuzii
Núcleo de Medicina Tropical ó NMT/UFPA

Prof^ª Dr^ª Maria da Conceição N. Pinheiro - Suplente
Núcleo de Medicina Tropical ó NMT/UFPA

Ao meu pai,
Salomão Fernandes de Freitas,
Com imensa saudade e gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Luísa Carício Martins, minha orientadora, profissional extremamente dedicada e competente, por todos os seus ensinamentos, sua disponibilidade e amizade, sempre com carinho, alegria e bom humor.

A toda equipe do Laboratório de Patologia Clínica das Doenças Tropicais do NMT/UFPA, Amanda Alves Fecury, Marcella Kelly Costa de Almeida, Andrei Silva Freitas, Andrea Marinho da Silva, Ygor Fernando Ferreira da Costa, Renata Aparecida Andrade da Costa, Patrícia Ferreira, Maria de Fátima Martins e Socorro de Fátima Dantas, que realizaram toda a parte técnica da pesquisa, sem os quais eu não teria realizado este trabalho.

Aos graduandos de medicina da UEPA, Josiane Lilian de Sousa Lima e Orestes Gastão de Toledo Bozza Neto, pela grande ajuda na coleta e organização dos dados epidemiológicos, pela dedicação que têm no curso de medicina da UEPA e que inspira a todos nós docentes.

As enfermeiras das unidades de hemodiálise, que muito se dispuseram na coleta do material biológico, em especial as amigas Maria das Graças Oliveira da Silva e Dieynne Christine Ferreira Sozinho, incansáveis, sempre disponíveis enquanto precisei.

Aos médicos nefrologistas, Drs. Silvana Campos, Mário Lobato, Ednaldo Lobato, Ana Lídia Cabeça, Cristina Bernardino, Alzira Paula Carvalho e João Marildo, responsáveis técnicos das unidades de hemodiálise, que abriram as portas dos serviços, para que eu pudesse realizar este trabalho.

As amigas Lianne Brito e Miraceli Sousa, do Hospital Ofir Loyola, pela ajuda e estímulo nos momentos iniciais da coleta de dados e materiais, quando tudo parecia difícil.

Ao amigo Luciano Amaral, incansável e cuidadoso, de grande ajuda na coleta e transporte de material e no essencial contado com as clínicas.

À querida Amanda de Freitas Romeiro, que me ajudou com as figuras deste estudo.

Aos pacientes, que com todo sofrimento diário, nunca perderam a esperança, exemplos de vida para todos. Meus sinceros respeitos e agradecimentos por tudo que me ensinaram durante a minha vida.

*õ.....Compositor de destinos
Tambor de todos os ritmos
Tempo tempo tempo tempo
Entro num acordo contigo
Tempo tempo tempo tempo...ö*

Caetano Veloso (Oração ao Tempo)

RESUMO

Pacientes com doença renal crônica tem alto risco de adquirir o vírus da hepatite C (VHC). A prevalência de hepatite C em unidades de hemodiálise é elevada. O estudo teve por objetivo avaliar a presença do VHC e seus diferentes genótipos em portadores de doença renal crônica que realizaram hemodiálise em Belém e região metropolitana, no Estado do Pará, Brasil, determinando a prevalência do vírus, genótipos e as características epidemiológicas dos portadores da doença renal crônica. Foi realizado um estudo transversal, em sete unidades de hemodiálise das cidades de Belém e região metropolitana, no período de outubro de 2011 a abril de 2012. Foi aplicado um questionário com dados sociais, epidemiológicos e sobre a presença de fatores de risco para hepatites virais. Material biológico foi coletado dos pacientes para os exames ELISA e PCR VHC. Os pacientes com presença de RNA viral foram avaliados quanto aos genótipos. A prevalência dos anticorpos para VHC entre os indivíduos estudados foi de 8,4%, enquanto 5,4% apresentaram RNA viral, com 0,1% entre os não reagentes. O genótipo 1 foi o mais prevalente, com 86,1%, seguido do tipo 2, com 11,6%. O tipo 3 teve somente 2,3%. A análise epidemiológica mostrou predomínio do sexo masculino, faixa etária de 49 anos, casados ou em união estável, com baixo nível de escolaridade e renda familiar de até 2 salários mínimos. A principal causa da doença renal crônica foi o diabetes mellitus (34,4%), seguida de glomerulonefrites (18,6%) e hipertensão arterial (17,1%). O tempo de hemodiálise foi significativamente importante fator de risco para aquisição do VHC ($p=0,012$), com a maioria dos portadores do VHC que adquiriram a doença durante hemodiálise estava acima de 5 anos de tratamento ($p= 0,0001$). Outro fator de risco associado ao VHC foi transplante de órgão prévio. Conclui-se que, em Belém e região metropolitana, a prevalência de VHC em hemodiálise foi elevada e o genótipo mais frequente é o mesmo da população geral no norte do Brasil.

Palavras-chaves: Hepatite C, Genótipos, Hemodiálise, Doenças Renais

ABSTRACT

Patients with chronic kidney disease are at high risk of acquiring hepatitis C virus (HCV). The prevalence of hepatitis C in hemodialysis units is high. The study aimed to assess the presence of HCV and its different genotypes in patients with chronic kidney disease who underwent hemodialysis in Belém and metropolitan area in the state of Pará, Brazil, determining the prevalence of the virus genotypes and epidemiological characteristics of patients with chronic kidney disease. We conducted cross-sectional study, hemodialysis units in seven cities of Belém and metropolitan area in the period from October 2011 to April 2012. A questionnaire was applied to social data, epidemiological and on the presence of risk factors for viral hepatitis. Biological material was collected from the patients for HCV PCR and ELISA tests. Patients with the presence of viral RNA were evaluated for genotypes. The prevalence of antibodies to HCV between the groups was 8.4%, while 5.4% had viral RNA, with 0.1% among those who were negative. Genotype 1 was the most prevalent, with 86.1%, followed by type 2, with 11.6%. The type 3 was only 2.3%. Whereas epidemiological analysis showed male predominance, age 49, married or in a stable, low education level and family income of up to two minimum wages. The main cause of CKD was diabetes mellitus (34.4%), followed by glomerulonephritis (18.6%) and hypertension (17.1%). The duration of hemodialysis was significantly important risk factor for acquiring HCV ($p = 0.012$), with the majority of HCV patients who acquired the disease during hemodialysis were above 5 years of treatment ($p = 0.0001$). Another risk factor associated with HCV was prior organ transplant. We conclude that, in Belém and the metropolitan area, the prevalence of HCV in hemodialysis was high and the most frequent genotype is the same as the general population in northern Brazil.

Keywords: Hepatitis C, Genotypes, Hemodialysis, Kidney diseases

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	página
Figura 1. Vírus da hepatite C, com 50 nm de diâmetro	19
Figura 2. Representação da glicoproteína codificada do genoma do vírus da hepatite C	20
Figura 3. Ciclo de vida do VHC	22
Figura 4. Árvore filogenética do genoma completo do VHC	24
Figura 5. Distribuição geográfica da prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C	27
Figura 6. Distribuição da prevalência do VHC nas diversas regiões do Brasil	28
Figura 7. Padrões de prevalência do VHC por faixa etária, segundo países selecionados	29
Figura 8. Distribuição dos genótipos do VHC nas diferentes regiões do Brasil	31
Figura 9. Aspecto histopatológico da hepatite C crônica	33
Quadro 1. Estadiamento histológico das hepatites crônicas. ESCORE METAVIR	35
Quadro 2. Estadiamento e classificação da doença renal crônica	36
Figura 10. Esquema representativo do procedimento de hemodiálise	38
Figura 11. Prevalência de pacientes com sorologia positiva para hepatite B, C e HIV, 2000-2010	40
Figura 11. Visualização de bandas do produto da PCR em gel de agarose observado em luz ultravioleta	53
Figura 12. Visualização da combinação dos cortes feitos pelas enzimas de restrição AVA II e RSA I	54

LISTA DE TABELAS

	página
Tabela 1. Distribuição do resultado do teste imunoenzimático para pesquisa de anticorpos VHC específicos nas unidades de hemodiálise	56
Tabela 2. Período de aquisição do VHC relacionado às unidades de hemodiálise	57
Tabela 3. Comparação dos métodos sorológicos e de biologia molecular no diagnóstico do VHC em pacientes submetidos à hemodiálise	57
Tabela 4. Distribuição dos genótipos do VHC relacionados às unidades de hemodiálise	58
Tabela 5. Caracterização sócio-epidemiológica dos indivíduos estudados	59
Tabela 6. Distribuição por faixa etária dos indivíduos estudados	60
Tabela 7. Distribuição segundo a causa da doença renal crônica	60
Tabela 8. Distribuição por ocupação/atividade profissional por classes ou áreas de atuação	61
Tabela 9. Tempo de hemodiálise dos indivíduos estudados	62
Tabela 10. Período de aquisição do VHC informado pelo paciente relacionado ao tempo de hemodiálise	62
Tabela 11. Comparação entre os fatores de risco para aquisição da infecção pelo VHC relacionados ao comportamento sexual e o resultado do Elisa para pesquisa de anticorpos HCV específicos	63
Tabela 12. Comparação entre os fatores de risco para aquisição da infecção pelo VHC relacionados às condições clínicas e procedimentos e o resultado do Elisa para pesquisa de anticorpos VHC específicos	64
Tabela 13. Comparação entre os fatores de risco para aquisição da infecção pelo VHC relacionados ao hábito de vida e o resultado do Elisa para pesquisa de anticorpos VHC específicos	65

LISTA DE ABREVIATURAS

aa. (Aminoácidos)

ALT (Alanina aminotransaminase)

Anti-VHC (Anticorpos contra o vírus da hepatite C)

ARFP (Proteína do sistema de leitura alternativa - *alternative reading frame protein*)

C (core)

CDC (*Center for Diseases Control and prevention*)

CNS (Conselho Nacional de Saúde)

DNA (Ácido Desoxidoribonucleico)

DRC (Doença renal crônica)

E (Envelope)

ELISA (Ensaio imunoenzimático)

HIV (Vírus da imunodeficiência adquirida)

HVR (Regiões hipervariáveis)

IRES (Sítio interno para entrada ribossomial)

Kb (Quilobases)

KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*)

LDLR (Receptor de lipoproteínas de baixa densidade)

nm (Nanômetro)

nt (Nucleotídeos)

NMT (Núcleo de Medicina Tropical)

NS (Não estruturais)

ORF (Matriz aberta de leitura - *open Reading frame*)

pb (Pares de bases)

PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)

RdRp (RNA dependente RNA polimerase)

RE (Retículo endoplasmático)

RFLP (Tamanho do fragmento de polimorfismo restrito - *Restriction Fragment Length Polymorphism*)

RNA (Ácido Ribonucleico)

RNA-VHC (Ácido Ribonucleico do vírus da hepatite C)

RNT (Região não traduzida)

RT-PCR (Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa)

VHB (Vírus da hepatite B)

VHC (Vírus da hepatite C)

TMA (Amplificação mediada por transcrição)

UDH (Unidades de Hemodiálise)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	JUSTIFICATIVA	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	BIOLOGIA DO VÍRUS DA HEPATITE C	18
3.1.1	Considerações gerais	18
3.1.2	Características morfológicas do vírus da hepatite C	18
3.1.2.1	Estrutura e organização genômica	18
3.1.2.2	Proteínas virais	20
3.1.3	O ciclo de vida do vírus da hepatite C	22
3.1.4	Genótipos e variabilidade genética do vírus da hepatite C	23
3.2	EPIDEMIOLOGIA DO VÍRUS DA HEPATITE C	25
3.2.1	Transmissão do vírus da hepatite C	25
3.2.2	Prevalência do vírus da hepatite C	26
3.2.3	Distribuição geográfica dos genótipos do vírus da hepatite C	30
3.3	IMUNOPATOGENIA DO VÍRUS DA HEPATITE C	31
3.3.1	Patogênese do vírus da hepatite C	31
3.3.2	Alterações anatomopatológicas da hepatite C	32
3.4	ASPECTOS CLÍNICOS DA HEPATITE C	33
3.4.1	Historia natural da hepatite C	33
3.4.2	Diagnóstico da hepatite C	34
3.4.3	Tratamento da hepatite C	35
3.5	HEPATITE C EM PORTADORES DE DOENÇA RENAL CRÔNICA	36
3.5.1	Disfunção imunológica na doença renal crônica	36
3.5.2	Hemodiálise e o risco de infecção	37
3.5.3	Epidemiologia do vírus da hepatite C em hemodiálise	39
3.5.4	Fatores de risco da transmissão do vírus C em hemodiálise	40
3.5.5	Transplante renal e hepatite C	42
3.5.6	Características clínicas da hepatite C na DRC	43
4	OBJETIVOS	46
4.1	OBJETIVO GERAL	46

4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
5	MATERIAL E MÉTODOS	47
5.1	CASUÍSTICA	47
5.1.1	Desenho do estudo	47
5.1.2	Local do estudo	47
5.1.3	Aspectos éticos	48
5.1.4	Caracterização da amostra	48
5.1.5	CrITÉrios de inclusão e exclusão	48
5.1.5.1	CrITÉrios de inclusão	48
5.1.5.2	CrITÉrios de exclusão	48
5.2	MÉTODOS	49
5.2.1	Obteno dos dados epidemiológicos	49
5.2.2	Obteno do material biológico	49
5.2.3	Diagnóstico sorológico da hepatite C	50
5.2.4	Deteco dos ácidos nucléicos do vírus da hepatite C por biologia molecular	51
5.2.5	Determinao do genótipo do vírus da hepatite C	53
5.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	55
6	RESULTADOS	56
6.1	DADOS DE PREVALÊNCIA DO VÍRUS DA HEPATITE C	56
6.2	CARACTERIZAO SÓCIO-EPIDEMIOLOGICA	58
6.3	FATORES DE RISCO PARA AQUISIO DO VÍRUS DA HEPATITE C	61
7	DISCUSSÃO	66
8	CONCLUSÃO	72
9	REFERÊNCIAS	73
	APÊNDICES	84
	ANEXOS	87

1 INTRODUÇÃO

Pacientes com Doença Renal Crônica (DRC) em diálise tem alto risco de adquirir o vírus da Hepatite C (VHC), tendo como fatores mais importantes o tempo de diálise e a modalidade (OLIVEIRA et al., 2009).

A prevalência do VHC nas unidades de hemodiálise é alta, 5,8% (SESSO et al., 2011), com variações regiões e locais de 7,6 a 63% (OLIVEIRA et al., 2009). A maioria dos soropositivos apresenta viremia e tem risco elevado de progressão para a cronicidade, com aumento das taxas de cirrose e carcinoma hepatocelular. Frequentemente cursa sem sintomas, com marcadores virais inconclusivos e por vezes tendo que se usar a biópsia hepática como meio de diagnóstico da infecção (OLIVEIRA et al, 2009; CAMPOS E SILICIANO, 2010).

Foi observada uma maior associação com mortalidade por todas as causas e por doenças cardiovasculares em todos os pacientes renais crônicos em hemodiálise com anti-VHC soropositivo, que naqueles anti-VHC negativo (KALANTAR-ZADETH et al., 2007; PERICO et al., 2009).

A hemodiálise tem potencial risco de transmissão da infecção. A transmissão nosocomial é relevante entre pacientes em hemodiálise, através de punções frequentes e compartilhamento de equipamentos. Profissionais de saúde também têm risco de contaminação ambiental (MORALEZ E CAMPISTOL, 2000; OLIVEIRA et al., 2009).

O período de incubação da infecção pelo VHC é longo, em média 3 a 12 semanas, e os anticorpos surgem somente 4 a 20 semanas após o contágio. As formas anictéricas e a alanina aminotransaminases (ALT) são frequentemente normais. Sem o conhecimento da infecção, pode haver intensa transmissão parenteral nesse período; o melhor marcador de detecção precoce do vírus é a determinação do RNA-VHC (STRAUSS, 2001).

Os exames para triagem de hepatite C nas unidades de hemodiálise, segundo protocolo do Ministério da Saúde no Brasil, incluem o teste sorológico anti-VHC semestralmente ou na elevação de ALT, que deve ser realizada mensalmente (BRASIL, 2004). Existem variações de 0,8 a 2,3% de resultados falso-negativos para o anti-VHC, enquanto os testes de biologia molecular permitem identificar o VHC em imunodeprimido em até três semanas, sendo importante para detectar viremia nesses pacientes (OLIVEIRA et al. 2009).

As consequências clínicas da infecção viral em pacientes com DRC em hemodiálise são especialmente relevantes após o transplante renal. Não existe contraindicação para transplante renal em portadores crônicos de hepatite B e C, entretanto, a evolução clínica da hepatopatia e a sobrevida do enxerto são piores que nos não infectados. A imunossupressão acelera a

infecção, com aumento da replicação viral e progressão mais rápida da doença hepática (DESCAMPS-LATSCHA et al., 1999; GONÇALVES et al., 2006).

Alguns estudos brasileiros têm mostrado a prevalência do vírus e dos genótipos em unidades de hemodiálise, nas diversas regiões do país (KARHOL et al., 1995; LAZARINI et al., 2000; MEDEIROS et al., 2004; FARAH et al., 2007; AMORIM et al., 2010). O conhecimento sobre a transmissão nosocomial nas unidades de hemodiálise foi permitido com o uso dos testes de genotipagem, que identificaram semelhanças entre as sequências de isolados de pacientes contaminados (FUROSYO et al., 2004; AMORIM et al., 2010).

Medidas de precaução universal de prevenção de infecção implantadas nas unidades de hemodiálise foram fundamentais no controle ambiental da transmissão do vírus da hepatite C (VHC) em hemodiálise, mas as taxas de prevalência continuam muito acima das observadas na população geral (CARNEIRO et al., 2005; KARKAR et al., 2006).

Estudos para detectar o VHC na população de portadores de DRC em hemodiálise e identificar as características epidemiológicas, clínicas e biológicas específicas nesse grupo poderão contribuir para o manejo da infecção, diagnóstico e tratamento precoce e controle das complicações, além de permitir o controle de disseminação da doença nas unidades. O uso de técnicas mais apuradas permite a detecção precoce, mesmo com níveis baixos de viremia, principalmente em pacientes assintomáticos e com exames sorológicos e aminotransaminases normais.

2 JUSTIFICATIVA

Aproximadamente 130 milhões de pessoas foram infectadas com o VHC no mundo todo, sendo que a maioria é assintomática e importante fonte de transmissão da doença. Os portadores crônicos têm alto risco de desenvolver doença hepática crônica, cirrose e hepatocarcinoma (ALTER, 2007).

A hepatite C é a principal causa de doença hepática crônica em pacientes em hemodiálise. A prevalência do vírus varia muito, de acordo com a região geográfica e as unidades de hemodiálise. Em alguns casos, os testes para detecção de anticorpos apresentam falso negativos, o que contribui para transmissão. Para esses pacientes são recomendados os testes de biologia molecular, a fim de identificar o RNA viral (SILVA et al., 2006).

Alguns estudos apontaram para a relação entre os aspectos clínicos da doença hepática, resposta ao tratamento e genótipo, o que desperta o interesse em identificação dos tipos em grupos de risco nas diferentes regiões do Brasil (SILVA et al., 2006).

Com relação à hemodiálise, as rotas de transmissão apontam para a grande influência do ambiente na disseminação do vírus. Compartilhamento de máquinas e equipamentos, pouco conhecimento e comprometimento da equipe de saúde são os vilões dessas taxas expressivas (AGARWAL, 2011). A biologia molecular teve papel importante na identificação desses fatores, ao observar o RNA viral e caracterizar os genótipos e subtipos presentes no ambiente.

No Pará, é o primeiro estudo extenso de identificação de genótipos e caracterização de sua presença nos diversos serviços que atendem pacientes em terapia substitutiva renal no Estado. O estudo é importante para verificar a prevalência da hepatite C e seus genótipos nesse grupo, a fim de entender os padrões de infecção que ocorrem nas unidades de hemodiálise da região.

Os resultados terão impacto epidemiológico na transmissão da doença nas unidades de hemodiálise, porque permitirão melhorias no controle da infecção, principalmente nos serviços mais afetados, corrigir falhas nas medidas de prevenção e diminuir a prevalência da doença nessa população, além de servir como base de dados sobre o tema.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 BIOLOGIA DO VÍRUS DA HEPATITE C

3.1.1 Considerações gerais

O vírus da Hepatite C (VHC) foi identificado em 1989, por Choo e colaboradores, quando foi responsabilizado por aproximadamente 90% das hepatites pós-transfusionais não-A, não-B (BARONE, 2010). A sequência de nucleotídeos só foi possível devido técnica de clonagem de DNA (CHOO et al., 1992; KATO, 2001).

A caracterização do genoma mostrou que o VHC é um membro do gênero *Hepacivirus*, da família *Flaviviridae*, na qual também estão incluídos o vírus da dengue, da febre amarela e *pestivirus* (MORADPOUR et al., 2007; SUZUKY et al., 2007).

Embora tenha algumas semelhanças na sua estrutura molecular com *flavivirus* e *pestivirus*, o VHC tem natureza incomum aos outros vírus, com muitas diferenças na sua organização genômica e grande diversidade genética. Diferente do grupo dos vírus de RNA, o VHC é capaz de manter infecção persistente na maioria dos indivíduos infectados (CHOO et al., 1992; SIMMONDS, 2004; SUZUKY et al., 2007).

3.1.2 Características morfológicas do vírus da hepatite C

3.1.2.1 Estrutura e organização genômica

O VHC (Figura 1) consiste em um envelope composto de duas camadas lipídicas, constituído de RNA de fita simples de polaridade positiva, medindo aproximadamente 50 nm de diâmetro (KATO, 2001; GOMES E NIEL, 2008; NOORALI et al., 2011). O genoma (Figura 2) tem uma longa matriz de leitura aberta (ORF - *open reading frame*) constituído de aproximadamente 9500 nucleotídeos (nt), que codificam uma poliproteína de cerca de 3000 aminoácidos (BARTENSCHLAGER E LOHMANN, 2000; SIMMONDS, 2004; SUZUKY et al., 2007; TANG E GRISÉ, 2009).

A proteína precursora do VHC é processada co- e pos-traducionalmente por protease celular e viral codificada para produzir as proteínas estruturais e não estruturais (ASHFAQ et al., 2011; NOORALI et al., 2011).

Em cada extremidade do genoma, distinguem-se duas regiões não traduzidas (RNT) 5' e 3' altamente estruturadas e importantes sítios de controle da transcrição e tradução (GOMES E NIEL, 2008; VISO E VASCONCELOS, 2010). Partindo da RNT 5' estão às proteínas estruturais do core(C) ou proteína do capsídeo e proteínas do envelope E1 e E2, esta com duas regiões hipervariáveis ó HVR 1 e 2, e a região p7. (MORADPOUR et al., 2007; TIMM E ROGGEENDORF, 2007; GOMES E NIEL, 2008; CRAWFORD E LIU, 2010). Nas proximidades de RNT 3' são observadas as proteínas não estruturais (NS): NS2, NS3, NS4A/B, NS5A e NS5B, estas últimas responsáveis pela replicação viral. (GOMES E NIEL, 2008, VISO E VASCONCELOS, 2010).

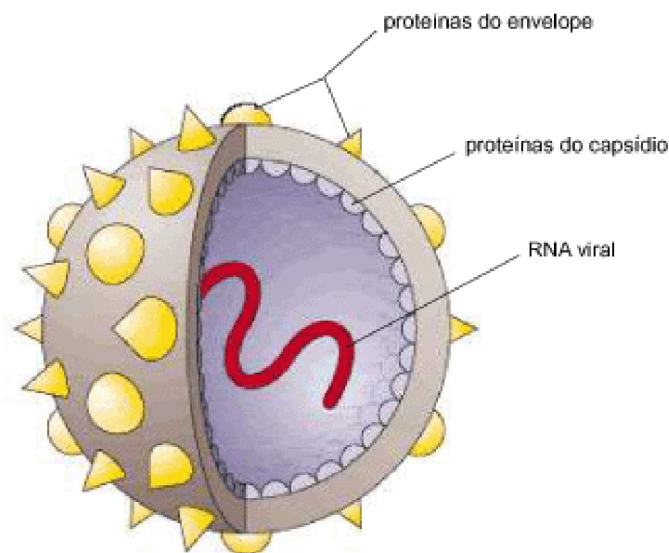


Figura 1. Vírus da hepatite C, com 50 nm de diâmetro.
Fonte: STRAUSS, 2001

Recentemente, foi adicionada à estrutura, uma proteína codificada por uma fase de leitura alternativa no core, chamada proteína F ou ARFP (*alternative Reading frame protein*), com 160 resíduos de aminoácidos, cuja função é desconhecida (TIMM E ROGGEENDORF, 2007; POLYAK E MELO, 2010; NOORALI et al., 2011). Embora seja uma proteína com função desconhecida, anticorpos contra a proteína F foram detectados durante infecção pelo VHC (NOORALI et al., 2011).

A RNT 5' tem aproximadamente 341 nt de comprimento, produzindo 04 (quatro) domínios altamente estruturados, nomeados de I a IV, que contém um sítio interno para entrada ribossomal (IRES), essencial para a tradução cap-independente do RNA viral

(SIMMONDS, 2004; SUZUKY et al., 2007; POLIAK E MELO, 2010; NOORALI et al., 2011). Acredita-se que a RNT 5' possua elementos determinantes da tradução viral, como o *cis-acting* (SIMMONDS, 2004; SUZUKY et al., 2007). É a região mais conservada do genoma entre as cepas virais (NOORALI et al, 2011).

A RNT 3' com comprimento de 200 a 235 nt possui uma pequena região variável de 80 nt, a sequência poli U/polipirimidinas e uma sequência invariável, com 98 nt, conhecida como X-tail, esta altamente conservada entre os genótipos, e ambas as regiões tendo importante papel na replicação viral. (SUZUKY et al., 2007; POLYAK E MELO, 2010).

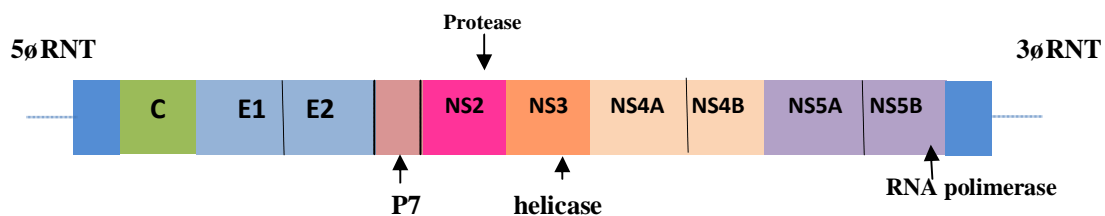


Figura 2: Representação da glicoproteína codificada do genoma do vírus da hepatite C.
Fonte: Adaptado de CRAWFORD & LIU, 2010.

3.1.2.2 Proteínas virais

Core (C) é uma proteína ligante do RNA, presumivelmente formadora do nucleocapsídeo viral. Sua sequência de aminoácidos (191 aa.) é altamente conservada entre as diferentes cepas de VHC. Provavelmente essa proteína é fundamental na replicação, maturação e patogênese do VHC, estando envolvida na formação do *virion*, em funções regulatórias como a modulação da sinalização de vias, na expressão gênica viral e celular, na transformação celular, na apoptose e no metabolismo lipídico viral. Em ratos transgênicos induz carcinoma hepatocelular (SUZUKY et al., 2007; POLYAK E MELO, 2010; NOORALI et al, 2011)

As duas proteínas do envelope, E1 e E2, representam importante papel na entrada do vírus na célula do hospedeiro (SUZUKY et al., 2007; ASHFAQ et al., 2011). E1 serve como subunidade fusogênica e E2 age como receptor ligante do envelope do VHC. As duas regiões hipervariáveis de E2, HVR 1 e HVR 2, estão em constante seleção por provável mutação, por isso são alvos de anticorpos neutralizantes. Estudos mostraram alta heterogeneidade genética

de HVR 1, que pode permitir que o VHC escape do sistema imune do hospedeiro e estabeleça infecção crônica (ASHFAQ et al., 2011).

A p7 é um pequeno polipeptídeo de 63 aminoácidos com funções pouco elucidadas, que separa as proteínas estruturais das proteínas não estruturais. Foi observado que são essenciais para produzir *virions* infecciosos *in vivo*. Pode pertencer a uma pequena família de proteínas, as vioporinas, que aumentam a permeabilidade da membrana, o que explicaria sua função de canal iônico (SUZUKY et al., 2007; NOORALI et al., 2011).

A proteína NS2 é uma proteína transmembrana, com 96 resíduos N-terminal altamente hidrofóbico formando 3-4 hélices transmembranas responsáveis pela inserção viral no retículo endoplasmático (RE). Apresenta atividade de protease zinco-dependente, junto com o domínio amino-terminal da NS3, formando protease NS2-3, que cliva o sítio entre as duas proteínas. A protease NS2-3 é essencial para replicação *in vivo* (POLYAK E MELO, 2010, NOORALI et al., 2011).

NS3-NS4A é um complexo molecular bifuncional, essencial para a replicação viral, responsável pela clivagem das demais proteínas não estruturais. NS3 é uma proteína hidrofóbica de 54 aa. com atividade serino-protease e helicase/NTPase. É sugerido que a atividade enzimática da NTPase/helicase da NS3 é desenrolar RNA intermediários dupla fita replicados, eliminando estruturas secundárias no RNA ou separando o genoma das proteínas ligantes de ácidos nucleicos (SUZUKY et al., 2007; POLYAK E MELO, 2010).

NS4A é uma proteína integral de membrana, com papel essencial na formação do complexo de replicação viral, atuando como estrutura de fixação na membrana do RE (POLYAK E MELO, 2010). A região central da NS4A age como cofator de atividade NS3 protease, que facilita sua estabilização e localização na membrana do RE (NOORALI et al., 2011).

A protease NS3-NS4 é essencial para o ciclo de vida do VHC, sendo um dos mais importantes alvos da terapêutica antiviral. *In vitro* antagoniza o mediador da indução do interferon na resposta a infecção viral. O vírus C pode utilizar a protease NS3-NS4 para contornar a resposta imunológica inata à infecção (NOORALI et al., 2011).

NS4B é uma proteína com função de fixação do complexo de replicação viral ao RE, tendo também propriedade de inibição da síntese celular, modulação da atividade do NS5B RdRp, transformação de células NIH3T3 e indução da interleucina 8 (TIMM E ROGGEENDORF, 2007; POLYAK E MELO, 2010; NOORALI et al., 2011). Tem papel importante na formação da membrana e se pressupõe que sirva de esqueleto na montagem do complexo de replicação (TIMM E ROGGEENDORF, 2007).

NS5A é uma zinco-metalo-proteína fosforilada, com papel pouco esclarecido, provavelmente na replicação viral e regulação das vias celulares (TIMM E ROGGEENDORF, 2007; POLIAK E MELO, 2010; NOORALI et al., 2011). NS5B é uma proteína com uma sequência de RNA-dependente RNA polimerase (RdRp), enzima-chave da replicação viral, que promove a síntese de novos genomas de RNA. É importante alvo para o desenvolvimento de drogas antivirais (SUZUKY et al., 2007; POLYAK E MELO, 2010, NOORALI et al., 2011).

3.1.3 O Ciclo de vida do vírus da hepatite C

O ciclo de vida do VHC (Figura 3) inicia com a entrada do vírus na célula do hospedeiro, e segue com liberação do genoma viral, tradução das proteínas virais, replicação do genoma viral, montagem dos componentes virais e liberação do *virion* (CHEVALIEZ E PAWLITSKY, 2007; POLYAK E MELO, 2010).

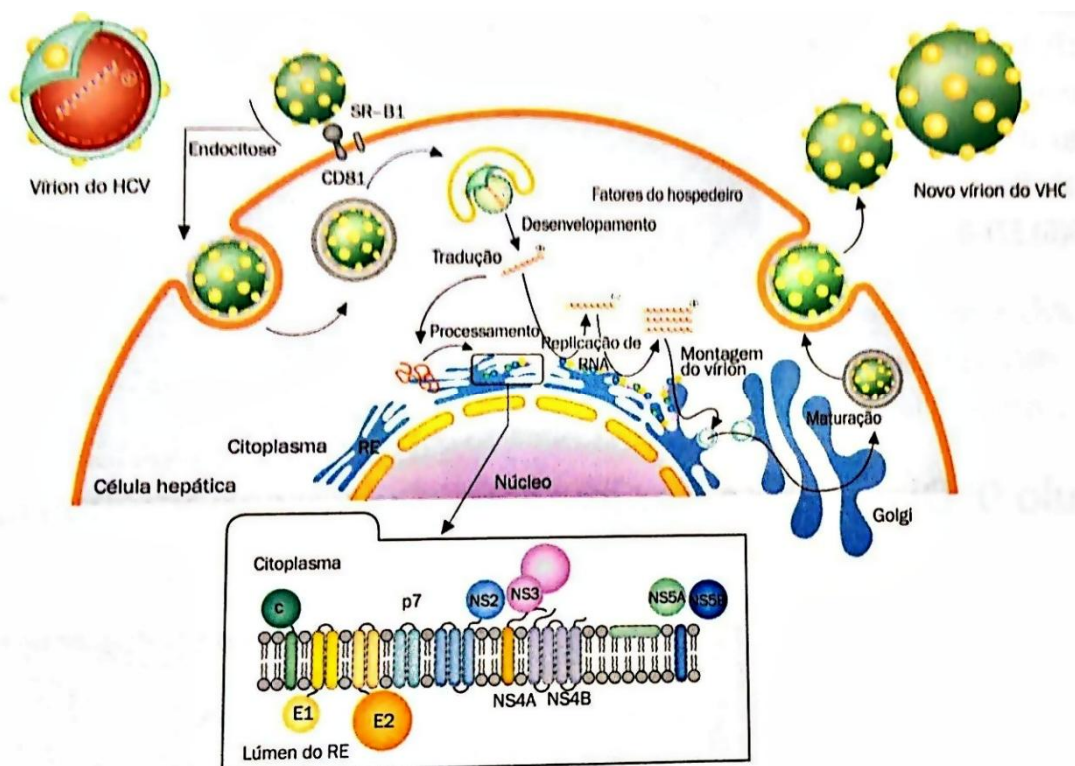


Figura 3. Ciclo de vida do VHC.
Fonte: POLIAK, S. J. In ARAÚJO, E, S, A, 2010.

O VHC entra no hospedeiro, localizando-se no hepatócito e em outras células sensíveis. O vírus é hepatotrópico e o fígado é o principal sítio de replicação (TANG E GRISÉ, 2009; VISO E VASCONCELOS, 2010). O RNA do VHC pode se replicar também nos linfócitos B, células dendríticas e células mononucleares do sangue periférico (VISO E VASCONCELOS, 2010).

Na entrada da célula do hospedeiro existem receptores para o VHC como o CD81 e o receptor de lipoproteínas de baixa densidade (LDLR, *receptor low-density lipoprotein*). Após a entrada, a partícula perde o envelope e libera o genoma no citoplasma para iniciar a tradução e a replicação (TANG E GRISÉ, 2009; POLIAK E MELO, 2010; VISO E VASCONCELOS, 2010; ASHFAQ et al., 2011; NOORALI et al., 2011).

A tradução começa pela ligação da RNT 5' ao ribossoma, que ocorre no RE, seguido da produção de uma poliproteína clivada por protease viral e celular, para formar as proteínas estruturais e não estruturais. Na transcrição do genoma viral, a fita positiva de RNA serve de molde para formar uma fita negativa, intermediária no processo de replicação e é sintetizada pelo NS5B RNA-dependente RNA polimerase. A fita negativa vai servir de molde para a síntese de várias fitas de polaridade positiva (POLIAK E MELO, 2010; ASHFAQ et al., 2011).

Na fase final do ciclo, a partícula viral é montada e o *virion* liberado. Pouco é conhecido sobre esse processo. Foi sugerido que a montagem do *virion* é iniciada pela interação da proteína core com o RNA genômico. Uma vez formado o nucleocapsídeo no citoplasma, as partículas são liberadas através da célula por via secretória (SUZUKY et al., 2009; POLIAK E MELO, 2010; NOORALI et al., 2011). O processo infeccioso pelo VHC é altamente dinâmico, com um ciclo de vida que ocorre em poucas horas, com produção e clearance estimado de 10^{12} *virions* por dia (MORADPOUR et al., 2007; ASHFAQ et al., 2011).

3.1.4 Genótipos e variabilidade genética do vírus da hepatite C

Seis tipos de genótipos do VHC (Figura 4) foram caracterizados pela análise filogenética de sequências genômicas, designados de 1 a 6, tendo sido identificado inúmeros subtipos (1a, 1b, 2a, 2b...) (GOMES E NIEL, 2008; ARAÚJO et al., 2011). Os genótipos do VHC diferem na sequência dos nt de 31-34% e na sequência de aminoácidos de aproximadamente 30% (MORADPOUR et al., 2007; SUZUKY et al., 2007). As sequências

de aminoácidos de E2, região muito variável, podem variar em até 51% (BUSEK E OLIVEIRA, 2003).

A maior variabilidade genética está concentrada nas proteínas E1 e E2. Em E2, HVR1 tem elevada diversidade, que resulta da grande resposta imune local por anticorpos específicos virais (TIMM E ROGGEENDORF, 2007; IRSHAD et al., 2010). Enquanto que a mais conservada é a RNT 5' onde estruturas secundárias de RNA e sequências específicas são requisitadas para a tradução e replicação viral (SIMMONDS, 2004).

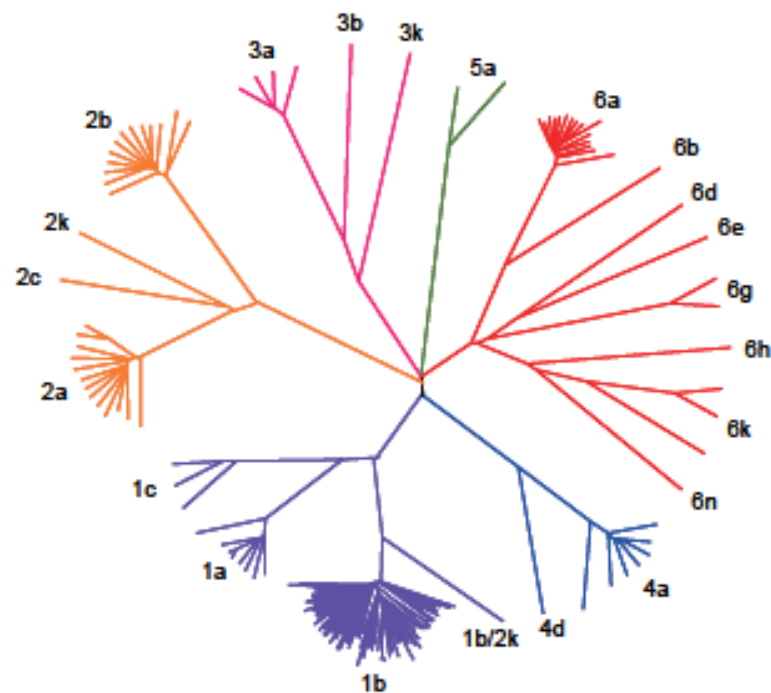


Figura 4. Árvore filogenética do genoma completo do VHC, representando os 6 genótipos (1 a 6) e seus subtipos (representados pelas letras). Fonte: Timm e Roggeendorf, 2007.

Possíveis mutações em uma mesma posição do genoma podem ser geradas em um hospedeiro infectado. As variações do VHC dentro do genoma e seus subgrupos, por replicação imperfeita do vírus, leva ao surgimento de pequenas e constantes mutações, designadas quasispecies (MORADPOUR et al., 2007; SUZUKY et al., 2007; TIMM E ROGGEENDORF, 2007; GOMES E NIEL, 2008).

A análise clonal de HIV-1 mostrou que a população viral de um mesmo indivíduo é altamente variável, entretanto, as sequências genômicas permanecem filogeneticamente relacionadas. As quasispecies podem ter papel importante no evento de transmissão.

Dependendo da rota, o número de cópias de RNA pode estar limitado e não expor a verdadeira complexidade da diversidade do doador. Esse fenômeno foi descrito na infecção por transmissão sexual e em chimpanzés (TIMM E ROGGEENDORF, 2007).

As quasispecies estão relacionadas à diversidade clínica da infecção pelo VHC, a incapacidade de eliminação viral, a resistência às drogas e a impossibilidade do desenvolvimento de vacina contra o vírus (MORALEZ E CAMPISTOL, 2000; STRAUSS, 2001; GOMES E NIEL, 2008; NOORALI et al., 2011).

A identificação dos genótipos é importante para caracterização clínica e epidemiológica da doença. A severidade e progressão diferem entre as cepas. A eficiência da resposta ao interferon também depende do tipo de genótipo. Genótipos 2 e 3 têm melhor resposta que o genótipo 1. O tipo 4 também tem baixa resposta ao interferon, que como o tipo 1 deve ter tempo prolongado de tratamento. Está bem definida a influência da distribuição mundial e das rotas de transmissão dos diversos genótipos (SIMMONDS, 2004; GONZAGA et al., 2008; CAVALHEIRO, 2010; IRSHAD et al., 2010, ARAÚJO et al., 2011).

3.2 EPIDEMIOLOGIA DO VÍRUS DA HEPATITE C

3.2.1 Transmissão do vírus da hepatite C

A principal forma de contaminação pelo VHC é a via parenteral. Até 1992 ocorria predominantemente por transfusões sanguíneas e de hemoderivados. Depois do controle rigoroso de VHC nas doações sanguíneas, transfusão como via de contaminação foi reduzida consideravelmente (KRUG et al., 2002; CHEN E MORGAN, 2006). Estima-se que o risco anual de infecção pelo VHC nos Estados Unidos após transfusão, seja de um em cada 130.000 indivíduos (KRUG et al., 2002).

Após o uso de medidas eficazes de controle nos bancos de sangue, predominaram outros meios de transmissão parenteral, principalmente por uso de agulhas e seringas contaminadas por usuários de drogas (MORALEZ E CAMPISTOL, 2000; STRAUSS, 2001; KRUG et al., 2002; TENGAM E FOCACCIA, 2010). Hepatite C foi observada em 60% de usuários de drogas nos Estados Unidos (KRUG et al., 2002). A inalação de drogas é outra forma de contaminação entre os usuários (TENGAM E FOCACCIA, 2010).

Outras formas de transmissões parenterais observadas são procedimentos médicos invasivos, odontológicos, acupuntura e tatuagem, além de outros meios compartilhados que possam servir de veículo transmissor de uma pessoa a outra (alicate de unha, lâmina de

barbeiro e escova de dente) (MORALEZ E CAMPISTOL, 2000; KRUG et al., 2002, TENGAM E FOCACCIA, 2010).

As formas não parenterais de transmissão são a materno-fetal e a sexual. A transmissão de mãe para filho tem pouco risco e parece não haver diferença geográfica ou temporal na sua frequência. A transmissão está associada à presença de RNA viral na gestante por ocasião do parto. Em mães com co-infecção pelo VHC e HIV a proporção aumenta para 17%. As relações sexuais tem baixo risco de transmissão (TENGAM E FOCACCIA, 2010).

Disseminação intrafamiliar é importante quando existe compartilhamento de material cortante e exposição de ferimentos, como uso de alicates de unha (MORALEZ E CAMPISTOL, 2000; KRUG et al., 2002, TENGAM E FOCACCIA, 2010).

Profissionais de saúde e cônjuge de indivíduos infectados, alcoólatras, pessoas infectadas pelo HIV, presidiários, prostitutas, estão incluídos entre os grupos de risco. Foi observada alta prevalência entre presidiários (46,2%), perdendo apenas para hemofílicos (51,57%) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA, 1999).

Indivíduos que realizam hemodiálise ou foram submetidos a transplante de órgãos, estão incluídos nos grupos de risco. A transmissão em hemodiálise está relacionada às múltiplas transfusões sanguíneas, práticas inadequadas de controle de infecção no ambiente de diálise e por compartilhamento de máquinas entre os pacientes (TENGAM E FOCACCIA, 2010). Os receptores de órgãos podem adquirir a infecção pelo VHC por recorrência de infecção prévia, transfusão sanguínea e de derivados no ato cirúrgico ou por infecção no doador (TENGAM E FOCACCIA, 2010).

Os padrões de transmissão da doença estão relacionados às características epidemiológicas da infecção pelo VHC no mundo. Na maioria dos países desenvolvidos a via de transmissão predominante nas últimas décadas foi o uso de drogas injetáveis. Nos países em desenvolvimento, terapêuticas injetáveis inseguras e transfusões por sangue sem triagem foram os principais meios de transmissão (SHEPARD et al., 2005).

3.2.2 Prevalência do vírus da hepatite C

A infecção pelo VHC é considerada um problema de saúde pública. Estima-se que 3% da população mundial estejam contaminadas pelo vírus, ou seja, em torno de 170 milhões de pessoas, com expressiva porcentagem de portadores que desconhecem seu estado. A doença tem alta cronicidade, com potencial evolutivo para cirrose e carcinoma hepatocelular e é a

principal causa de indicação de transplante hepático (BRANDÃO et al., 2001; STRAUSS, 2001; AQUINO et al., 2008; MARTINS, et al., 2011; RABIH E AGUDO, 2011).

Existe uma grande variabilidade geográfica na distribuição do vírus entre as diversas regiões do mundo. Os estudos estão baseados em estimativas regionais e em grupos individuais de risco e principalmente em doadores de sangue (ALTER, 2007; TENGAM E FOCACCIA, 2010; MARTINS et al., 2011). A Figura 5 mostra a distribuição geográfica de acordo com as regiões do mundo.

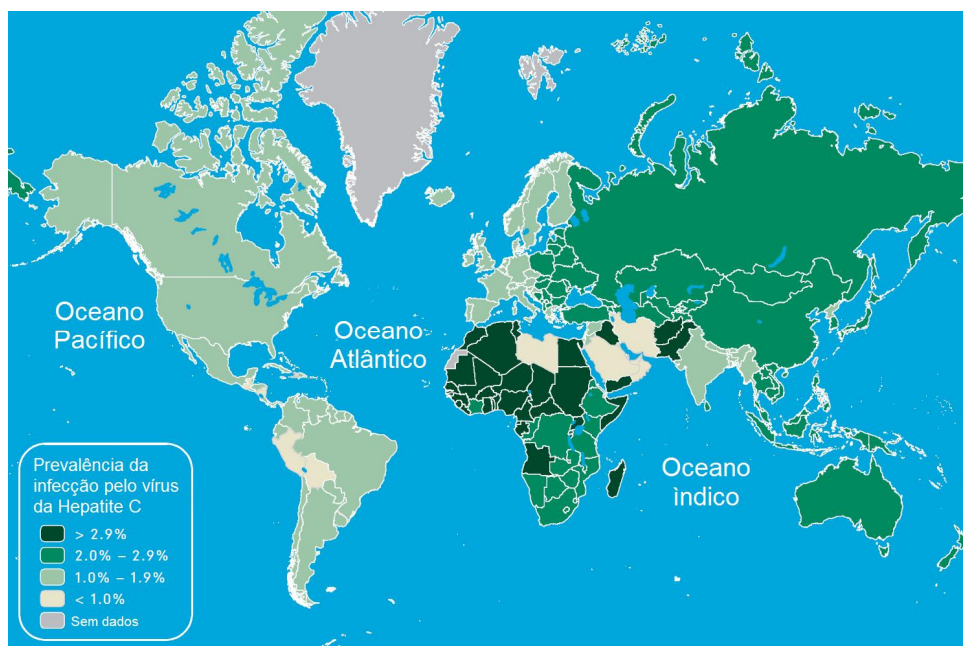


Figura 5. Estimativa da distribuição geográfica da prevalência da infecção pelo Vírus da hepatite C. Fonte: Adaptado de CDC, <http://wwwnc.cdc.gov>. Reproduzido por Pertz et al, 2004, apud SHEPARD, 2005.

As maiores taxas de prevalência são relatadas na Ásia e África, enquanto as menores vêm de nações industrializadas da América do Norte, Norte e Ocidente europeu e Austrália. Prevalências muito baixas foram observadas no Reino Unido e Escandinávia (0,01 a 0,1%). As prevalências consideradas baixas são de alguns países das Américas, Europa ocidental, Austrália e África do Sul (SHEPARD et al., 2005; ALTER, 2007; TENGAM E FOCACCIA, 2010).

Países de prevalência intermediária estão no Leste europeu, Mediterrâneo, Oriente Médio e a Índia. O Brasil é considerado de prevalência intermediária. No Egito foram

registradas as maiores taxas de prevalência (17 a 26%) (SHEPARD et al., 2005; ALTER, 2007; TENGAM E FOCACCIA, 2010).

O Brasil possui grandes variações demográficas e os estudos de prevalência são restritos às áreas regionais ou em populações específicas (MARTINS et al., 2011). Em estudo realizado pela Sociedade Brasileira de Hepatologia (1999), no Brasil, foi observado prevalência de 0,65-2,12, em pré-doadores de sangue, sendo as maiores taxas da região norte (2,12%) e as menores no sul (0,65%). Centro-oeste teve 1,04%, nordeste 1,19%, e região sudeste, 1,43% (Figura 6).

No Pará a prevalência de anti-VHC positivo na população atendida no Laboratório Central foi de 3,6%, predominando em indivíduos acima de 50 anos, com frequências maiores que muitos estados brasileiros. Entre doadores de sangue está em torno de 0,5 a 2% (AQUINO et al, 2008).

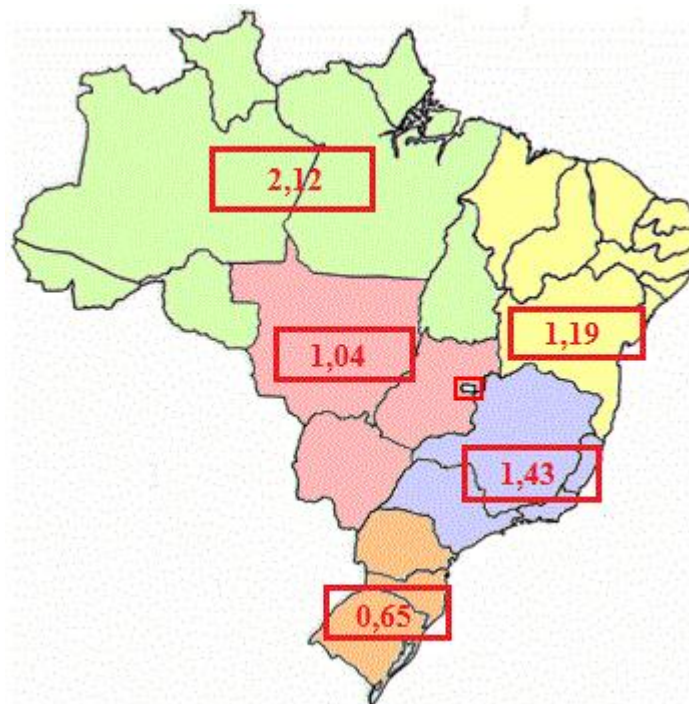


Figura 6. Distribuição da prevalência do VHC nas diversas regiões do Brasil.
Fonte: Sociedade Brasileira de Hepatologia (1999).

Existem diferentes padrões epidemiológicos de prevalência, estimados de acordo com diferenças geográfica, temporais e de transmissão da infecção pelo VHC (Figura 7). No primeiro padrão, representado pelos Estados Unidos e Austrália, a prevalência total é baixa. O

pico de prevalência está entre 30-49 anos de idade, onde a maior transmissão ocorreu mais recentemente, 10-30 anos atrás, em adultos jovens. Nestes, o uso de drogas injetáveis é o modo de transmissão mais predominante. (ALTER, 2007; TENGAM E FOCACCIA, 2010, MARTINS et al., 2011).

O segundo padrão de prevalência foi observado em países como Itália e Japão. Nesses países a prevalência aumenta com a idade. Pessoas maiores de 50 anos são as mais acometidas, sugerindo um risco de infecção maior a 40-60 anos passados. Em alguns desses países, como China e Japão, existem áreas hiperendêmicas, com prevalências muito maiores em idosos, que em outras áreas dos países (ALTER, 2007; ESTEBAN et al, 2008; TENGAM E FOCACCIA, 2010). Procedimentos relacionados à saúde, como a prática de tratamentos populares, podem ter contribuído para esse padrão de transmissão (TENGAM E FOCACCIA, 2010).

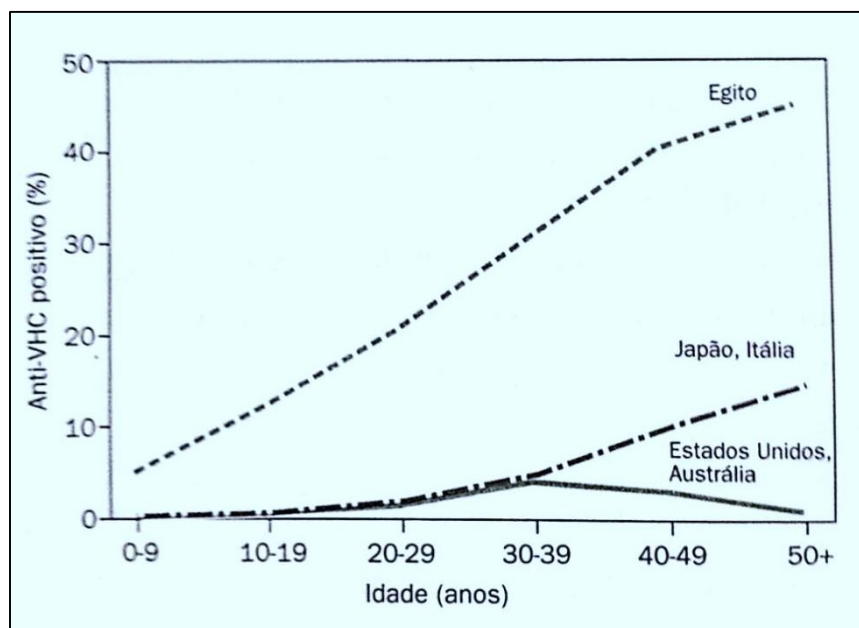


Figura 7. Padrões de prevalência do VHC por faixa etária, segundo países selecionados.
Fonte: Adaptado de ALTER, 2007 apud TENGAM E FOCACCIA, 2010.

As prevalências mais altas do mundo ocorrem no Egito, exemplo do terceiro padrão. Neste, a prevalência aumenta com a idade, com altas taxas de infecção em todas as faixas etárias. Este padrão apresenta alto risco de adquirir infecção em todas as regiões e em qualquer faixa etária (ALTER, 2007; TENGAM E FOCACCIA, 2010). Existem vários modos de transmissão atribuídos, como a administração não segura de medicamentos por via

parenteral, com reutilização de seringas de vidro em campanhas de tratamento em massa, que permitem perpetuar o processo. (TENGAM E FOCACCIA, 2010).

O reconhecimento dos padrões epidemiológicos é importante para determinar a carga futura de complicações pelo VHC, haja vista ser difícil avaliar a incidência (casos novos) de infecção pelo VHC, porque a maioria dos casos agudos é assintomática, mesmo em países que tenha um sistema de vigilância bem estabelecido (ALTER, 2007; MARTINS et al., 2011).

3.2.3 Distribuição geográfica dos genótipos virais

Existe grande variabilidade geográfica e temporal dos tipos e subtipos do VHC. Esse conhecimento permite entender a origem e a dinâmica da infecção viral. Existem peculiaridades na distribuição geográfica dos genótipos, relacionadas ao modo de transmissão, como no Egito, onde o tipo 4 é predominantemente epidêmico, associado à transmissão parenteral em tratamento para esquistossomose (CAMPIOTTO et al., 2005; TIMM E ROGGENDORF, 2007; IRSHAD et al., 2010).

Os genótipos 1, 2 e 3 têm distribuição universal, com predominância relativa variando de uma área geográfica a outra. O genótipo 4 é encontrado predominantemente no Oriente Médio e Norte da África. Genótipos 5 e 6 na África do Sul e Ásia, respectivamente (ESPIRITO-SANTO et al., 2007).

No Brasil, dados de frequência de genótipos nas diferentes regiões têm mostrado como mais frequente o tipo 1, enquanto os tipos 4 e 5 são raros, tendo sido detectados no Sudeste do país. O tipo 4 teve recente descrição no nordeste do Brasil (GONZAGA et al., 2008).

Em estudo sobre genotipagem (Figura 8), Campiotto et al. (2005), observou uma variabilidade genética estatisticamente significativa nas diversas regiões brasileiras. Entre os genótipos, o mais frequente foi 1 (64,9%), seguido de 3 (30,2%), 2 (4,6%), 4 (0,2%) e 5(0,5%).

Em relação às regiões brasileiras, o genótipo 1 teve maior prevalência em todas as regiões (51,7 a 74,1%), com taxas maiores na região norte. O tipo 2 foi mais prevalente no centro-oeste (11,4%), com maiores taxas no Estado de Mato Grosso (25,8%). O genótipo 3 teve predominância no sul, enquanto 4 e 5 foram raros e somente encontrados em São Paulo (CAMPIOTTO, et al., 2007).

No Estado do Amazonas, Araújo et al. (2011) observou genótipo1 em 54,2%, tipo 2 em 20,8% e o 3 em 25%, enquanto, Fecury (2011), encontrou em Belém-PA, 90,6% de genótipo 1 e 9,4% do tipo 3.

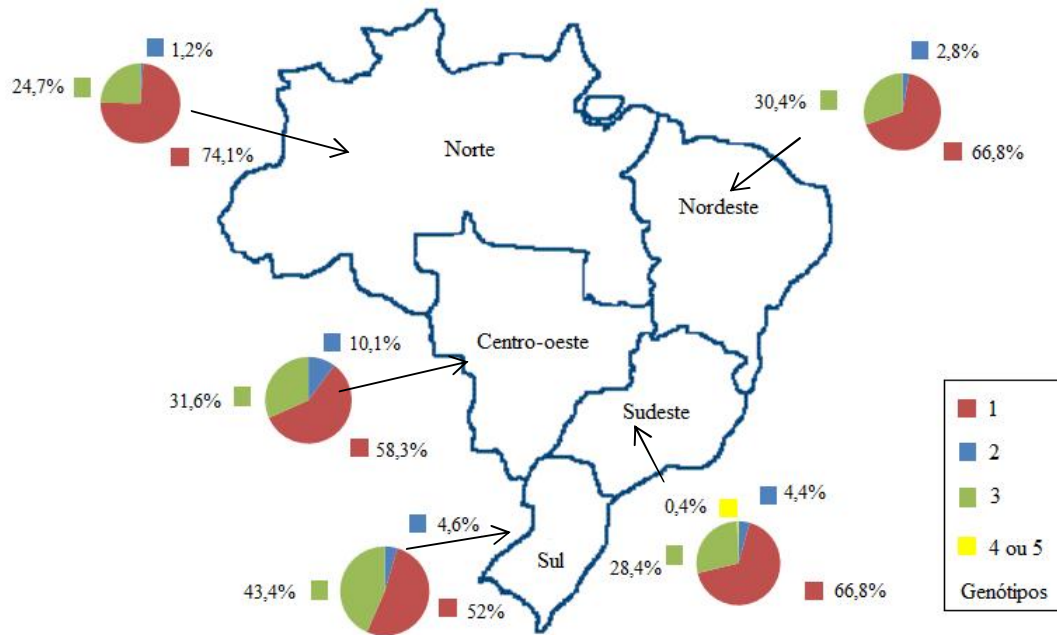


Figura 8. Distribuição dos genótipos do VHC nas diferentes regiões do Brasil.
Fonte: Adaptado de Campiotto et al, 2005.

3.3 IMUNOPATOGENIA DO VÍRUS DA HEPATITE C

3.3.1 Patogênese do vírus da hepatite C

O VHC pode causar lesão hepatocelular aguda, que na maioria dos casos é assintomática, porém poucos pacientes conseguem eliminar o vírus, evoluindo frequentemente para infecção crônica. Esta pode permanecer estável, ou ter evolução lenta ou rápida para cirrose. A resposta à infecção depende da cinética do vírus, da lesão causada e de fatores próprios do hospedeiro, como, idade, sexo, consumo de álcool, associação com outras doenças virais e principalmente o estado imunológico (VISO E VASCONCELOS, 2010).

O vírus persiste utilizando estratégias de escape do sistema imune do hospedeiro, entre as quais, a proteína do core inibe o interferon alfa e o Fas (CD95), enquanto a proteína E2 é capaz de inibir apoptose. O Fas é um receptor de morte celular programada (apoptose) e apoptose é importante na eliminação de células infectadas por vírus, prevenindo a replicação e proliferação viral. A ligação de E2 ao receptor CD81 pode inibir a ação de células Natural Killer (VISO E VASCONCELOS, 2010).

Quando o vírus entra no hospedeiro susceptível, ocorre estímulo aos linfócitos B que liberam anticorpos neutralizantes específicos. O VHC pode escapar desses anticorpos devido o aparecimento de mutações das proteínas do envelope, levando a cronicidade da doença (VISO E VASCONCELOS, 2010). A resposta humoral é específica e dirigida contra os epítomos das proteínas C, E, NS3 e NS4 (GOMES E NIEL, 2008).

Acredita-se que a resposta celular tenha papel importante na defesa contra a infecção. Na hepatite aguda, a qualidade da resposta imunológica celular pode ser importante para a eliminação do vírus. A presença de agregados linfoides intra-portais está associada à reação imune. A infiltração de células mononucleares, principalmente CD4 e CD8 no parênquima hepático causa destruição dos hepatócitos e necrose. A liberação de citocinas estimula a síntese de colágeno pelos fibroblastos e a formação de fibrose (VISO E VASCONCELOS, 2010).

Os linfócitos T CD4 apresentam respostas distintas de Th1 e Th2; Th1 secreta interleucina 2 e interferon gama, que estimulam a resposta antiviral do hospedeiro e Th2 produz interleucinas 4 e 10, que estimulam a formação de anticorpos e inibem Th1. O desequilíbrio entre essas respostas pode ser responsável pela incapacidade de eliminar o vírus e pela gravidade da lesão. A resposta celular está envolvida nos danos teciduais hepáticos, ocorrendo lesão necro-inflamatória, com participação de linfócitos T CD4 e CD8, linfócitos B e células Natural Killer. (GOMES E NIEL, 2008; VISO E VASCONCELOS, 2010).

3.3.2 Alterações anatomopatológicas da hepatite C

Os aspectos histológicos da hepatite crônica são variáveis. A inflamação varia de formas mais leves, limitada ao espaço-porta, até formas mais extensas, mostrando atividade de interface ou atividade peri-portal, chamada de necrose em ôsaca-bocadoö, caracterizada por infiltrado além do espaço-porta e destruição de hepatócitos circunjacentes. Essas lesões são variáveis em extensão e intensidade, estando relacionadas ao desenvolvimento de fibrose e cirrose (Figura 9) (MELLO E ALVES, 2010; WIDMAN E CAPPACCI, 2010).

A esteatose é mais prevalente nas infecções pelo genótipo 3. Hepatite de interface e necrose em ponte entre os tratos portais e veias hepáticas terminais significam lesão progressiva. Depósito fibroso é característico das lesões hepáticas crônicas, conferindo aspecto irregular no contorno dos espaços, evoluindo em septos fibrosos com distorção da arquitetura. A perda continua de hepatócitos e aumento da fibrose resulta em cirrose, caracterizada por nódulos irregulares, separados por cicatrizes variáveis e amplas (STRAUSS,

2001; CRAWFORD E LIU, 2010; MELLO E ALVES, 2010; WIDMAN E CAPPACCI, 2010).

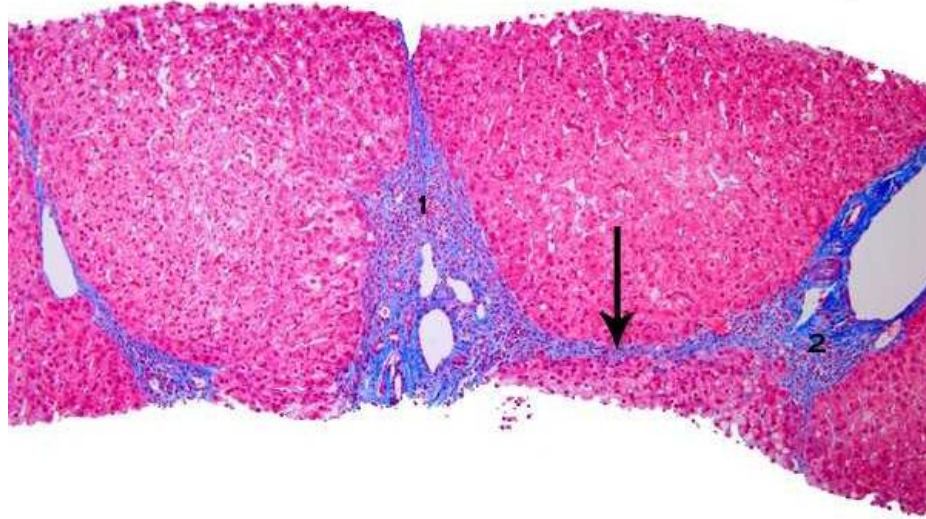


Figura 9. Aspecto histopatológico da hepatite C crônica. Necrose hepatocelular seguida de reparação sob a forma de fibrose em ponte (seta), que pode se estender de um trato portal (1) a outro (2).

Fonte: Pathpedia LCC

3.4 ASPECTOS CLÍNICOS DA HEPATITE C

3.4.1 Historia natural da hepatite C

O VHC provoca doença assintomática na maioria dos casos, levando a progressão lenta do dano hepático, com manifestações clínicas que podem surgir após muitos anos do início da infecção, decorrentes de complicações graves devido à doença hepática crônica. As resoluções espontâneas, com eliminação viral são raras e mais associadas aos quadros de infecções agudas sintomáticas (STRAUSS, 2001; CAMPOS E SILICIANO, 2010).

O período de incubação permanece impreciso, estimado entre 3 a 12 semanas. O quadro agudo, quando presente, cursa com sintomas inespecíficos de astenia, mialgia, febre baixa, náuseas e vômitos, e dor no hipocôndrio direito. As formas anictéricas e de ALT normal são frequentes no início, o que dificulta o reconhecimento da doença. A evolução para a cronicidade ocorre em 85% dos casos (STRAUSS, 2001; GOMES E NIEL, 2008; CAMPOS E SILICIANO, 2010).

A Hepatite C crônica é progressiva lentamente, frequentemente assintomática ou com manifestações inespecíficas variáveis. Fadiga é o sintoma mais comum entre os pacientes. Os sintomas aparecem na hepatopatia crônica, devido fibrose hepática avançada e cirrose descompensada, com quadros de sangramentos gengivais, epistaxes e hematomas, edema de membros inferiores e aumento do volume abdominal (CAMPOS E SILICIANO, 2010).

3.4.2 Diagnóstico da hepatite C

A ALT, apesar de ser indicador sensível de dano do parênquima hepático, não é específica para hepatite, mas pode aumentar a suspeita de infecção pelo VHC. Geralmente surgem após 4 a 20 semanas após o contágio, entretanto, 25% dos indivíduos infectados com o VHC têm ALT normal (STRAUSS, 2001).

Os exames de diagnósticos usados para identificação de hepatite C são os testes sorológicos para detectar anticorpos específicos contra o antígeno (ELISA) e os testes de biologia molecular (MORALEZ E CAMPISTOL, 2000; STRAUSS, 2001).

A especificidade do ELISA é de 99%, enquanto sua sensibilidade é mais difícil precisar, mas pode ser bem utilizado em pacientes imunocompetentes (CHEVALIER E PAWLOTSKY, 2007). Está recomendado em rastreamento de rotina para suspeitos de infecção pelo VHC. Indica contato prévio com o vírus, mas não define se a infecção é aguda, se curada espontaneamente ou se existe doença crônica (MORALEZ E CAMPISTOL, 2000; STRAUSS, 2001; OLIVEIRA et al., 2009).

As técnicas de biologia molecular são necessárias para confirmar o diagnóstico, sendo úteis na comprovação da viremia nas fases iniciais da doença aguda, em imunossuprimidos e em pacientes com risco de reativação do anti-VHC e ALT normal. Os testes são utilizados para detectar a presença do RNA do vírus. Podem ser qualitativos (detectam a presença do vírus), quantitativo (indicam a carga viral) ou de genotipagem (indica o genótipo do vírus). A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma das técnicas mais utilizadas, sendo extremamente sensível. (MORALEZ E CAMPISTOL, 2000; STRAUSS, 2001; OLIVEIRA et al., 2009).

A biópsia hepática tem grande valor para avaliar a gravidade da infecção crônica. Avalia o grau de fibrose e atividade necro-inflamatória. O estudo histológico é importante para a indicação terapêutica. As alterações têm um amplo espectro ao longo da evolução da infecção, sendo observada, desde alterações leves reacionais, hepatite aguda, hepatite crônica,

com inflamação e fibrose, até cirrose e hepatocarcinoma (MELLO E ALVES, 2010; WIDMAN E CAPPACCI, 2010; RABIH E AGUDO, 2011).

Os sistemas de classificação anatomopatológicos estão baseados no estadiamento que mede a atividade inflamatória, fibrose e a distorção da arquitetura hepática. Duas classificações são usualmente utilizadas. A classificação proposta por Ishak em 1995 e o escore METAVIR (Quadro 1), existindo similaridade entre os escores (MELLO E ALVES, 2010; WIDMAN E CAPPACCI, 2010; RABIH E AGUDO, 2011).

Quadro1. Estadiamento histológico das hepatites crônicas. Escore METAVIR.

Atividade Inflamatória	Fibrose
A0 ó Sem atividade	F0 ó Sem fibrose
A1 ó Atividade leve	F1 ó Fibrose portal, sem septo
A2 ó Atividade moderada	F2 ó Fibrose portal com pouco septo
A3 ó Atividade grave	F3 ó Fibrose portal com numerosos septos
	F4 ó Cirrose

3.4.3 Tratamento da Hepatite C

Não existe vacina contra o VHC, embora várias tentativas fossem feitas. A prevenção da infecção do VHC consiste na adoção de medidas que evitem a exposição ao sangue contaminado. A triagem do sangue de doações para transfusão é realizada rotineiramente, o que reduziu consideravelmente a infecção por essa via de transmissão. O foco principal é o combate ao uso de drogas endovenosas e outras formas nosocomiais (GOMES E NIEL, 2008).

O tratamento da hepatite C objetiva deter a progressão da doença hepática pela inibição da replicação viral. Os medicamentos disponíveis são o Interferon- α , que age na síntese de proteínas virais e na resposta imunológica do hospedeiro; Interferon Peguilado é a última geração e possui menores efeitos colaterais, e a ribaviridina, análogo da guanosina, usado em combinação com o primeiro (STRAUSS, 2001; GOMES E NIEL, 2008).

Existem condições específicas para tratar a infecção: níveis elevados de ALT, por mais de seis meses, anticorpos anti-VHC e RNA viral detectáveis, e biópsia hepática demonstrando algum grau de fibrose, inflamação e necrose; não devem ser tratados usuários de álcool ou

drogas nos últimos seis meses e portadores de carcinoma hepatocelular (STRAUSS, 2001; GOMES E NIEL, 2008).

3.5 HEPATITE C EM PORTADORES DE DOENÇA RENAL CRÔNICA

3.5.1 Disfunção imunológica na doença renal crônica

A doença renal crônica (DRC) é a lesão renal com perda lenta e progressiva e irreversível da função dos rins, de modo que, em estágios avançados, o paciente precisará de terapia renal substitutiva, diálise ou transplante renal. Para efeito epidemiológico e clínico, divide-se a DRC em 5 estágios, de acordo com o grau de lesão e a perda funcional (Quadro 2) (ROMÃO JÚNIOR, 2004).

A infecção é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes com DRC em estágio 5. A susceptibilidade da DRC é descrita como um estado de imunodeficiência associado à uremia. Isso fica evidente pela alta incidência de tumores malignos nesse grupo de pacientes, pela presença de anergia às reações de hipersensibilidade tardia a antígenos comuns e por resposta pobre a vacinas para antígenos dependentes de células T, como na Hepatite B (DESCAMPS-LATSCHA et al., 1999).

Quadro 2. Estadiamento e classificação da doença renal crônica.

Estágio	Grau	Filtração glomerular
1	Lesão renal sem disfunção	$\times 90$ mL/min
2	IR leve	60 ó 89 mL/min
3	IR moderada	30 ó 50 mL/min
4	IR grave	15 ó 29 mL/min
5	IR terminal (dialítica)	< 15 mL/min

IR = insuficiência renal

A hemodiálise contribui para esse estado de imunodeficiência, tendo como alguns fatores as membranas biocompatíveis usadas como filtros, os componentes da solução de diálise e a contaminação da água usada para o procedimento por endotoxinas, parecendo estar ligado à ativação de complemento e outros fatores que são marcantes nos estados

imunodeprimidos. Desnutrição e depleção de ferro também contribuem para o estado de imunodepressão (DESCAMPS-LATSCHA et al., 1999; HAUSER et al., 2008).

As disfunções do sistema imune na uremia resultam de alterações tanto na imunidade inata, quanto na adaptativa. As células imunocompetentes em pacientes com DRC em hemodiálise apresentam defeitos nas respostas para a maioria de antígenos e patógenos e produzem títulos baixos de anticorpos neutralizantes contra antígenos de superfície, aumentando o risco de infecção pelo VHC (KATO et al., 2008; RAHNAVARDI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009).

A implicação clínica desse estado de imunodeficiência da uremia na evolução da hepatite C não está bem definida. Estudos indicam que a mortalidade por doenças hepáticas e cardiovasculares é maior em pacientes infectados pelo VHC que em não infectados. Outro dado importante é que as taxas de sobrevivência em seis anos para pacientes portadores de VHC com anti-VHC positivo em hemodiálise, são significativamente menores que nos soronegativos (VECCHI et al., 2007).

Entretanto, estudos realizados por Trevisoli et al. (2008), em portadores do VHC, mostraram que os pacientes em hemodiálise têm menor grau de atividade inflamatória e menos fibrose hepática, que pacientes com função renal normal, sugerindo o papel protetor da uremia contra a progressão da doença hepática pelo VHC. De fato, em estudo realizado por Miranda, (2008), foi observado que a maioria dos pacientes em hemodiálise tinha hepatite crônica, porém com baixas taxas de cirrose.

3.5.2 Hemodiálise e o risco de infecção

Diálise é um processo onde a composição de uma solução, neste caso o sangue, é alterada quando exposta a uma segunda solução, através de uma membrana semipermeável (DAUGIRDAS, 2001). A hemodiálise (Figura 9) usa como aparato técnico um circuito extracorpóreo de sangue, um circuito de solução, com água purificada e o concentrado, chamado dialisato, que circulam através do dialisador, que possui membrana porosa (AHMAD et al., 2001).

Após o seu uso, o dialisador pode ser quimicamente limpo, desinfetado e reusado, desde que esteja de acordo às normas de biossegurança para sua prática (CDC, 2001; BRASIL, 2004). Nos Estados Unidos isso ocorre em cerca de 60 a 80% dos tratamentos (KAUFMAN et al., 2001; LUGON et al., 2010). No Brasil, a prática de reuso é comum, amparada pela RDC nº 154 (BRASIL, 2004).

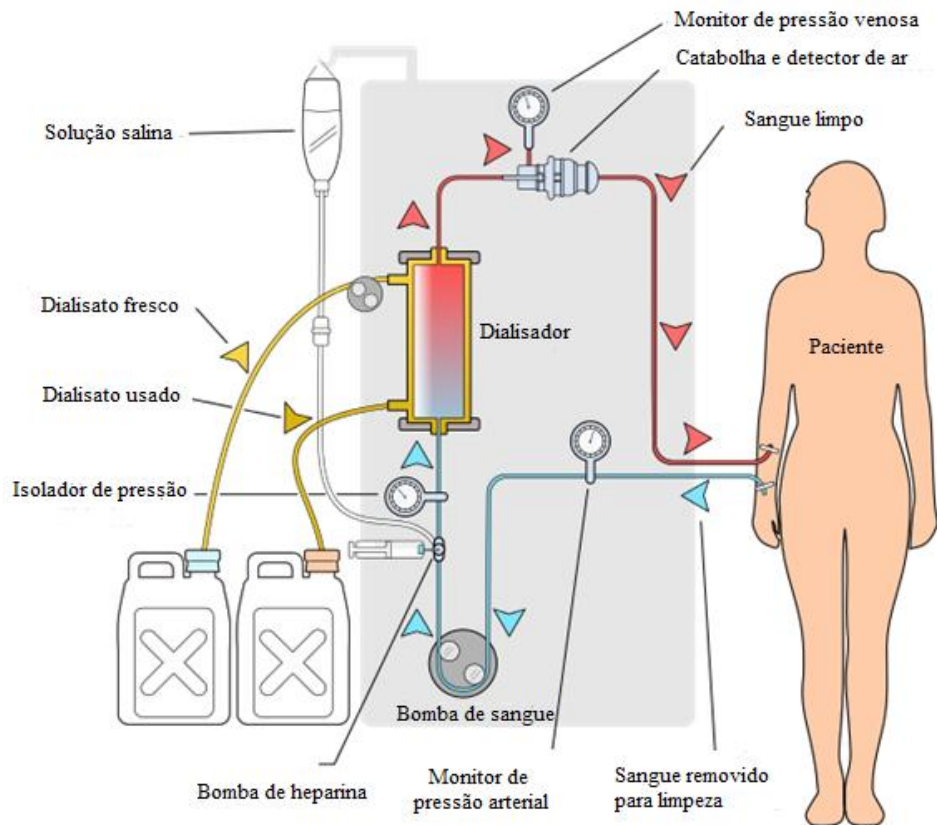


Figura 10. Esquema representativo do procedimento de hemodiálise.

Fonte: Adaptado de <http://pt.wikipedia.org/>

Contra o reuso de dialisadores, os principais argumentos são as possibilidades de contaminação bacteriana e transmissão de doenças virais (LUGON et al., 2010). Entretanto, existem evidências da redução da carga viral pelo procedimento dialítico. As características da membrana do capilar de diálise, que permitiriam a passagem de partículas virais para o dialisato, podem estar envolvidas no processo (NOIRI et al., 2001; FABRIZI et al., 2009; MARTINS et al., 2012).

As membranas mais modernas tem maior redução da carga. Após a sessão, a carga viral retorna aos valores pré-dialíticos em 48 horas. Condições mediadas pelo hospedeiro também podem estar envolvidas na redução da viremia. Foi demonstrado que a circulação extracorpórea que ocorre na hemodiálise está associada com a ativação de leucócitos e liberação de citocinas e substâncias endógenas com propriedades antivirais. Em pacientes transplantados a carga viral tem elevação significativa (FABRIZI et al., 2003; FABRIZI et al., 2009; MARTINS et al., 2012).

3.5.3 Epidemiologia do vírus da hepatite C em hemodiálise

O VHC tem alta prevalência nos pacientes com doença renal crônica em hemodiálise, muito maior que na população em geral. É a principal causa de doença hepática crônica nessa população. Na década de 90, quando o vírus passou a ser testado em unidades de hemodiálise, essa prevalência variou de 10,8%, observado na Inglaterra a 80% na Arábia Saudita (VECCHI et al., 2007). No Brasil, foram observadas taxas de 47 a 82% (VANDERBORGHT et al., 1995).

A prevalência vem diminuindo nos últimos anos, conseqüente a utilização de testes sanguíneos de controle para VHC rotineiramente nas unidades de hemodiálise, a redução no uso de transfusão de sangue devido ao uso de eritropoietina sintética e pela implantação de medidas de controle na transmissão ambiental. Entretanto, ainda tem altas taxas, e essa população constitui grupo de risco importante para a transmissão. O tempo de diálise é considerado o principal fator de risco (ESPINOSA et al., 2004; JADOUL et al., 2004; MARTIN E FABRIZI, 2008; PEREZ E FERRAZ, 2010; MARTINS et al., 2011).

Existem diferenças demográficas e de unidades de diálise na prevalência de soropositivos. Em estudo multicêntrico, realizado nos Estados Unidos, Europa e Japão, a prevalência do VHC variou de 2,6 a 22,9% nos serviços de hemodiálise estudados (FISSELL et al., 2004). Estudo realizado por Espinosa et al. (2004), mostrou uma redução da prevalência de 24% para 9,2%, entre os anos de 1992 e 2002, sendo que as principais causas dessa redução foram falecimento, transplante de órgãos e transferência para outra modalidade de diálise.

No Brasil, em 10 anos de observação, houve declínio significativo entre os anos de 1999 e 2002, com taxas médias de 37,2% e 11,7%, respectivamente (CARNEIRO et al., 2005).

O Censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia de 2010 (SESSO et al., 2011), observou que a prevalência de hepatite C foi de 5,8% entre a população em hemodiálise de todo o país, verificando reduções anuais entre 2000-2010, como observado na figura 10.

A identificação dos genótipos do VHC é importante para avaliar a resposta a medicamentos antivirais. A prevalência dos genótipos em unidades de hemodiálise tem diferenças geográficas mundiais de acordo com a prevalência na população geral, com variações nos diversos países (ESPIRITO-SANTO et al., 2007). O estudo de genotipagem é importante para identificar rotas de transmissão entre pacientes nas unidades de hemodiálise,

principalmente em surtos de hepatite C nesses locais (CARNEIRO et al., 2007; ESPIRITO-SANTO et al., 2007; AMORIM et al., 2010).

Alguns estudos regionais de pacientes em hemodiálise têm mostrado maior prevalência do sorotipo 1, seguido do 3, semelhantes ao observado entre doadores de sangue (ESPIRITO-SANTO et al., 2007; AMORIM et al., 2010). Silva et al. (2006), observou em 7% dos pacientes estudados infecção mista de sorotipos 1 e 3, que pode estar relacionado à transmissão nosocomial nas unidades de hemodiálise.

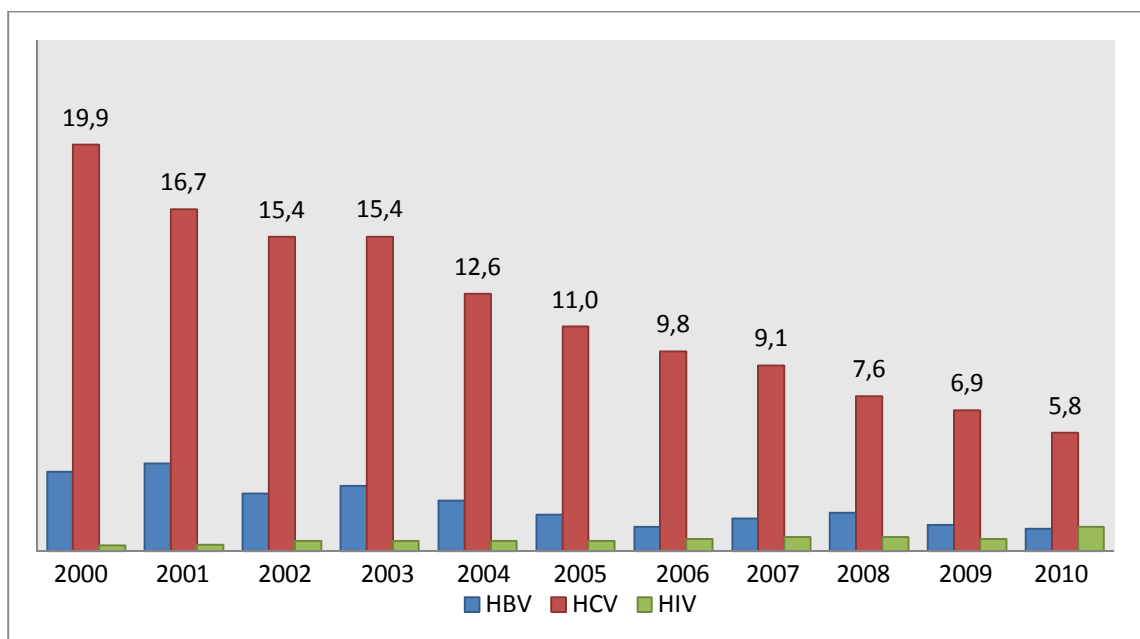


Figura 11. Prevalência de pacientes com sorologia positiva para hepatite B, C e HIV, em unidades de hemodiálise brasileiras, 2000-2010.

Fonte: Sociedade Brasileira de Nefrologia, censos 2000-2010, (www.sbn.org.br).

3.5.4 Fatores de risco da transmissão do vírus C em hemodiálise

Entre os fatores de risco associados à infecção em pacientes submetidos à terapia renal substitutiva, os mais significativos são o número de transfusões sanguíneas, principalmente antes de 1992, o tempo de diálise e a modalidade. (MOREIRA et al., 2005; LEÃO et al., 2010, PATEL et al., 2010). O emprego de testes sorológicos ELISA de 3ª geração na triagem de doadores de sangue e o uso rotineiro de eritropoietina sintética para tratamento da anemia

crônica afastaram a transfusão sanguínea de principal fator de risco (FABRIZI et al., 2007; TEGAM E FOCACCIA, 2010).

A rota nosocomial como meio de transmissão do VHC entre os pacientes que realizam hemodiálise tem sido um achado importante em estudos epidemiológicos, que apontam a alta frequência de infecção pelo vírus entre os pacientes, comparados àqueles que dispõem de diálise peritoneal ou hemodiálise residencial. Outro indicador da possível difusão do VHC entre os pacientes é a homogeneidade dos genótipos identificados no mesmo ambiente de tratamento (MOREIRA et al., 2005; FABRIZI et al., 2007; TEGAM E FOCACCIA, 2010).

A transmissão nosocomial se dá pela contaminação na reutilização de dialisadores, nas máquinas de hemodiálise e nas mãos dos membros da equipe de saúde. A aplicação rigorosa de precauções universais de prevenção de infecção diminuiu muito a difusão. Para muitos é a melhor forma de prevenção da doença (JADOUL, 2000; FABRIZI et al, 2007; TEGAM & FOCACCIA, 2010).

No ambiente de hemodiálise, o preparo de medicamentos em áreas contaminadas, limpeza inadequada das superfícies ambientais, inclusive máquinas e poltronas da estação de tratamento, estão implicadas na rota de transmissão. A análise das sequências genômicas, de RNA viral de coleta de amostras ambientais, de mãos dos membros da equipe de saúde e de sangue dos pacientes contaminados, comprovaram essa forma de transmissão. O VHC persiste em estado infeccioso por cerca de 16 horas, em temperatura ambiente (KARKAR et al., 2006; PATEL et al., 2010).

Outro fato que reforça a transmissão ambiental nas unidades de hemodiálise é que, soroconversão nas unidades tem ocorrido em indivíduos que nunca receberam transfusão sanguínea (ALAVIAN, 2009; AGARWAL, 2011).

Como prática de precauções universais de prevenção de infecções é recomendado a limpeza e desinfecção adequada do ambiente e estação de tratamento, inclusive máquinas e poltronas, o preparo adequado dos medicamentos, uso de luvas e material descartáveis, a conscientização e treinamento recorrente da equipe de saúde e emprego de rotinas de monitoramento de infecções na unidade. A prática de isolamento de máquinas e/ou salas é ainda questionada (RAHNAVARDI et al., 2008; THOMPSON et al., 2009; AGARWAL, 2011).

As diretrizes do CDC (*Center for Disease Control and Prevention*), (1998; 2001), recomendam implantação de rotina de triagem para VHC com ELISA 3ª geração, nas unidades de hemodiálise, para o controle da infecção. No Brasil, a adoção de medidas de controle de infecção em hemodiálise pelo Ministério da Saúde em 1996, contribuiu para a

diminuição do VHC. A partir de 2000 foram praticadas medidas de isolamento dos portadores de VHC que realizam hemodiálise (CARNEIRO et al., 2005).

Em 2004, foi publicada a Resolução 154 da ANVISA, que regulamenta os serviços de diálise no país, recomendando triagem na admissão e trimestralmente de VHC com ELISA 3ª geração, tratamento de VHC soropositivos em máquina ou turno separado e reprocessamento de capilares em sala separada (BRASIL, 2004).

3.5.5 Transplante renal e hepatite C

O transplante renal é o tratamento de escolha para portadores de DRC em estágio 5, mesmo para pacientes com histórico clínico de infecção pelo VHC. A prevalência de hepatite C entre transplantados renais varia de 7 a 40%, com variações demográficas e geográficas. Entretanto, o transplante necessita do uso de drogas imunossupressoras, para prevenção e manejo de rejeição do enxerto. A imunossupressão no pós-transplante acelera a progressão da doença hepática (VECHI et al., 2007; RABIH E AGUDO, 2011).

Durante o seguimento no pós-transplante de paciente anti-VHC positivo é observado alta incidência de replicação viral e deterioração das alterações histológicas em 25% dos casos. Existe também prejuízo para o órgão transplantado, com alta incidência de rejeição do enxerto (VECCHI et al., 2007). A cirrose é importante fator de risco para disfunção renal e morte após transplante renal isolado ou nos transplantes rim-fígado (MARTIN E FABRIZI, 2008).

Pacientes sem replicação viral podem ser liberados para transplante renal, indicando-se, pelo menos, uma determinação do RNA-VHC, para afastar viremia e caracterizar a ausência de replicação. Pacientes com replicação viral devem ser tratados antes de indicar o transplante renal, e para os cirróticos compensados as decisões devem ser consideradas individualmente. Na doença hepática avançada, deve-se considerar a possibilidade de transplante rim-fígado (PEREZ E FERRAZ, 2010).

O KDIGO (*Clinical Practice Guidelines for the Prevention, Diagnosis, Evaluation, and Treatment of Hepatitis C in Chronic Kidney Diseases* ó *Kidney international org*) recomenda transplante rim-fígado na presença de cirrose, mesmo em estados compensados (MARTIN E FABRIZI, 2008).

Doadores de rim com sorologia VHC positiva podem transmitir a infecção para os receptores do rim transplantado. Foi observada taxa de 4,2% de VHC entre doadores cadáveres. A utilização de rim de doadores com VHC positivo para pacientes em hemodiálise também

VHC positivo é tema de debate. Por um lado é alegado que isso diminuiria a imensa fila de espera por órgãos, entretanto, estudos mostraram a possibilidade de superinfecção por hepatite C aguda e a transmissão de genótipos diferentes ao dos receptores (MARTIN E FABRIZI, 2008).

3.5.6 Características clínicas da hepatite C na DRC

A infecção pelo VHC em pacientes com DRC em fase dialítica tem história natural de curso indolente e longo, por vários anos, geralmente assintomática ou subclínica, embora essas características sejam comuns em não urêmico. (GOUVEIA et al., 2004; VECCHI et al., 2007; MARTIN E FABRIZI, 2008; PERES E FERRAZ, 2010).

Carcinoma hepatocelular e cirrose são mais frequentemente causa de morte em pacientes em diálise com VHC do que àqueles no tratamento dialítico sem a infecção (ALAVIAN et al., 2007; FABRIZI et al., 2007). Recente associação de risco da infecção VHC em pacientes em diálise com mortalidade por doença cardiovascular tem sido relatada (MARTIN E FABRIZI, 2008; PERICO et al., 2009).

Os testes bioquímicos são pobres indicadores da infecção (MARTIN E FABRIZI, 2008; RAHNAVARDI et al., 2008). Os níveis de transaminases são geralmente mais baixos em portadores de DRC, independentemente da existência ou não de vírus hepatotrópicos, podendo mascarar a elevação induzida por lesão hepática viral. Várias são as hipóteses para essa depressão, entre as quais a deficiência de vitamina B6, em particular a piridoxina e a supressão da síntese de ALT no hepatócito, inibição das suas liberações na corrente sanguínea ou clearance acelerado da circulação (FABRIZI et al., 2001, 2002; GOUVEIA et al., 2004; VECCHI et al., 2007; PEREZ E FERRAZ, 2010).

Os limites superiores de normalidade das aminotransaminases estão reduzidos em portadores de DRC em hemodiálise em 60% dos seus valores convencionais. Entretanto, apesar dos níveis mais baixos, podem ser mais elevados, mesmo dentro da normalidade, em renais crônicos com anti-VHC positivo, que nos negativos (GOUVEIA et al., 2004).

Pacientes com DRC em estágio pré-dialítico tem níveis maiores de ALT e AST que aqueles em diálise, mas inferiores a indivíduos saudáveis. A monitorização dos níveis de aminotransaminase em pacientes com DRC é útil para acompanhar a gravidade da doença hepática em portadores do vírus C (FABRIZI et al., 2001; ALAVIAN et al., 2007).

Os testes sorológicos são bons artifícios para diagnosticar hepatite C nos pacientes com DRC. A soroconversão ocorre geralmente de 7 até 12 semanas após a infecção. Entretanto,

anti-VHC falso negativo (variação de 0,8 a 2,3%) tem sido observado. A utilização de kits de ELISA de 3ª geração aumentou a sensibilidade e diminuiu essa ocorrência (OLIVEIRA et al., 2009; PEREZ E FERRAZ, 2010). O ELISA é recomendado para ser utilizado em triagem sorológica de pacientes em unidades de hemodiálise, com realização semestral ou na presença de ALT elevada (CDC, 2001; BRASIL, 2004; KDIGO, 2008).

Os métodos de biologia molecular podem detectar viremia no período prévio há sete semanas (OLIVEIRA et al., 2009; PEREZ E FERRAZ, 2010). O benefício potencial do uso dos testes de detecção do RNA-VHC, para triagem periódica em terapia renal substitutiva, é a possibilidade de identificar paciente com anti-VHC falso negativo e para diagnóstico precoce de hepatite C, condição essencial para o controle da transmissão nas unidades de hemodiálise.

A frequência de RNA viral detectável com anti-VHC negativo pode chegar a 12% (RAHNAVARDI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009). Mas ainda não pode ser considerado como rotina no protocolo de controle de infecção, devido seus custos elevados (OLIVEIRA et al., 2009). Entretanto, o RNA-VHC qualitativo deveria ser realizado pelo menos uma vez ao ano em cada paciente para identificar testes sorológicos com baixa sensibilidade (KES E BASIC-JUKIC, 2007; MOREIRA et al., 2005).

Em estudos epidemiológicos, as técnicas de genotipagem têm contribuído para o entendimento da disseminação do VHC nas unidades de diálise. São importantes para a caracterização das cepas circulantes, tendo sido detectado similaridades na sequência de nucleotídeos, em E2, HVR1 e NS5B, confirmando a transmissão nosocomial do VHC em pacientes em hemodiálise (MOREIRA et al., 2005; THOMPSON et al., 2009).

A biópsia hepática sofre algumas restrições quanto à realização sistemática para portadores de DRC infectados pelo VHC. Os riscos de complicações hemorrágicas por defeitos plaquetários devido à uremia, ao uso crônico de anticoagulação no procedimento dialítico e a coagulopatias secundárias a disfunção hepática limitam seu uso (PEREZ E FERRAZ, 2010; RABIH E AGUDO, 2011). Farah et al. (2007), observou 13,2% de complicações por biópsia hepática em pacientes que realizavam hemodiálise.

As diretrizes KDIGO recomendam biópsia na doença hepática para pacientes candidatos a transplante renal. As diretrizes AASLD (*American Association for the Study of Liver Disease*) limitam o procedimento para os genótipos 1 e 4 (KDIGO, 2008; RABIH E AGUDO, 2011). Na indicação de biópsia, cuidados devem se tomados, como a avaliação cuidadosa dos pacientes, correção de hemostasias prévias, suspensão do uso da heparina no período anterior e posterior ao procedimento. Há necessidade de ambiente hospitalar para a sua realização,

tendo como via preferencial a transjugular ou transfemoral, guiado por ultrassonografia (PEREZ E FERRAZ, 2010; RABIH E AGUDO, 2011)

Os achados histológicos têm mostrado a presença de cirrose em torno de 25% e grau avançado de fibrose frequente. A severidade histológica não apresentou qualquer relação com a carga viral ou genótipo e foi observada mesmo sem atividade aminotransferase (MARTIN E FABRIZI, 2008).

Foi observada maior erradicação da infecção pelo VHC pela terapia antiviral em pacientes em hemodiálise que naqueles com função renal normal, provavelmente pelos elevados níveis plasmáticos da droga antiviral devido à redução do clearance renal (FABRIZI et al., 2009; PERICO et al., 2009). Entretanto, o tratamento de hepatite C nesse grupo de indivíduos é mais difícil, por existir maior possibilidade de efeitos graves e adversos pelos medicamentos em uso. A terapêutica antiviral está baseada nos mesmos critérios histológicos para pacientes sem DRC, devendo-se levar em consideração a possibilidade de transplante renal (KES E BASIC-JUKIC, 2007; PEREZ E FERRAZ, 2010).

Como condição mais segura para os pacientes, a medicação de escolha para tratamento é o interferon, em monoterapia (FABRIZI et al., 2007; KES E BASIC-JUKIC, 2007; PEREZ E FERRAZ, 2010). A ribaviridina está contraindicada pelo risco de anemia grave e refratária. Interferon peguilado tem mostrado maior eficiência na terapia da infecção pelo VHC que o interferon padrão, com semelhante clearance daqueles com função renal normal, mas os dados de eficácia e segurança no paciente em hemodiálise são limitados (KES E BASIC-JUKIC, 2007; BERENQUER, 2008; MARTIN E FABRIZI, 2008; WECLAWIAK et al., 2010).

O uso de interferon em monoterapia levou a uma maior resposta viral sustentada (41%) que em paciente com função renal intacta (WECLAWIAK et al., 2010). A justificativa está na evidência de que alguns pacientes em hemodiálise tem menor carga viral, a doença hepática pode ser leve nesse grupo e devido à ocorrência de liberação de interferon na circulação durante a sessão de hemodiálise. Por outro lado, o clearance do interferon está prejudicado nesses pacientes e a tolerância à droga é baixa, levando a interrupção do tratamento na maioria dos casos (MARTIN E FABRIZI, 2008).

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a presença do VHC e dos diferentes genótipos virais em portadores de doença renal crônica em hemodiálise de unidades de diálise, na região metropolitana de Belém.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a soroprevalência do VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise nas unidades de diálise estudadas.
- Determinar a prevalência dos genótipos do VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise.
- Comparar as metodologias sorológica e biologia molecular no diagnóstico do VHC de portadores de doença renal crônica em hemodiálise.
- Determinar o perfil epidemiológico dos pacientes portadores de doença renal crônica em hemodiálise.
- Correlacionar os resultados do exame sorológico para o VHC com os dados epidemiológicos, ressaltando os fatores de risco para transmissão destes vírus.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 CASUÍSTICA

5.1.1 Desenho do estudo

Esse é um estudo analítico transversal, envolvendo a população de indivíduos com doença renal crônica, em programa regular de hemodiálise nas cidades de Belém e Ananindeua, no Estado do Pará, no período de outubro de 2011 a abril de 2012, tendo sido avaliada as informações epidemiológicas de dados obtidos em questionário (APÊNDICE A) e determinado o estado sorológico, presença viral e genótipos do vírus da hepatite C.

5.1.2 Local do estudo

Os pacientes foram abordados nas clínicas de hemodiálise, com aplicação de questionário epidemiológico e realização de coleta de material para desenvolvimento da pesquisa. Trata-se de três unidades ambulatoriais de hemodiálise em dois hospitais públicos e um filantrópico, Hospital Ofir Loyola (HOL), Hospital de Clínicas Gaspar Viana (HCGV) e Hospital da Beneficência Portuguesa (Pró-rim), respectivamente.

Participaram do estudo outras quatro unidades satélites (unidades exclusivas para hemodiálise, fora da abrangência hospitalar) de natureza privada, prestando atendimento particular, convênios de saúde e suplementar ao SUS, sendo em Belém, Nefroclínica Ltda, Clínica do Rim e CCI nefro (Centro de Clínicas Integradas), e em Ananindeua a UDI nefro (Unidade de Diagnóstico de imagem).

Todas as unidades funcionam segundo a RDC 154/2004 da Agência de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), tendo obrigatoriedade de possuir responsável técnico nefrologista com título de especialista em nefrologia, tratamento de água e serviço de reprocessamento de capilares na reutilização pelo mesmo paciente, com sistema de esterilização química. De acordo com a RDC 154/2004 não existe obrigatoriedade de sala separada para hepatite C, mas há necessidade de sala de reprocessamento de capilares própria para esse grupo e deve-se separar a máquina e/ou turno.

As unidades HOL, Clínica do Rim, CCI e UDI possuem salas exclusivas para pacientes portadores de hepatite C. HCGV e Pró-rim fazem segregação de pacientes com anti-VHC positivo em turnos. Todas as unidades, em cumprimento a RDC 154, fazem dosagem mensal

para aminotransferases, trimestral para detecção sorológica do VHC e na admissão para ambos. Pesquisa viral não é realizada de rotina.

Os testes diagnósticos sorológicos e de biologia molecular foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica das Doenças Tropicais no Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, em Belém, Estado do Pará.

5.1.3 Aspectos éticos

O projeto deste estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, sob protocolo nº 006/2011 (ANEXO A). Todos os indivíduos foram esclarecidos sobre a pesquisa e foi solicitada sua permissão para participação através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B). A pesquisa foi desenvolvida respeitando as Normas de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Conselho Nacional de Saúde (Res. CNS 196/96).

5.1.4 Caracterização da Amostra

A amostra constituiu 798 pacientes adultos, de ambos os sexos, procedentes das unidades de hemodiálise. Foi formada de 731 indivíduos com sorologia negativa e 67 positiva.

5.1.5 Critérios de Inclusão e Exclusão

5.1.5.1 Critérios de Inclusão

- Pacientes portadores de doença renal crônica, estágio 5, em hemodiálise, em unidades de Belém ou Ananindeua que fazem parte do estudo.

5.1.5.2 Critérios de Exclusão

- Portador de doença hepática avançada.
- Pacientes com co-infecção com VHB e HIV.
- Pacientes em diálise peritoneal.
- Pacientes que tenham iniciado o procedimento de hemodiálise com menos de 3 meses.

- Indivíduos que não aceitaram participar da pesquisa e não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Obtenção dos dados epidemiológicos

O dados epidemiológicos foram obtidos por aplicação de questionário (APÊNDICE A) com variáveis faixa etária, sexo, causa da insuficiência renal crônica, tempo de hemodiálise, estado marital, escolaridade, renda familiar, ocupação, presença de fatores de risco de adquirir a hepatite C como uso de preservativos, história de doenças transmissíveis sexualmente e vários parceiros sexuais. Incluídos também como fatores de risco, condições clínicas como transfusão sanguínea até 1992 e após esse período, transplante de órgãos sólidos, internação hospitalar e realização de endoscopia digestiva. História de alcoolismo, tabagismo e uso de drogas foram questionados. O questionário foi aplicado aos indivíduos que constituíram a amostra da pesquisa, em suas respectivas clínicas, durante a sessão de hemodiálise.

5.2.2 Obtenção do material biológico

Foram colhidos pela equipe de enfermagem, 10 ml de sangue periférico, em frasco sem anticoagulante, dos indivíduos participantes da pesquisa. Esse material foi colhido na clínica de origem do paciente, em momento que antecede imediatamente a primeira sessão de hemodiálise da semana, extraídos da fístula arteriovenosa ou do cateter de duplo lumen utilizados para o procedimento dialítico.

As amostras sanguíneas foram encaminhadas imediatamente, em recipientes adequados, para o Laboratório de Patologia Clínica das Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, passaram por processo de centrifugação, o soro foi separado e colocado em frasco estéril devidamente identificado. Os soros foram armazenados e resfriados de 2 a 8° por até 3 dias.

Foram realizados os testes para pesquisa sorológica dos anticorpos anti-VHC por método imunoenzimático (ELISA) e técnicas moleculares para identificação viral (RT-PCR) e genotipagem.

5.2.3 Diagnóstico sorológico da hepatite C

Foram empregados testes sorológicos de ELISA de 3^a geração, utilizando-se de kits comerciais (kit ETI-AB-HCVK-4, DiaSorin, Itália) para detecção de anticorpos específicos anti-HCV 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 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, dispensou-se 10 µL do soro do paciente no poço correspondente, homogeneizando cuidadosamente a 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 foi desprezado nos poços e cada poço da microplaca lavado 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 por pipetagem 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 preparar 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 0.100; controle negativo 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 ≤ 0.9 ; reagentes com valores $\times 1.1$; e indeterminados entre os valores 0.9 ó 1.1.

5.2.4 Detecção dos ácidos nucléicos do vírus da hepatite C por biologia molecular

Foi realizada extração do RNA viral presente no soro dos pacientes, 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 vórtex por 15s; incubando a temperatura ambiente (15-25°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 15s, 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 para eluir (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.

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'NTR 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: 1µL; iniciador k11: 1µL; água ultrapura livre de DNase e RNase: 5 µL; Enzima Taqpolymerase 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 dessa 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 õbandaõ com fragmento de 279 pb, continuaram os procedimentos e os negativos, que não apresentaram õbandasõ foram liberados como indetectáveis por este método. A figura 12 apresenta um modelo laboratorial para classificar os pacientes reagentes dos não reagentes.

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'.

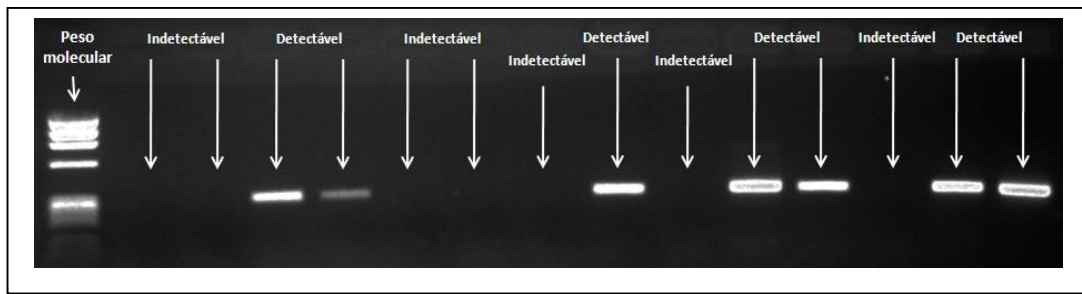


Figura 12. Visualização de õbandasö do produto da PCR em gel de agarose observado em luz ultra-violeta. (protocolo da pesquisa).

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.

5.2.5 Determinação do genótipo do vírus C

Os pacientes positivos para a 2ª PCR foram submetidos à genotipagem do vírus através do método de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), utilizando um par de enzimas de restrição, AVA II e RSA I. Essa técnica também 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.

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 ôparesö de microtubos AVA II e RSA I e foram colocadas em banho-maria a 37°C durante a 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 ôbandasö de tamanhos diferentes. O número de bandas e sua disposição no gel formaram padrões de combinação correspondentes a cada genótipo viral (Figura 13).

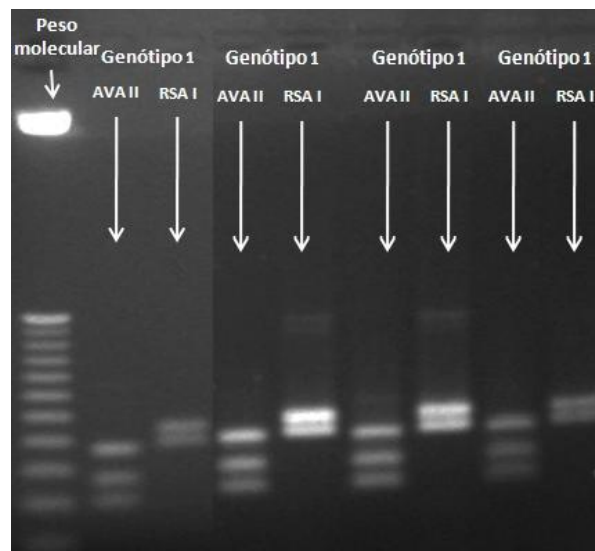


Figura 13: Visualização da combinação dos ôcortesö feitos pelas enzimas de restrição AVA II e RSA I. Nesta figura é possível observar o genótipo 1 (protocolo da pesquisa).

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos no projeto de pesquisa foram inseridos em planilha no programa Excel 2007 e transportada para análise através de testes estatísticos adequados para cada variante, utilizando o programa BioEstat 5.0 (AYRES, 2008). Teste qui-quadrado e Teste G foram usados para comparar frequência entre os grupos. Os fatores de riscos foram estimados pelo odds ratios (OR) em análise univariada. O nível de significância adotado foi de 95% ($p=0.05$).

6 RESULTADOS

O estudo incluiu sete unidades de hemodiálise, sendo seis do município de Belém e uma de Ananindeua. O número total de 803 pacientes estava em terapia renal substitutiva no período de realização deste trabalho. Destes, cinco pacientes foram excluídos da pesquisa porque não assinaram o TCLE ou apresentavam co-infecção com o VHB ou HIV, totalizando 798 pacientes que participaram deste estudo.

6.1 DADOS DA PREVALÊNCIA DO VHC ENTRE PACIENTES EM HEMODIÁLISE

A prevalência do VHC em hemodiálise em Belém/Ananindeua-PA foi 8,4% (67/798), com maior taxa na unidade D (14,7%) e menor em B (4,1%), como observado na tabela 1.

Tabela 1. Distribuição do resultado do teste imunoenzimático para pesquisa de anticorpos para VHC específicos nas unidades de hemodiálise.

Unidade	Nº da amostra	Anti-VHC	
		Reagente (%)	Não Reagente (%)
A	157	16 (10,2)	141 (89,8)
B	122	5 (4,1)	117 (95,9)
C	64	4 (6,2)	60 (93,8)
D	75	11 (14,7)	64 (85,3)
E	179	18 (10,1)	161 (89,9)
F	113	7 (6,2)	106 (93,8)
G	88	6 (6,8)	82 (93,2)
Total	798	67 (8,4)	731 (91,6)

χ^2 partição: 2:2 = 3.52 p=0,04 e 2:4 = 3.26 p=0,05

Quando comparado o período de aquisição da infecção pelo HCV entre as diferentes clínicas estudadas não foi observado diferença entre elas. Vale ressaltar que, o encaminhamento para as clínicas de diálise dos pacientes portadores do vírus antes de iniciar o tratamento ocorre de maneira aleatória.

Tabela 2. Período de aquisição do VHC relacionado às unidades de hemodiálise.

Unidade	Período de aquisição do VHC			Total
	Antes da HD (%)	Durante HD (%)	Não sabe	
A	7 (44)	8 (50)	1 (6)	16
B	2 (40)	3 (60)	-	5
C	1 (25)	3 (75)	-	4
D	3 (27)	7 (64)	1 (9)	11
E	11 (61)	7 (39)	-	18
F	3 (43)	4 (57)	-	7
G	3 (50)	3 (50)	-	6
Total	30 (44,8)	35 (52,2)	2 (3)	67 (100)

HD= hemodiálise; G= 2,88 p= 0,82

Comparando os resultados obtidos pelos dois métodos de diagnóstico utilizados nesse estudo: o teste imunoenzimático (ELISA) para pesquisa de anticorpos HCV específicos e o método da PCR, pesquisa do RNA viral, foi observado 8,4% (67/798) foram reagente pelo método Elisa e 5,4% (43/798) foi detectado o RNA viral. Somente um paciente (0,1%) não reagente no Elisa, apresentou RNA viral na circulação (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação dos métodos sorológicos e de biologia molecular no diagnóstico do VHC em pacientes submetidos à hemodiálise.

SOROLOGIA	PCR VHC		Total
	Detectável(%)	Indetectável(%)	
Reagente	42 (62,7)	25 (37,3)	67
Não Reagente	1 (0,1)	730 (99,9)	731
Total	43 (5,4)	755 (94,6)	798

G=224.25 p= 0,001

Analisando os genótipos do VHC, o mais frequente foi o tipo 1 (86,1%), em todas as unidades estudadas. O tipo 2 foi encontrado em 5 (11,6%) pacientes, todos na mesma unidade de hemodiálise. O tipo 3 foi encontrado em somente 1 paciente (2,3%), conforme mostrado na tabela 4.

Tabela 4. Distribuição dos genótipos do VHC relacionados às unidades de hemodiálise.

Unidade	Nº de amostras	Genótipos		
		1 (%)	2 (%)	3 (%)
A	9	9 (100,0)	-	-
B	2	2 (100,0)	-	-
C	3	3 (100,0)	-	-
D	5	5 (100,0)	-	-
E	15	9 (60,0)	5 (33,3)	1(6,7)
F	3	3 (100,0)	-	-
G	6	6 (100,0)	-	-
Total	43	37 (86,1)	5 (11,6)	1 (2,3)

6.2 CARACTERIZAÇÃO SÓCIO-EPIDEMIOLÓGICA DOS INDIVÍDUOS ESTUDADOS.

Na tabela 5 foram analisadas as características sócio-epidemiológicas dos indivíduos estudados. Observou-se que houve predomínio do sexo masculino, dos casados ou em união estável. Em relação à escolaridade dos indivíduos foi observado baixo nível de instrução, onde 51,9% cursaram até o ensino fundamental. A renda familiar predominante foi de até 2 salários mínimos.

Tabela 5. Caracterização sócio-epidemiológica dos indivíduos estudados.

Variável	Nº da amostra (%)	X² (P valor)
<u>Gênero</u>		
Masculino	526 (65,9)	80,21
Feminino	272 (34,1)	(0,001)
<u>Estado Marital</u>		
Solteiro	211(26,4)	67,43
Casado e união estável	495(62,0)	(0,001)
Divorciado	43(5,4)	
Viúvo	49(6,2)	
<u>Escolaridade</u>		
Analfabeto	25(3,1)	48,88
Ensino fundamental incompleto	291(36,4)	(0,001)
Ensino fundamental completo	99(12,4)	
Ensino médio incompleto	161 (20,2)	
Ensino médio completo	142 (17,8)	
Ensino superior incompleto	6 (0,8)	
Ensino superior completo	74 (9,3)	
<u>Renda Familiar</u>		
Até 1 salário mínimo	223 (27,9)	10,72
2 salários mínimos	247 (31,0)	(0,001)
3-5 salários mínimos	254 (31,8)	
> 5 salários mínimos	74 (9,3)	

A idade média dos indivíduos estudados foi 49 anos, com faixa etária entre 18 a 88 anos, conforme tabela 6.

Tabela 6. Distribuição por faixa etária dos indivíduos estudados.

Faixa etária (anos)	Nº da amostra	%
18-25	55	7
26-35	111	13,9
36-45	87	10,9
46-55	216	27,1
56-65	192	24
> 65	137	17,1
Total	798	100

$$X^2=14.33 \text{ p}=0,001$$

As principais causas da doença renal crônica nos indivíduos estudados foram diabetes mellitus com 34,1% (272/798), seguido de glomerulonefrite, 18,6% (149/798) e hipertensão arterial 17,1% (137/798), conforme tabela 7.

Tabela 7. Distribuição segundo a causa da doença renal crônica.

Causa	Nº da amostra	%
Diabetes mellitus	272	34,1
Hipertensão arterial	137	17,1
Glomerulonefrite	149	18,6
Doença renal policística	74	9,3
Nefrite intersticial crônica	62	7,8
Desconhecido	74	9,3
outros	30	3,8
Total	798	100

Quanto à ocupação dos indivíduos estudados, a área de comércio e serviços foi a mais contemplada com um total de 42,6% como observado na tabela 8.

Tabela 8. Distribuição por ocupação/atividade profissional por classes ou áreas de atuação.

Classe ocupacional	Nº da amostra	%
Área administrativa	99	12,4
Comércio e serviços	340	42,6
Construção civil	74	9,3
Educação	31	3,9
Estudante	62	7,8
Saúde	25	3,1
Segurança	31	3,9
Serviços Gerais	136	17,0
Total	798	100,0

$\chi^2=76.33$ $p=0,001$

6.3 FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO DO VHC

O tempo dos indivíduos em programa de hemodiálise variou de menos de um ano a 15 anos. 11,8% (94/798) possuíam até um ano de tratamento, 48,5% (387/798) possuíam mais de um ano ou até 5 anos de tratamento, 26,9% (215/798) mais de 5 anos e ou até 10 anos e 12,8% (102/798) mais de dez anos de tratamento. Comparando o tempo de hemodiálise com a pesquisa de anticorpos VHC específicos foi observado uma tendência crescente ($A > 0$), quanto maior o tempo de tratamento maior a prevalência do VHC (Tabela 9).

Tabela 9. Tempo de hemodiálise dos indivíduos estudados.

Sorologia	Total	Tempo de hemodiálise (anos)			
		01(%)	> 1 ó 5(5)	> 5 ó 10(%)	> 10 (%)
Reagente	67	9 (13,4)	24 (35,8)	15 (22,4)	19 (28,4)
Não reagente	731	85 (11,6)	363 (49,6)	200 (27,4)	83 (11,4)
Total	798	94	387	215	102

$$\chi^2 = 6,21 \text{ p} = 0,012$$

Em relação ao período de aquisição da infecção pelo VHC, 44,8% (30/67) dos pacientes sabidamente adquiriram antes do início da hemodiálise e 52,2% (35/67) adquiriram já em programa dialítico (Tabela 9). Daqueles que adquiriram a infecção durante o período de hemodiálise, 74,2% (26/35) possuem mais de 5 anos de terapia substitutiva renal, enquanto que 76,6% dos que já estavam infectados antes de iniciar a hemodiálise apresentavam até 5 anos de tratamento, confirmando que a infecção pelo VHC nesses pacientes ocorre durante o tratamento (Tabela 10).

Tabela 10. Período de aquisição do VHC informado pelo paciente relacionado ao tempo de hemodiálise.

Tempo de Hemodiálise	Período da Aquisição do VHC			Total (%)
	Antes da HD (%)	Durante HD (%)	Não sabe	
01 ano	8 (88,8)	1 (11,2)	-	9 (13,4)
> 1 ó 5 anos	15 (62,5)	8 (33,3)	1 (4,2)	24 (35,8)
> 5 ó 10 anos	5 (33,3)	10 (66,7)	-	15 (22,4)
> 10 anos	2 (10,5)	16 (84,2)	1 (5,3)	19 (28,4)
Total	30 (44,8)	35 (52,2)	2(3)	67 (100)

$$G = 21,14 \text{ p} = 0,0001$$

A análise dos dados referentes a fatores de risco quanto ao comportamento sexual com o resultado do teste Elisa demonstrou que fatores como: o uso do preservativo durante as relações sexuais, relato anteriores de doenças sexualmente transmissíveis e o número de parceiros sexuais não diferiram nos grupos reagentes e não reagentes para o VHC (tabela 11).

Tabela 11. Comparação entre os fatores de risco para aquisição da infecção pelo VHC relacionados ao comportamento sexual e o resultado do Elisa para pesquisa de anticorpos VHC específicos.

Fatores de risco	Elisa VHC		OR (IC)	P valor
	Reagente(%)	Não reagente(%)		
<u>Uso de Preservativo</u>				
Sempre	18 (27)	205 (28)	1,06	0,94
Eventual e Nunca	49 (73)	526 (72)	(0,60-1,86)	
<u>História de DST</u>				
Sim	14 (20)	128 (17,5)	1,24	0,59
Não	53 (80)	603 (82,5)	(0,67-2,31)	
<u>Nº parceiros sexuais nos últimos 2 anos</u>				
Até 2	60 (89,5)	677 (92,6)	1,46	0,50
×3	7 (10,5)	54 (7,4)	(0,63-3,36)	

Avaliados os fatores de risco por procedimentos médicos ou condições clínicas, observou-se que 95% (760/798) dos indivíduos estudados realizaram transfusão de sangue, sendo que 3% do grupo positivo nunca receberam transfusão. 96% (767/798) relataram internação hospitalar anterior. Quanto ao procedimento de endoscopia digestiva alta, 67% (526/798) já haviam realizado o exame. História de transplante de órgãos foi identificada em

7% (58/798) dos indivíduos, sendo que a presença da infecção pelo VHC foi maior nos transplantados (Tabela 12).

Tabela 12. Comparação entre os fatores de risco para aquisição da infecção pelo VHC relacionados às condições clínicas e procedimentos e o resultado do Elisa para pesquisa de anticorpos VHC específicos.

Fatores de risco	Elisa VHC		OR (IC)	P valor
	Reagente(%)	Não reagente(%)		
<u>Transfusão sanguínea</u>				
Sim	65 (97)	695 (95)	1,68	0,67
Não	2 (3)	36 (5)	(0,39-7,15)	
<u>Transplante de órgão</u>				
Sim	11 (16,4)	47 (6,5)	2,85	0,00
Não	56 (83,6)	684 (93,5)	(1,40-5,81)	
<u>Internação hospitalar</u>				
Sim	65 (97)	702 (96)	1,34	0,94
Não	2 (3)	29 (4)	(0,31-5,75)	
<u>Endoscopia digestiva</u>				
Sim	50 (74,6)	476 (65)	1,57	0,15
Não	17 (25,4)	255 (35)	(0,89-2,78)	

Quanto aos dados do Tabagismo, Etilismo e consumo de drogas ilícitas foi observado entre todos os indivíduos estudados, 3,9% usam ou usaram drogas ilícitas, 58,1% consomem álcool frequente ou eventualmente e 37,9% são tabagistas (Tabela 13).

Tabela 13. Comparação entre os fatores de risco para aquisição da infecção pelo VHC relacionados ao hábito de vida e o resultado do Elisa para pesquisa de anticorpos VHC específicos.

Fatores de risco	Elisa VHC		OR (IC)	P valor
	Reagente(%)	Não reagente(%)		
<u>Uso de drogas ilícitas</u>				
Sim	3 (5)	28 (3)	1,17	0,94
Não	64 (95)	703 (97)	(0,34-3,97)	
<u>Etilismo</u>				
Frequente	10 (15)	95 (13)	1,18	0,79
Eventual e nunca	57 (85)	636 (87)	(0,57-2,37)	
<u>Tabagismo</u>				
Frequente	12 (18)	130 (17)	1,00	0,88
Eventual e nunca	55 (82)	601 (83)	(0,52-1,93)	

7 DISCUSSÃO

A infecção pelo vírus C tem sido considerada uma endemia mundial, com taxas de até 3% de indivíduos contaminados (MARTINS et al., 2011). Entretanto, alguns grupos específicos exibem níveis considerados muito elevados, como pacientes em hemodiálise, que, somando-se ao risco de contaminação parenteral, as condições nosocomiais favorecem a transmissão viral (MOREIRA et al., 2005; VECCHI et al., 2007; PATEL et al., 2010)

Em estudo realizado por Miranda (2008), a hemodiálise esteve presente como fator de risco em 31,2% dos pacientes atendidos com hepatite C crônica no Ambulatório de Hepatopatias Crônicas do Hospital Santa Casa de Misericórdia do Pará. Cartágenes (1998), encontrou prevalência 37,6% de anticorpos VHC específico em pacientes de uma unidade de hemodiálise de Belém, Pará.

A triagem para anti-VHC nos bancos de sangue e a adoção de medidas específicas de prevenção e controle em unidades de hemodiálise, com legislações federais e mundiais de controle e prevenção de hepatites virais em diálise, foram fundamentais para o declínio da prevalência nas últimas décadas. Entretanto as taxas persistem em níveis maiores que os da população geral (CARNEIRO et al., 2005).

Este estudo observou uma prevalência de VHC de 8,4% em hemodiálise, taxa superior a encontrada pelo Censo Brasileiro de Diálise, de 5,8% (SESSO et al., 2011), que representa a média nacional da infecção nessa população. Valores de 8,4% também foram observados na cidade de Recife, Pernambuco (MELLO et al., 2007). Recentemente, Silva (2012), observou uma taxa de prevalência 7,2% em Imperatriz, no Maranhão.

Entretanto, estudos recentes demonstraram taxas de prevalências superiores a estas, em unidades de hemodiálise de várias regiões do Brasil: 10,5% em Salvador, na Bahia (SILVA et al., 2006), 16,8% no município de Tubarão, Santa Catarina (BALDESSAR et al., 2007), 16,4% no Estado de Goiás (CARNEIRO et al., 2007), 13,9% em Manaus, Amazonas (MAIA et al., 2009) e 14,8% em Juiz de Fora, Minas Gerais (LEÃO et al., 2010).

Mundialmente, taxas inferiores foram observadas no Canadá (TU et al., 2009) e na Inglaterra (GHAFUR et al., 2007), 5,4% e 3,3%, respectivamente, enquanto prevalências maiores foram identificadas por Kalantar-Zadeth et al. (2007) nos Estados Unidos (12%) e Khan et al (2011), no Paquistão (29,2%).

Vários estudos destacam que falhas nas medidas de prevenção e controle de infecções na unidade de hemodiálise explicariam as diferenças geográficas na prevalência de hepatite C (KARKAR et al., 2006; AGARWAL et al., 2009; THOMPSON et al., 2009; SAUNÈ, et al.,

2011). Entretanto, a diminuição da entrada em diálise de novos pacientes com anti-HCV reagentes e o aumento da mortalidade podem favorecer o declínio nas taxas (ESPINOSA et al., 2004). Pacientes em hemodiálise com HCV positivo tem maior risco de morte que com HCV negativo (NAKAYAMA et al., 2000; KALANTAR-ZADETH et al., 2005) Portanto, as diferenças regionais podem ser explicadas tanto pela utilização de medidas eficientes de controle de infecção viral, quanto pela sobrevida dos pacientes.

Diferenças significativas de prevalências também foram descritas entre diversas unidades de diálise em uma mesma região (ARENAS et al., 2001; BUSEK E OLIVEIRA, 2002; MEDEIROS et al., 2004; SILVA et al., 2006). Resultado similar foi observado nesse estudo, onde prevalência de anticorpos VHC específicos nas sete clínicas analisadas variou de 4 a 14%. Carneiro et al. (2007), encontrou variações de 0 a 47,7% de prevalência entre as unidades estudadas.

As principais causas das diferenças de prevalências estão relacionadas a falhas nas aplicações de medidas de precauções universais para o controle de infecções nas unidades de maiores prevalências (MEDEIROS et al., 2004; SILVA et al., 2006; SANTOS E SOUTO, 2007).

Quando comparado os métodos diagnósticos, foi observado que pelo ELISA 8,4% dos pacientes apresentavam anticorpos VHC específicos na corrente sanguínea. Porém, o RNA viral só foi detectado em 5,4% destes pacientes. Somente em um paciente foi detectado o RNA viral sem presença de anticorpos (ELISA não reagente). A detecção de anticorpos VHC específicos com ausência de RNA viral também foi observado por Dotta et al. (2003), Albuquerque et al. (2005) e Silva et al. (2006).

A presença de ELISA reagente com RNA viral indetectável pode ser devido ao desaparecimento do RNA por eliminação viral e infecção passada, ou porque o vírus está localizado em tecidos diferentes da corrente sanguínea, ou a carga viral é muito baixa, abaixo do limite detectado pelo PCR ou ainda porque o nível de viremia está oscilante e ausente da circulação no momento da coleta (DOTTA et al., 2003).

A detecção de RNA viral com ausência de anticorpo VHC específico pode estar relacionada à janela imunológica no início de infecção aguda, haja vista as técnicas de biologia molecular detectar mais precocemente a infecção. Entretanto, pode-se também atribuir a esses resultados o estado de imunossupressão de portadores de doenças renais crônicas em hemodiálise, com prejuízo na produção de anticorpos circulantes, nestes casos, com prolongada janela imunológica (DOTTA et al., 2003; SOUZA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2009).

A presença de RNA viral, com anti-VHC não reagente foi observado por Dotta et al. (2003) em 2,3% dos casos, Souza et al. (2003), em 3,4%, Oliveira et al. (2009) em 0,2% e Li e Wang (2010) em 2,1%. Ghafur et al. (2007), identificou precocemente RNA viral em 0,06% de casos que depois apresentaram soroconversão. Resultados semelhantes foram observados por Sauné et al. (2011). A presença de viremia com ausência de anticorpos VHC específicos na circulação representa um grande risco para a disseminação do vírus no ambiente de diálise, considerando que, os testes de biologia molecular não são utilizados de rotina para essa população (SILVA et al., 2006).

O vírus da hepatite C tem grande diversidade genotípica, com pelo menos seis tipos conhecidos (GOMES E NIEL, 2008; ARAÚJO et al., 2011). Neste estudo, o genótipo 1 teve a maior prevalência (86,1%). O tipo 2 foi o segundo mais prevalente (11,6%), todos da mesma unidade de hemodiálise e o tipo 3 teve 2,3%. A maioria dos estudos brasileiros e europeus identificaram prevalências semelhantes para o genótipo 1, sendo o mais encontrado, enquanto que o genótipo 3 foi o segundo mais frequente (ARENAS et al., 2001; SILVA et al., 2006; ESPIRITO-SANTO et al., 2007; FREITAS et al., 2008; TREVISOLI et al., 2008; AMORIM et al., 2010). Gonzaga et al. (2008), relatou que a distribuição genotípica no Brasil e em muitos países europeus tem padrões similares com prevalência dos tipos 1 e 3.

Farah et al. (2007), identificou no Estado de Minas Gerais resultados semelhantes a este estudo, onde o genótipo 1 tinha 86,1%, o tipo 2 com 11,1% (8 pacientes), sendo cinco da mesma unidade de hemodiálise e o tipo 3 com 1,4%, além de 14% do tipo 4, este último raro no Brasil. Na população geral da região norte o genótipo 1 é o mais prevalente, seguido pelo genótipo 3 (CAMPIOTTO et al., 2005; ARAUJO et al., 2011; FECURY, 2011).

A distribuição genotípica pode sugerir transmissão nosocomial nas unidades de hemodiálise. Genótipos raros para determinada região podem ser implantados e disseminados através das mãos da equipe de saúde, de superfícies e equipamentos contaminados. Nesse estudo foi observado uma elevada prevalência do genótipo 2 (11,6%) e todos os pacientes portadores desse genótipo pertenciam a mesma clínica de diálise.

O genótipo 2 é muito raro na região Norte do país, sendo mais frequente nas regiões centro-oeste, sudeste e sul (CAMPIOTTO et al., 2005). Sua existência exclusivamente em uma única unidade reforçou a possibilidade da transmissão nosocomial do vírus, importado de outra região e transmitido no ambiente devido ao uso inadequado das medidas de prevenção de infecção.

Os indivíduos estudados tiveram como características sócio-epidemiológicas o predomínio do sexo masculino, casados ou em união estável, com baixo nível de escolaridade

e renda familiar de até 2 salários mínimos. A faixa etária de maior frequência foi entre 46-65 anos.

Estudos têm demonstrado que homens são mais prevalentes entre os pacientes com DRC em unidades de hemodiálise, com ou sem hepatite C (ALBUQUERQUE et al., 2005; PENIDO et al., 2008; LEÃO et al., 2010; SESSO et al., 2010; MATOS et al., 2011). Resultados semelhantes foram observados entre portadores do VHC, com ou sem DRC (BEZERRA et al., 2007; TREVISOLI et al., 2008; FECURY, 2011).

Baixos níveis sócio-econômicos são fatores de risco para DRC, explicado pelo menor acesso aos serviços de saúde e pouca adesão ao tratamento de doenças renais primárias, as quais levam a doença renal terminal, como hipertensão e diabetes mellitus (ZAMBONATO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009). A doença renal crônica tem curso prolongado e nos estágios finais o paciente depende de terapia renal substitutiva, o que justifica a idade mais acometida.

Neste estudo, a doença renal primária mais prevalente foi diabetes mellitus (34,1%), seguida de glomerulonefrite (18,6%) e hipertensão arterial (17%), diferente de vários estudos brasileiro que encontraram como causa principal a hipertensão e em segundo diabetes mellitus, aparecendo em terceiro glomerulonefrite (BALDESSAR et al., 2007; PENIDO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; SESSO et al., 2010). Porém, estudo recente de Matos et al. (2011) e Zambonato et al. (2008), observaram diabetes mellitus como primeira causa de DRC em hemodiálise.

Sesso et al. (2010), embora tenha encontrado como principal causa a hipertensão arterial, observou que a população de diabéticos entre pacientes que realizam hemodiálise no Brasil vem aumentando, enquanto os hipertensos se mantem estáveis. Os censos brasileiros de diálise de 2008, 2009 e 2010 encontraram taxas de diabetes mellitus de 26%, 27% e 27,5% respectivamente e para hipertensão arterial 36%, 35% e 35,2% respectivamente. Nos Estados Unidos a principal causa de DRC em diálise é o diabetes mellitus (USRDS, 2011).

Quanto à presença de glomerulonefrite como segunda causa de DRC, a explicação é que foram incluídas as doenças glomerulares primárias e secundárias, nestas últimas a nefrite lúpica, o que aumentaram as taxas de prevalências dessas patologias como causa da doença renal. Outra possível justificativa foi pela melhoria no diagnóstico dessas doenças, com realização de biópsias renais para identificação das lesões, que favorecem o seu reconhecimento.

Considerando os fatores de risco, o tempo de diálise foi estatisticamente significativo ($p=0,012$), com tendência crescente ($A > 0$), quanto maior o tempo de tratamento, maior o

risco de contaminação por hepatite C nas unidades de hemodiálise. Praticamente todos os estudos envolvendo fatores de risco de hepatite C tem descrito essa relação com significância estatística, sugerindo a transmissão nosocomial do vírus (MEDEIROS et al., 2004; CARNEIRO et al., 2007; SANTOS E SOUTO, 2007; PENIDO et al., 2008; YÁBAR E ZEVALLOS, 2009; LEÃO et al., 2010; SAUNÉ et al., 2011).

Neste estudo foi observado que 44,8% iniciaram hemodiálise como portadores do VHC. Destes, a maioria tinha até 5 anos de tratamento, enquanto que entre os pacientes que adquiriram o VHC durante o tempo de diálise, a maioria tinha mais de 5 anos no procedimento, o que foi altamente significativo estatisticamente ($p=0,0001$), confirmando a relação do tempo de diálise com o risco de infecção. Maia et al. (2009) observou que em 78,2% dos pacientes que foram contaminados durante o período de hemodiálise, isso ocorreu após os 4 anos de tratamento.

Com relação aos fatores de risco relacionados ao comportamento sexual, não foi observado diferenças entre os grupos reagentes e não reagentes, concordando com dados de Santos e Souto (2007) e Silva (2012). Em estudo na população geral, Bezerra et al. (2007) observou associação entre doenças sexualmente transmissíveis e múltiplos parceiros com infecção pelo VHC.

Transfusão de sangue, considerada na literatura com fator de risco, foi observada igualmente, com elevada prevalência, nos grupos reagentes e não reagentes, diferindo de outros estudos onde esse procedimento teve significância (MEDEIROS et al., 2004; FARAH et al., 2007; FREITAS et al., 2008; LI E WANG, 2010; SAUNÉ et al., 2010). Dados semelhantes a este estudo foram observados por Leão et al. (2010).

Transfusões sanguíneas foram fatores de risco para tratamentos realizados até 1992 (FREITAS et al., 2008; CARNEIRO et al., 2001). Pacientes com DRC em hemodiálise tem anemia crônica por deficiência de eritropoietina, que levaram as transfusões excessivas nessa população. Nas últimas décadas a utilização de eritropoietina sintética tem diminuído consideravelmente a necessidade de transfusões (FREITAS et al., 2008).

Transplante de órgão foi altamente significativo ($p= 0,000$), sendo fator de risco para infecção pelo VHC entre os pacientes. Esses dados concordam com outros estudos que mostraram relação significativa entre transplante de órgãos e a presença de anti-VHC (TU et al., 2009; YÁBAR E ZEVALLOS, 2009; LI E WANG, 2010; SAUNÉ et al., 2011). Botelho et al (2008), observou associação significativa de anti-VHC positivo em indivíduos com transplantados renais, tendo como fatores de risco transfusão de sangue sem triagem, maior tempo em hemodiálise e transplantes realizados antes de 1994.

Uso de drogas, etilismo e tabagismo não tiveram significância estatística entre os grupos reagente e não reagente, o que difere de Farah et al. (2007) e Kalantar-Zadeth et al. (2007), e concorda com os estudos de Santos e Souto (2007) e Leão et al. (2010). Na população geral, uso de drogas é o principal fator de risco para VHC e mostrou associação significativa com infecção em pacientes que realizam hemodiálise (BEZERRA et al., 2007; GALPERIM et al., 2010).

Tabagismo foi frequente, em 17,8% dos indivíduos estudados. Uso de tabaco constitui fator de risco para o aumento da mortalidade por doença cardiovascular nessa população. Cravo et al. (2011) encontrou 34,5% tabagista e 17,2% de etilistas nos doentes renais crônicos estudados.

O impacto da presença de VHC na unidade de hemodiálise se estende a equipe de saúde, equipamentos, uso de capilares e água tratada para o consumo no procedimento. Em estudo realizado por Lazzarini et al, que consistia na avaliação da incidência de soroconversão para o VHC após a implantação de programa de prevenção de infecção em unidade de hemodiálise, observou uma redução significativa dos casos novos de VHC. Essas medidas visavam principalmente o treinamento da equipe e revisão de normas e rotinas com aplicação de medidas preventivas.

Este estudo enfatiza a importância de estratégias de controle de hepatite C em hemodiálise e a utilização de medidas adequadas de precauções e prevenção de contaminação nas unidades, alertando os serviços quanto à necessidade de revisão periódica das rotinas, dos protocolos e do comportamento da equipe.

Com a triagem de doações de sangue, a transmissão nosocomial é a principal via de contágio do vírus C nessa população. Os métodos de biologia molecular precisam ser implantados nas unidades de hemodiálise, pelo menos na admissão, para subsidiar o controle da infecção pelas doenças virais de transmissão sanguínea.

8 CONCLUSÃO

- A prevalência de anticorpos VHC específicos entre os pacientes que realizam hemodiálise em Belém-Pará no período estudado foi 8,4 %, maior que a média nacional de unidades de diálise no Brasil, porém inferior a vários estados brasileiros.
- O RNA viral foi detectado em 5,4% dos pacientes estudados sendo o genótipo 1 o mais frequente com 86,1%, seguido pelo genótipo 2, com 11,6% e o genótipo 3 com 2,3%. Diferindo do que é descrito na população geral da região Norte (1, 3 e 2). A elevada prevalência do genótipo 2 nos renais crônicos sugere transmissão nosocomial nas clínicas de diálises.
- A pesquisa de anticorpos VHC específicos pelo método Elisa foi significativamente mais eficiente para o diagnóstico do VHC entre os pacientes em hemodiálise.
- O estudo apresentou predomínio de indivíduos do sexo masculino, com faixa etária 46-65 anos, casados ou em união estável, com baixo nível de escolaridade e renda familiar até 2 salários mínimos, com ocupação concentrada na área do comércio e serviços.
- A principal causa da doença renal crônica foi diabetes mellitus, seguida de glomerulonefrite. Hipertensão arterial apareceu em terceiro lugar. Similar ao descritos em outros estudos realizados no Brasil.
- O tempo de diálise foi significativo fator de risco para aquisição do VHC, sendo que a maioria dos reagentes para VHC tinha mais de 5 anos de tratamento.
- História de transplante de órgãos foi mais frequente nos reagentes para o VHC que nos não reagentes, com significância estatística.

9 REFERÊNCIAS

- AGARWAL, S. K. Hemodialysis of patients with HCV infection: isolation has a definitive role. **Nephron Clinical Practice**, Basel, Switzerland, v. 117, n. 4, p. C328-c332, Apr. 2011.
- AHMAD, S.; MISRA, M.; HOENICH, N; DAUGIRDAS, J. T. Hemodialysis apparatus. In: DAUGIRDAS, J. T.; BLAKE, P. G.; ING, T. S. **Handbook of dialysis**. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2001. p. 59-78.
- ALAVIAN, S-M; HOSSEINI-MOGHADDAM, S. M-M.; RAHNACARDI, M. Hepatitis C among hemodialysis patients: a review on epidemiologic, diagnostic, and therapeutic features. **Hepatitis Monthly**, Tehran, v. 7, n. 3, p. 153-162, Summer, 2007.
- ALAVIAN, S-M. A shield against a monster: hepatitis C in hemodialysis patients. **World Journal Gastroenterology**, Beijing, China, v. 15, n. 6, p. 641-646, Feb. 2009.
- ALBUQUERQUE, A. C. C.; COELHO, M. R. C. D.; LOPES, E. P. A.; LEMOS, M. F.; MOREIRA, R. C. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients from one center in Recife, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 5, p. 467-470, Aug. 2005.
- ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C virus infection. **World Journal Gastroenterology**. Beijing, China, v. 13, n. 17, p. 2436-2441, May 2007.
- AMORIM, R. M. S.; RAIOL, T.; TREVIZOLI, J. E.; NEVES, F. A. R.; MARTINS, C. R. F.; MARTINS, R. M. B. Hepatitis C virus genotypes in hemodialysis in the Federal District, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 57-60, jan./fev. 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**, Uberaba, v. 41, n. 4, p. 334-337, jul./ago. 2008.
- ARAÚJO, A. N.; ALMEIDA, C. M., FRAPORTI, L.; GARCIA, N.; LIMA, T. A.; MAIA, L. P. V.; TORRES, K. L.; TARRAGÔ, A. M.; VICTÓRIA, F.; VICTÓRIA, M.; TATENO, A.; LEVI, J. E.; TALHARI, S.; MALHEIRO, A. Caracterização do vírus da hepatite C em pacientes com hepatite crônica: genótipos no Estado do Amazonas, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n. 5, p. 638-640, set./out. 2011.
- ARENAS, M. D.; MUÑOZ, C.; SÁNCHEZ-PAYÁ, J.; JOVER, R.; EGEA, J.J.; GIL, M.T.; MARTÍN, F.; SARRÓ, F.; SORIANO, A.; LUNA, A.; OLIVARES, J.; REYES, A.; MUÑOZ DEL BUSTILLO, E.; DEL POZO, C.; VALVERDE, V.; PERDIGUERO, M.; ARAQUE, A. Distribución de los genótipos del virus C em la población de hemodiálises de la provincia de Alicante. **Nefrología**, Barcelona, Spain, v. 21, n. 6, 581-586, 2001
- ASHFAQ, U; JAVED, T; REHMAN, S; NAWAR, Z AND RIAZUDDIN, S. An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. **Virology Journal**, London, UK,

v. 8, n. 161, p. 1-10, 2011. Disponível em: < <http://www.virologyj.com/content/8/1/161> >. Acesso em: 08/01/2012.

AYRES, M; AYRES JR, M; AYRES, D. L; SANTOS, A. S. **Bio Estat 5.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. MCT-CNPq, 2007, 365pp.

BALDESSAR, M. Z.; BETTIOL, J.; FOPPA, F.; OLIVEIRA, L. H. DAS C. Hepatitis C risk factor for patients submitted to dialysis. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 11, n. 1, p. 12-15, Feb. 2007.

BARONE, A. A. A. Busca por um assassino silencioso. In: ARAÚJO, E. S.; BARONE, A. A. (Ed). **Hepatite C**. São Paulo: Manole, 2010, p. 2-5.

BARTENSCHLAGER, R AND LOHMANN, V. Replication of hepatitis C virus. **Journal of General Virology**. Reading, UK, v. 81, n. 7, p. 1631-1648, July 2000.

BERENGUER, M. Treatment of chronic hepatitis C. **Hepatology**, Boston, USA, v. 48, n. 5, p. 1690-1699, Nov. 2008.

BEZERRA, C. S.; LIMA, J. M. C.; VILLAR, J. L.; MOREIRA, J. L. B.; FROTA, C. C. Viral hepatitis C in leading Brazilian hospital: epidemiological factors and genotyping. **Brazilian Journal Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 656-661, Oct./Dec. 2007.

BOTELHO, S. M.; FERREIRA, R. CS.; REIS, N. R. S.; KOZLOWSKI, A. G.; CARNEIRO, M. A. S.; TELES, S. A.; YOSHIDA, C. F. T.; MARTINS, R. M. B. Epidemiological aspects of hepatitis C virus infection among renal transplant recipients in Central Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 103, n. 5, p 472-476, Aug. 2008.

BRANDÃO, A. B. M.; FUCHS, S. C.; SILVA, M. A. A.; EMER, L. F. Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão da literatura. **Revista Panamericana de Salud Publica**, Washington, EUA, v. 9, n. 3, p. 161-168, mar. 2001.

BRASIL. Agência de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 154, de 15 junho de 2004. Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos Serviços de Diálise, **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 15 jun. 2004. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/> >. Acesso em: 29/10/2012.

BUSEK, S.; OLIVEIRA, G. Molecular epidemiology of the hepatitis C virus in Brazil. **Genetics and Molecular Research**. Ribeirão Preto, SP, v. 2, n. 1, p. 117-123, 2003. Disponível em: < <http://geneticsmr.com/issue/2/1>>. Acesso em: 6/12/2010.

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 vírus genotypes in Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. Ribeirão Preto, SP, v. 38, n. 1, p. 41-49, Jan. 2005.

CAMPOS, A. F.; SILICIANO R. F. Manifestações clínicas associadas à hepatite C. In: ARAÚJO, E. S.; BARONE, A. A.(ed.). **Hepatite C**. São Paulo: Manole, 2010, p. 69-74.

CARNEIRO, M. A. S.; MARTINS, R. M. B.; TELES, S. A.; SILVA, S. A.; LOPES, C. C.; 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**. Rio de Janeiro, v. 96, n. 6, p. 765-769, Aug. 2001.

CARNEIRO, M. A. S.; TELES, S. A.; DIAS, M. A.; FERREIRA, R. C.; NAGHETTINE, A. V.; SILVA, S. A.; LAMPE, E.; YOSHIDA, C. F. T.; MARTINS, R. M. B. Decline of hepatitis C infection in hemodialysis patients in Central Brazil: a ten years of surveillance. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 4, p. 345-349, July 2005.

CARNEIRO, M. A. S.; TELES, S. A.; LAMPE, E.; ESPIRITO-SANTO, M. P.; OLIVEIRA, R. G.; REIS, N. R. S.; YOSHIDA, C. F. T.; MARTINS, R. M. B. Molecular and epidemiological study on nosocomial transmission of HCV in hemodialysis patients in Brazil. **Journal of Medical Virology**, Malden, MA, USA, v. 79, n. 9, p. 1325-1333, Sept. 2007.

CARTÁGENES, P. R. B. **Infecção pelo HCV em uma unidade de diálise em Belém-Pará: desempenho de testes imunoenzimáticos em relação à técnica de biologia molecular**. 1998. 105f. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais). Universidade Federal do Pará. Belém, Pará.

CAVALHEIRO, N. P. Diagnóstico Laboratorial da Hepatite C. In: ARAÚJO, E. S.; BARONE, A. A.(ed). **Hepatite C**. São Paulo: Manole, 2010. p. 76-114.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. **MMWR**. Atlanta, USA, v. 47, n. RR-19, 54p, 1998.

Centers For Disease Control And Prevention (CDC). Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. **MMWR**. Atlanta, USA, v. 50, n. RR-5, 63p, 2001.

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

CHEVALIEZ, S; PAWLOTSKY, J-P. Hepatitis C virus: virology, diagnosis and management of antiviral therapy. **World Journal Gastroenterology**, Beijing, China, v. 13, n. 17, p. 2461-2466, May 2007.

CHOO, Q. óL.; RICHMAN, K. W.; HAN, J. W.; BERGER, K.; LEE, C.; DONG, C; GALLEGOS, C.; COIT, D. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. **Proc. Natl. Acad. Sci**, Washington, USA, v. 88, n. 6, p. 2451-2455, Mar. 1991.

COHEN, J. The Scientific Challenge of Hepatitis C. **Science**, Washington, USA, v. 285, n. 5424, p. 26-30, July 1999.

CRAVO, C. D. L.; MIRANZI, S. S. C.; IWAMOTO, H. H.; SOUZA JÚNIOR, J. L.. Perfil epidemiológico dos pacientes em hemodiálise de um hospital universitário. **Ciência, Cuidado e Saúde**, Maringá, v. 10, n. 1, p. 110-115, 2011.

CRAWFORD, J.M; LIU, C. Fígado e Trato Biliar. In: KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ASTER, J.C. **Robbins & Cotran Patologia bases patológicas das doenças**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, p. 841-898.

DAUGIRDAS, J. T. Physiologic Principles and Urea Kinetic Modeling. DAUGIRDAS, J. T.; BLAKE, P. G.; ING, T. S. **Handbook of dialysis**. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2001. p. 25-58.

DESCAMPS-LATSCHA, B.; WITKO-SARSAT, V.; JUNGERS, P. Infection and immunity in end-stage renal disease. In: HENRICH, W. L. (end). **Principles and practice of dialysis**. 2 ed, Baltimore: Lippincott Williams e Wilkins, 1999, p. 272-284.

DOTTA, M. A.; CHEQUER, H.; PEREIRA, J. P. M.; SCHIMITT, V.M.; KRUG, L.; SAITOVITCH, D. Métodos molecular e imunológico no diagnóstico de hepatite C em pacientes em Hemodiálise. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 86-94, abr./maio/jun. 2003.

ESPINOSA, M.; MARTÍN-MALO, A.; OJEDA, R.; SANTAMARIA, R.; SORIANO, S.; AGUERA, M.; ALJAMA, P. Marked reduction in the prevalence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: causes and consequences. **American Journal of Kidney Diseases**, New York, USA, v. 43, n. 4, p. 685-689, Apr. 2004.

ESPIRITO-SANTO, M. P.; CARNEIRO, M. A. S.; REIS, N. R. S.; KOZLOWSKI, A. G.; TELES, S. A.; LAMPE, E.; YOSHIDA, C. F. T.; MARTINS, R. M. B. Genotyping hepatitis C virus from hemodialysis patients in Central Brazil by line probe assay and sequence analysis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 40, n. 4, p. 545-550, Apr.2007.

ESTEBAN, J. I.; SAULEDA, S.; QUER, J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. **Journal of Hepatology**, Geneva, Switzerland, v. 48, n. 1, p. 148-162, July 2008.

FABRIZI, F.; MARTIN, P.; DIXIT, V.; BREZINA, M.; COLE, M. J.; VINSON, S.; MOUSA, M.; GITNICK, G. Biological dynamics of viral load in hemodialysis patients, with hepatitis C virus. **American Journal of Kidney diseases**, New York, USA, v. 35, n. 1, p. 122-129, Jan. 2000.

FABRIZI, F.; LUNGHI, G.; FINAZZI, S.; COLUCCI, P.; PAGANO, A.; PONTICELLI, C.; LOCATELLI, F. Decreased serum aminotransferase activity in patients with chronic renal failure. : impact on the detection of viral hepatitis. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 38, n. 5, p. 1009-1015, Nov. 2001.

FABRIZI, F.; POORLAD, F. F.; MARTIN, P. Hepatitis C infection and the patient with end-state renal disease. **Hepatology**, Boston, USA, v. 36, n. 1, p. 3-10, July 2002.

FABRIZI, F.; BRUNNAPRADIST, S.; LUNGHI, G.; MARTIN, P. Kinetics of hepatitis C virus load during hemodialysis: Novel perspectives. **Journal of Nephrology**, Milano, Italy, v. 16, n. 4, p. 467-475, July/Aug. 2003.

FABRIZI, F.; LUNGI, G.; GANESHAN, S. V.; MARTIN, P.; MESSA, P. Hepatitis C virus infection and the dialysis patient. **Seminars in Dialysis**. New Brunswick, Canada, v. 20, n. 5, p 416-422, Sept./Oct. 2007.

FABRIZI, F.; MESSA, P.; MARTIN, P. Impact of hemodialysis therapy on hepatitis C virus infection: a deeper insight. **The International Journal of Artificial Organs**, Milano, Italy, v. 32, n. 1, p. 1-11, Jan. 2009.

FARAH, K. P.; CARMO, R. A.; ANTUNES, C. M. F.; SERUFO, J. C.; NOBRE JÚNIOR, V. A. CASTRO, L. P. F.; LEITE, V. H. R.; SILVA, R. A. P.; ÁLVARES, M. C. B.; CORRÊA, G. O.; BUSEK, S. C. U.; LAMBERTUCCI, J. R. Hepatitis C, HCV genotypes and hepatic siderosis in patients with chronic renal failure on haemodialysis in Brazil. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, UK, v. 22, n. 8, p. 2027-2031, July 2007.

FECURY, A. A. **Vírus da Hepatite C: Prevalência dos genótipos, fatores de risco, alterações bioquímicas e histopatológicas de pacientes atendidos no Núcleo de Medicina Tropical**. 2011. 80f. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais). Universidade Federal do Pará. Belém, Pará.

FISSELL, R. B.; BRAGG-GRESHAM, J. L.; WOODS, J. D.; JADOUL, M.; GILLESPIE, B.; HEDDERWICK, S. A.; RAYNER, H. C.; GREENWOOD, R. N.; AKIBA, T.; YOUNG, E. W. Patterns of hepatitis C prevalence and seroconversion in hemodialysis units from three continents: The DOPPS. **Kidney International**, Brussels, Belgium, v. 65, n. 6, p 2335-2342, June 2004.

FREITAS, S. Z.; CUNHA, R. V.; MARTINS, R. M. B.; TELES, S. A.; IBANHES, M. L.; MOTTA-CASTRO, A. R. C. Prevalence, genotypes and factors associated with hepatitis c virus infection in hemodialysis patients in Campo Grande, MS, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 103, n. 4, p. 405-408, June 2008.

FURUSYO, N.; KUBO, H.; KASHIWAGI, K.; ETOH, Y. Confirmation of nosocomial hepatitis C Virus infection in a hemodialysis unit. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, Chicago, USA, v. 25, n. 7 , p. 584-590, 2004. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/10.1086/502443> > . Acesso em: 20/02/2012

GALPERIM, B; MATTOS, AA; STEIN, AT; SCHNEIDER, NC; BURIOL, A; FONSECA, A; LUNGE, V; IKUTA, N. Hepatitis C in hemodialysis: the contribution of injection drug use. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 14, n. 4, p. 422-426, July/Aug. 2010.

GHAFUR, A.; RAZA, M.; LABBETT, W.; CHAWLA, A.; SMITH, C.; NGUI, S. L.; DAVENPORT, A.; GERETTI, A. M. Travel-associated acquisition of hepatitis C virus infection in patients receiving haemodialysis. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, UK, v. 22, n. 9, p. 2640-2644, Sept. 2007.

GOMES, S. A.; NIEL, C. M. G. Hepatites Virais. In: SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. **Introdução à virologia humana**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 331-356.

GONÇALVES, L. F. S. MANFRO, R. C.; VERONESE, F. J. V.; RIBEIRO, A. R. Aspectos clínicos, rotinas e complicações do transplante renal. In: BARROS, E.; MANFRO, R. C.; THOMÉ, F. S.; GONÇALVES, L. F. **Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento**. 3 ed. Porto Alegre: artmed, 2006, p. 455-485.

GONZAGA, R. M.S.; RODART, I. F.; REIS, M. G.; RAMALHO NETO, C. E.; SILVA, D. W. Distribution of hepatitis C virus (HCV) genotypes in seropositive patients in the State of Alagoas, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 644-647, Dec 2008.

GOUVEIA, E. C.; LOPES, E. P. A.; MOURA, I.; CRUZ, M.; KOSMINSKY, L; PERNAMBUCO, J. R. Identificação de ponto de corte no nível sérico da alanina aminotransferase para rastreamento da hepatite C em pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 37, n. 1, p. 18-21, Jan./Feb. 2004.

HAUSER, A. B.; STINGHEN, A. E.; KATO, S.; BUCHARLES, S.; AITA, C.; YUZAWA, Y.; PECOITS-FILHO, R. Characteristic and causes of immune dysfunction related to uremia and dialysis. **Peritoneal Dialysis International**, Colorado, USA, v. 28, suppl. 3, p. S183-S187, June 2008.

HINRICHSEN, H.; LEIMENSTOLL, G.; STEGEN, G.; FÖLSCH, U. R.; SCHMIDT, W. E. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in haemodialysis patients: a multicentre study in 2796 patients. **GUT**, London, UK, v. 51, n. 3, p. 429-433, Sept. 2002.

IRSHAD, M; ANSARI, MA; SINGH A; NAG, P; RAGHVENDRA, L. HCV-genotypes: a review on their origin, global status, assay system, pathogenecity and response to treatment. **Hepatogastroenterology**, Athens, Greece, v. 57, n. 104, p.1529-1538, 2010.

JADOUL, M. Epidemiology and mechanisms of transmission of the hepatitis C virus in haemodialysis. **Nephroly Dialysis Transplantation**, Oxford, UK, v. 15, suppl. 8, p. 39-41, Dec 2000.

JADOUL, M.; POIGNET, JL.; GEDDES, C.; LOCATELLI, F.; MEDIN, C.; KRAJEWSKA, M.; BARRIL, G.; SCHEUERMANN, E.; SONKODI, S.; GOUBAU, AND THE HCV COLLABORATIVE GROUP. The changing epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection in haemodialysis: European multicentre study. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, UK, v. 19, n. 4, p. 904-909, Apr. 2004.

KALANTAR-ZADETH, K.; KILPATRICK, R. D.; McALLISTER, C. J.; MILLER, L. G.; DAAR, E. S.; GJERTSON, D. W.; KOPPLE, J. D.; GREENLAND, S. Hepatitis C virus and death risk in hemodialysis patients. **Journal of the American Society of Nephrology**, Washington, USA, v. 18, n. 5, p. 1584-1593, May 2007.

KARKAR, A.; ABDELRAHMAN, M.; GHACHA, R.; MALIK, T. Q. Prevention of viral transmission in HD units: the value of isolation. **Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation**, Riyadh, Saudi Arabia, v. 17, n. 2, p. 183-188, Apr./June 2006

KAROHL, C.; MANFRO, R. C.; SENGER, M. B.; THOMÉ, F. S.; GONÇALVES, L. F. S.; RIGATTO, M.; PROMPT, C. A. Prevalência de anticorpos anti-virus da hepatite C em

pacientes em hemodiálise crônica de Porto Alegre. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 40-46, jan./fev./mar. 1995.

KATO, N. Molecular virology of hepatitis C virus. **Acta Medica Okayama**, Okayama, Japan, v. 55, n. 3, p. 133-159, 2001.

KATO, S; CHMIELEWSKI, M; HONDA, H; PECOITS-FILHO, R; MATSUO, S; YUZAWA, Y; TRANAEUS, A; STENVINKEL, P; LINDHOLM, B. Aspects of immune dysfunction in end-stage renal disease. **Clinical Journal of the American Society Nephrology**, Washington, USA, v. 3, n. 5, p. 1526-1533, Sept. 2008.

KAUFMAN, A. M.; LEVIN, R. JAYAKARAN, R.; LEVIN, N. W. Dialyzer Reuse. In: DAUGIRDAS, J. T.; BLAKE, P. G.; ING, T. S. **Handbook of dialysis**. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2001. p. 192-203

Kidney Disease: Improving Global Outcomes. KDIGO clinical practice guidelines for the prevention, diagnosis, evaluation, and treatment of Hepatitis C in chronic kidney disease. **Kidney International**, Brussels, Belgium, v.73, suppl. 109, p. S16S99, Apr. 2008.

KES, P.; BASIC-JUKIC, N. Hepatitis C in dialysed patients ó what is the current optimal treatment? **Kidney Blood Pressure Research**, Basel, Switzerland, v. 30, n. 3 156-161, 2007.

KHAN, S.; ATTAULLAH, S.; ALI, I.; AYAZ, S.; NASSEEMULLAH,; KHAN, S. N.; SIRAJ, S.; KHAN, J. Rising burden of Hepatitis C virus in hemodialysis patients. **Virology Journal**, London, UK, v. 8, n. 438, 2011. Disponível em: <<http://www.virologyj.com/content/8/1/438>>. Acesso em 08/01/2012.

KRUG, L; DOTTA, M. A.; SAITOVITCH, D. Hepatite C em pacientes em hemodiálise. In CRUZ, J.; CRUZ, H.M.M.; BARROS, R. T. **Atualidades em Nefrologia 7**. São Paulo: Sarvier, 2002. p. 252-262.

LAZZARINI, F. A. da S.; ANDRADE, D.; ROSSI, L. A.; FERRAZ, A. E. P. Incidência de soroconversão para o vírus da hepatite C após implantação de programa de prevenção e controle em unidade de hemodiálise. **Revista Latino-americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 8, n. 5, p. 7-12, out. 2000.

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. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 47, n. 1, p. 28-34, jan./mar. 2010.

LI, H.; WANG, S.; Hepatitis C viral infection in a chinese hemodialysis unit. **Chinese Medical Journal**, Beijing, China, v. 123, n. 24, p. 3574-3577, Dec. 2010.

LUGON, J. R., MATOS, J. P. S., WARRAK, E. A. Hemodiálise. In: RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p 980-1019.

MAIA, L. P. V.; MARTINS FILHO, O. A.; CARVALHO, A. T.; SPEZIALI, E.; VERMHREN, R; LIRA, E. F.; LIMA, T. A.; BRAGA, W. S.; TORRES, K. L.; MALHEIRO, A. Hepatitis C virus screening and clinical monitoring of biomarkers in patients undergoing

hemodialysis. **Journal of Medical Virology**, Malden, MA, USA v. 81, n. 7, p. 1220-1231, July 2009.

MARTIN, P.; FABRIZI, F. Hepatitis C virus and kidney disease. **Journal of Hepatology**, Geneva, Switzerland, v. 49, n. 4, p. 613-624, Oct. 2008.

MARTINS, R. S.; MARTINS FILHO, O. A.; GONÇALVES, N. S.; DEL CASTILHO, D. M.; SILVA, L. D.; FARIA, L. C.; TEIXEIRA, R. Kinetics of hepatitis C virus load and hemodialysis: is there any influence of the reuse of dialysis membrane on HCV viremia? **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Stockholm, Sweden v. 44, n. 3, p. 190-196, Mar. 2012.

MARTINS, T.; NARCISO-SCHIAVON, J. L.; SCHIAVON, L. L. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 57, n. 1, p. 107-112, jan./fev. 2011.

MATOS, JPS DE.; ALMEIDA, JR.; GUINSBURG, A.; BARRA, ABL.; VASCONCELLOS, MS.; D'ALMEIDA-FILHO, EJ.; HOETTE, M.; RUZANY, F.; LUGON, JR. Avaliação da sobrevida de cinco anos em hemodiálise no Brasil: uma coorte de 3082 pacientes incidentes. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 436-441, out./nov./dez. 2011.

MEDEIROS, M. T. G. M.; 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. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 187-93, abr. 2004.

MELLO, E. S.; ALVES, V. A. F. Exame anatomopatológico do fígado na Hepatite C. In: ARAÚJO, E. S.; BARONE, A. A.(ed.). **Hepatite C**. São Paulo: Manole, 2010, p. 156-165.

MELLO, L. DE A.; MELO-JÚNIOR, M. R DE. Soroprevalência da hepatite C em pacientes hemodialisados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 3, p. 290-294, maio/jun. 2007.

MIRANDA, E. C. B. M. **Estudo clínico, laboratorial e histopatológico de grupos selecionados de pacientes com hepatite C crônica em Belém, Pará**. 2008. 169f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical). Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro.

MORADPOUR, D; PENIN, F; RICE, C, M. Replication of hepatitis C virus. **Nature Review Microbiology**, London, UK, v. 5, n.6, p. 453-463, June 2007.

MORALEZ, M. J. e CAMPISTOL, M. J. Transplantation in the patient with hepatitis C. **Journal of the American Society of Nephrology**, Washington, USA, v. 11, n. 7, p. 1343-1353, July 2000.

MOREIRA, R. C.; LEMOS, M. F.; LONGUI, C. A.; GRANATO, C. Hepatitis C and Hemodialysis: a review. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, n. 3, p. 269-275, June 2005.

NAKAYAMA, E.; AKIBA, T.; MARUMO, F.; SATO, C. Prognosis of anti-hepatitis C virus antibody-positive patients on regular hemodialysis therapy. **The Journal of the American Society of Nephrology**, Washington, USA, v. 11, n, p. 1896-1902, Oct. 2000.

NOIRI, E.; NAKAO, A.; OYA, A.; FUJITA, T.; KIMURA, S. Hepatitis C virus in blood and dialysate in hemodialysis. **American Journal of Kidney Diseases**, New York, USA, v. 37, n. 1, p 38-34, Jan. 2001.

NOORALI, S.; PACE, D. G.; BAGASRA, O. Of lives and livers: emerging responses to the hepatitis C virus. **The Journal of Infection in Developing Countries**, Sassari, Italy, v. 5, n. 1, p. 1-17, Jan. 2011. Disponível em: <<http://www.jidc.org/index.php/journal/issue/view/58>> . Acesso em: 08/01/2012.

OLIVEIRA, M. L. P., CASTILHO, D. D.; PERONE, C.; OLIVEIRA, A. H.; ESPÍNDOLA, T.; ZOCRATTO, K. B. F.; CAMBRAIA, R. D.; TEIXEIRA, R. Diagnóstico de hepatite C em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise: qual a melhor estratégia. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 154-162, abr./maio/jun. 2009.

PATEL, P. R.; THOMPSON, N. D.; KALLEN, A. J.; ARDUINO, M. J. Epidemiology, surveillance and prevention of hepatitis C virus infections in hemodialysis patients. **American Journal of kidney Diseases**, New York, USA, v. 56, n. 2, p. 371-378, Aug. 2010.

PATHPEDIA LCC. Chronic hepatitis C. Disponível em: <http://www.pathpedia.com/education/atlas/histopathology/liver_and_bile_ducts/chronic_hepatitis_c.aspx> . Acesso em 28/09/2012.

PENIDO, J. M. M. O.; CAIAFFA, W. T.; PENIDO, M. G.; CAETANO, E. V. C.; CARVALHO, A. R.; LEITE, A. F.; FARIA, S. C.; GOMIDE, I. V.; ROSA, A. A. B.; PENIDO, M.G.M.G.; TEIXEIRA, R. Seroprevalencia del vírus de la hepatitis C em pacientes en hemodiálisis y profesionales de la salud em el Estado de Minas Gerais, região Sudeste de Brasil. **Nefrología**, Barcelona, Spain, v. 28, n. 2, p. 178-185, 2008.

PEREZ, R. M.; FERRAZ, M. L. G. Hepatite C no paciente renal crônico. In: ARAÚJO, E. S.; BARONE, A. A.(ed.). **Hepatite C**. São Paulo: Manole, 2010. p. 269-279.

PERICO, N.; CATTANEO, D.; BIKBOV, B; REMUZZI, G. Hepatitis C infection and chronic renal diseases. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, Washington, USA, v. 4, n. 1, p. 207-220, Jan.2009.

POLIAK, S. J.; MELO, C. E. Virologia do VHC. In: ARAÚJO, E. S.; BARONE, A. A.(ed.). **Hepatite C**. São Paulo: Manole, 2010. p. 33-51.

RABIH, S. A.; AGUDO, R, G. Management of HCV infection in chronic kidney disease. **Nefrología**, Barcelona, Spain; 31(3): 260-7, 2011.

RAHNAVARDI, M.; MOGHADDAM, S.M. H.; ALAVIAN, S. M. Hepatitis C in hemodialysis patients: current global magnitude, natural history, diagnostic difficulties and preventive measure. **American Journal of Nephrology**, Chicago, USA, v. 28, n. 4, p. 628-640, June, 2008.

ROMÃO JÚNIOR, J. E. Doença Renal Crônica: Definição, Epidemiologia e Classificação. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 26, supl. 1 , p 1-3, jul./ago./set. 2004.

SANTOS, M. A. M.; SOUTO, F. J. D. Infection by the hepatitis, C virus in chronic renal failure patients undergoing hemodialysis in Mato Grosso State, central Brazil: a cohort study. **BMC Public Health**, London, UK, v. 7, n. 32, p. 1-8, Mar. 2007. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2458/7/32>>. Acesso em: 10/02/2012.

SAUNÉ, K.; KAMAR, N.; MIÉDOUGÉ, M.; WECLAWIAK, H.; DUBOIS, M.; IZOPET, J.; ROSTAING, L. Decreased prevalence and incidence of HCV markers in haemodialysis units: a multicentric French survey. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, UK, v. 26, n. 7, p. 2309-2316, July 2011.

SESSO, R. C.; LOPES, A. A.; THOMÉ, F. S.; LUGON, J. R.; BURDMANN, E. A. Censo brasileiro de diálise de 2010. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 442-447, out./nov./dez. 2011.

SESSO, R. C.; LOPES, A. A.; THOMÉ, F. S.; LUGON, J. R.; DOS SANTOS, D. R. Relatório do censo brasileiro de diálise, 2009. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 380-384, out./nov./dez. 2010.

SHEPARD, C. W.; FINELLI, L.; ALTER, M. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. **The Lancet Infectious Diseases**, London, UK, v. 5, n. 9, p. 558-567, Sept. 2005.

SILVA, M. I. L. Da. **Prevalência da hepatite C em pacientes em terapia renal substitutiva na cidade de Imperatriz-Maranhão**. 2012.57f. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais), Universidade Federal do Pará. Belém, Pará.

SILVA, LK.; SILVA, MBS.; RODART, IF.; LOPES, GB.; COSTA, FQ.; MELO, ME.; GUSMÃO, E.; REIS, MG. Prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV genotypes of hemodialysis patients in Salvador, Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 39, n. 5 p. 595-602, May 2006.

SIMMONDS, P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus ó 15 years on. **Journal of General Virology**, Reading, UK, v. 85, n. 11, p. 3173-3188, Nov. 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA. Epidemiologia da Infecção pelo Vírus da Hepatite C no Brasil. Relatório do Grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia, 1999. 18p. Disponível em <<http://www.fmt.am.gov.br>> Acesso em: 05/12/2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. Censo Brasileiro de Diálise. Disponível em <http://www.sbn.org.br/index.php?censos>>. Acesso em: 1/08/2012.

SOUZA, KP.; TELES, S. A.; CARNEIRO, M. A. S.; OLIVEIRA, L. A.; GOMES, A. S.; DIAS, M. A.; GOMES, S. A.; YOSHIDA, C. F. T. Hepatitis B and C in the hemodialysis unit of Tocantins, Brazil: serological and molecular profiles. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 5, p. 599-603, July 2003.

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

SUZUKI, T.; ISHII, K.; AIZAKI, H.; WAKITA, T. Hepatitis C viral life cycle. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, Netherlands, v. 59, n. 12, p. 1200-1212, Oct. 2007.

TANG, H.; GRISÉ, H. Cellular and molecular biology of HCV infection and hepatitis. **Clinical Science**, Glasgow, UK, v. 117, n. 1, p. 49-65, Dec. 2009.

TENGAM, F. M.; FOCACCIA, R. Aspectos epidemiológicos da hepatite C no Brasil e no mundo. In: ARAÚJO, E. S.; BARONE, A. A.(ed.). **Hepatite C**. São Paulo: Manole, 2010. p. 6-22.

TIMM, J.; ROGGEENDORF, M. Sequence diversity of hepatitis C virus: implications for immune control and therapy. **World Journal Gastroenterology**, Beijing, China, v. 13, n. 36, p. 4808-4817, 2007.

THOMPSON, N. D.; NOVAK, R. T.; DATTA D.; COTTER, S.; ARDUINO, M. J.; PATEL, P. R.; WILLIAMS, I. J.; BIALEK, S. R. Hepatitis C virus transmission in hemodialysis units: importance of infection control practices and aseptic technique. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, Chicago, USA, v. 30, n. 9, p. 900-903, Sept. 2009.

TREVIZOLI, J. E.; MENEZES, R. DE P.; VELASCO, L. F. R.; AMORIM, R.; DE CARVALHO, M. B.; MENDES, L. S.; JUNQUEIRA NETO, C.; MACEDO, J. R. DE D.; NEVES, F. DE A. R. Hepatitis C Is Less Aggressive in Hemodialysis Patients than in Nonuremic Patients. **Clinical Journal American Society Nephrology**, Washington, USA, v.3, n. 5, p. 1385-1390, Sept. 2008.

TU, A. W.; BUXTON, J. A.; WHITLOCK, M.; DJURDJEV, O.; CHONG, M.; KRAJEN, M.; BEAULIEU, M.; LEVIN, A. Prevalence and incidence of hepatitis C virus in hemodialysis patients in British Columbia: Follow-up after a possible breach in hemodialysis machines. **Canadian Journal infectious Diseases and Medical Microbiology**, Ontario, Canada, v. 20, n.2, p. e19-e23, Summer 2009.

USRDS United states renal data system Annual Data Report, 2011 National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). 2011. <http://www.usrds.org/default.aspx>

VANDERBORGHT, B. O. M.; ROUZERE, C.; GINUINO, C. F.; MAERTENS, G. VAN HEUVERSWYN, H.; YOSHIDA, C. F. T. High prevalence of hepatitis C infection among Brazilian hemodialysis patients in Rio de Janeiro: a one-year follow-up study. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 37, n. 1, p 75-79, jan./fev. 1995.

VECCHI, M. L.; SPADA, E. LA; VECCHI, V. L; MONTALTO, G. Hepatitis C virus infection in hemodialyzed patients. **The international Journal of Artificial Organs**, Milano, Italy, v. 30, n. 2, p. 100-107, Feb. 2007.

VISO, A. T. R.; VASCONCELOS, D. M. Imunopatogenia da Hepatite C. In: ARAÚJO, E. S.; BARONE, A. A.(ed.). **Hepatite C**. São Paulo: Manole, 2010. p. 52-68.

WECLAWIAK, H.; KAMAR, N.; OULD-MOHAMED, A.; CARDEAU-DESANGLES, I.; IZOPET, J.; ROSTAING, L. Treatment of chronic hepatitis C infection in dialysis patients: an update. **Hepatitis Research and Treatment**, New York, USA, v. 2010, p 1-6, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/issues/191906/>>. Acesso em: 08/01/2011.

WIDMAN, A.; CAPPACCI, M. L. Biópsia Hepática. In: ARAÚJO, E. S.; BARONE, A. A.(ed.). **Hepatite C**. São Paulo: Manole, 2010, p. 147-165.

YÁBAR, M. V.; ZEVALLOS, J. C. Factores asociados a la infección por hepatitis C em casos incidentes em hemodiálisis crónica. **Revista de Gastroenterología del Perú**, Lima, Perú, v. 29, n. 1, p. 11-16, enero/marzo 2009.

ZAMBONATO, T. K.; THOMÉ, F. S.; GONÇALVES, L. F. S. Perfil socioeconômico dos pacientes com doença renal crônica em diálise na região noroeste do Rio Grande do Sul. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 192-199, jul./ago./set. 2008.

APENDICE A ó QUESTIONÁRIO DE DADOS EPIDEMIOLÓGICOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL

Pesquisa e Genotipagem do Vírus da Hepatite C em portadores de Doenças Renais Crônicas Submetidos à Hemodiálise

I - IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____ Idade: _____

Sexo: () Masc. () Fem. Peso _____ Altura _____ Cor: _____

Naturalidade: _____ Data de nascimento ____/____/____

Residência atual _____

Tempo de residência: _____

Telefones: _____

Unidade de Hemodiálise _____

Data do início de Hemodiálise: _____

II ó ESTILO DE VIDA

Estado Marital: () Solteira () Casada () União estável

Opção sexual:

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 ó CONDIÇÃO DE SAÚDE

Causa da DRC : _____

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 tempo de hemodiálise(em meses)? _____

Internação hospitalar () Não () Sim Quando e quantas vezes? _____

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 ó CONDIÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS

Escolaridade _____ Profissão: _____

Salário Familiar

() < que 1 mínimo () de 3 a 5 mínimos
 () 1 mínimo () de 5 a 10 mínimos
 () 2 mínimos () > que 10 mínimos

VI. CONDIÇÕES DE SOROCONVERSÃO EM PORTADORES DA INFECÇÃO PELO VHC:

Quanto tempo é anti-HCV? _____ Data da soroconversão ____/____/____

Quando foi a soroconversão ? Antes de realizar tratamento dialítico? ()

Nos exames de admissão quando iniciou tratamento dialítico? ()

Já realizava hemodiálise algum tempo ()

VI. Exames realizados anteriormente

EXAMES	Data de realização	Resultados
ALT de 3 meses		
Elisa		
PCR		
Genotipagem		
Histopatológico		

VII. Tratamentos realizados para HCV:

Medicamento: _____ período: _____

Responsável pela coleta: _____

APENDICE B ó TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO: Pesquisa e Genotipagem do Vírus da Hepatite C em Portadores de Doenças Renais Crônicas Submetidos à Hemodiálise

Esta pesquisa possui como principal objetivo Avaliar a presença do HCV e dos diferentes genótipos virais em portadores de doença renal crônica em hemodiálise de unidades de Diálise, na região metropolitana de Belém.

. Para tanto é necessário coletar sangue, com essa finalidade prestamos os seguintes esclarecimentos:

- 1- Serão realizados exames de sangue para pesquisar a infecção pelos vírus HCV.
- 2- A pesquisa oferece riscos mínimos para o participante, referente à coleta de sangue que será realizada por profissional treinado.
- 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- 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

Pesquisador Responsável: MARIA DE JESUS RODRIGUES DE FREITAS

ENDEREÇO: RUA MUNDURUCUS 325, BELÉM/PARÁ ó TEL91- 32241852 CEL 91-81276601

ANEXO A ó Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em pesquisa envolvendo seres humanos.



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°006/2011-CEP/NMT
2. **Projeto de Pesquisa:** : PESQUISA E GENOTIPAGEM DO VÍRUS DA HEPATITE C EM PORTADORES DE DOENÇAS RENAI CRÔNICAS SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE
3. **Pesquisador Responsável:** Maria de Jesus Rodrigues de Freitas
4. **Instituição / Unidade:**NMT/UFPA
5. **Data de Entrada:** 03/02/2011.
6. **Data do Parecer:** 16/02/2011.

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, 11 de abril de 2011.

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

Hellen Thais Fuzii
Coordenadora do Comitê de Ética

PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO VÍRUS DA HEPATITE C EM PORTADORES DE DOENÇAS RENAIIS CRÔNICAS SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE.

Maria de Jesus Rodrigues de Freitas, Nephrologist

Amanda Alves Fecury, Biomedical, Msc. Tropical Diseases

Marcella Kelly Costa de Almeida, Pharmaceutical, Msc. Tropical Diseases

Andrei Silva Freitas, Pharmaceutical

Andrea Marinho da Silva, Pharmaceutical

Ygor Fernando Ferreira da Costa, Pharmaceutical

Renata Aparecida Andrade da Costa, Pharmaceutical

Patrícia Ferreira, Biomedical

Luisa Caricio Martins. Biomedical, Dr Genetics and Molecular Biology

Núcleo de medicinal Tropical, Universidade federal do Pará.

Corresponding author: Professor Dra. Luisa Caricio Martins, Tropical Medicina Center.

Adress: Av. Generalissimo Deodoro, 92, District - Umarizal, Belém-Pará-Brazil. Zip Code: 66.000-000.

Phone: (55 91) 3201-6812,E-mail address:caricio@ufpa.br

HCV in hemodialysis patients.

BACKGROUND

Hepatitis C virus (HCV) has been recognized to be one of the major causes of chronic liver disease worldwide [Shepard et al. 2005]. As the transmission of this virus occurs parenterally via blood and blood products, patients receiving maintenance haemodialysis (HD) therapy are at increased risk for acquiring these infections and have a higher prevalence HCV than the general population [Fabrizi et al.2002].

The prevalence of HCV infection among hemodialysis patients varies between countries and between dialysis units within a single country. In Brazil, a country of continental dimensions, HCV infection has not been fully investigated among hemodialysis patients. Studies conducted in different regions of Brazil have described the prevalence of HCV antibodies from 8.4 to 10.5% in the Northeast [Mello et al. 2007, Silva et al, 2006], 11.7%, 14.8%, 16.4% in the Midwest [Freitas et al. 2008, Leão et al. 2010, Carneiro et al. 2007].

The HCV prevalence in northern Brazil of general population (Brazilian Amazon) is the highest among the Brazilian regions (2.2%) [Almeida et al 2012, Sawada et al. 2011]. This study is the first to investigate the HCV infection prevalence, risk factors, and genotypes in hemodialysis patients in the city of Belém, the capital of the state of Pará in the North region of Brazil.

HCV is classified into six major genetic groups, designated genotypes 1 to 6, each comprising multiple subtypes (designated a, b, c, etc). These genotypes have distinct geographical distributions. Genotype determination is a relevant predictive parameter of the response to antiviral treatment. Furthermore, the genotyping of HCV isolates is a useful tool in molecular studies carried out to establish the source of outbreaks in hemodialysis centers and other nosocomial settings [Savey et al.2005].

The objective of the present study was investigate the HCV infection prevalence and genotypes the HCV and possible risk factors for acquiring it in patients on maintenance hemodialysis (HD) in the city of Belém, the capital of the state of Pará (Brazilian Amazon).

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out in the seven dialysis units of the Belém- Pará, Northern Brazil (Fig. 1). Between January and December 2011, blood samples were collected from 798 chronic hemodialysis patients (nearly 99% of this population). The study was approved by the Ethics Committee of the Tropical Medicine Center (Permit No. 006/2011).

A blood sample (10 ml) was collected from each subject by peripheral venipuncture. The sample was centrifuged at 769g for 10 min and serum was separated and stored at -80 C for subsequent analysis of viral markers.

Detection of Serological Markers

Serological markers for HCV infection, anti-HCV antibodies were investigated using the ETI-AB-HCVK-4 from Diasorin (Saluggia, Italy).

Identification of HCV Genotypes

RNA was extracted from all samples using the QIAamp Viral RNA kit (Qiagen, Hilden, Germany). HCV RNA was detected in sera of the subjects by nested PCR using primers that target the 5'-UTR region. The first reaction consisted of synthesis and amplification of cDNA in a single step using 1 ml of the k10 (5'-GGC GAC ACT CCA CCA TRR-3') and k11 (5'-GGT GCA CGG TCT ACG AGA CC-3') primers, 5 ml DNase-free ultrapure water, 5 ml RNase, and 1 ml One-Step Taq DNA Polymerase (Invitrogen, São Paulo, Brazil). The samples were incubated in a thermocycler at 42°C for 45 min. The amplification conditions consisted of initial denaturation at 94°C for 2 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94°C for 30 sec, annealing at 54°C for 30 sec, and extension at 72°C for 45 sec. A final extension was performed at 72°C for 7 min and the samples were cooled to 4°C. The second reaction mixture consisted of 2.5 ml 10 X buffer, 4 ml dNTPs, 1.5 ml MgCl₂, 1 ml k15 (5'-ACC ATR RAT CAC TCC CCT GT-3') and k16 (5'-CAA GCA CCC TAT CAG GCA GT-3') primers, 12.5 ml DNase- and RNase-free ultrapure water, and 0.5 ml Platinum Taq DNA Polymerase (Invitrogen, Brazil).

The virus was genotyped by the restriction fragment length polymorphism (RFLP) technique using *Ava*II and *Rsa*I restriction enzymes. Positive and negative controls were included in all reactions [Hazari et al., 2004].

Statistical Analysis

The results were analyzed using the BioEstat 5.0 program [Ayres and Ayres Junior, 2008]. Chi-square test was used to compare frequencies between groups. Risk factors were estimated by odds ratios (OR) in univariate analysis. A level of significance of 95% was adopted.

RESULTS

During the period of this work the total number of patients who were on renal replacement therapy in the seven hemodialysis units participating in the study was 803 patients. Five patients were excluded from the study because they refused to participate in the study, totaling 798 patients who participated in the study. Of these 66% (526/798) were male, the mean age was 49 years, with ages between 18 and 88 years.

Of the 798 studied patients, 67 (8.4%) were found to be anti-HCV positive by ELISA, ranging from 4% to 14% according to the Center. The risk of anti-HCV positivity was significantly higher at center D compared to dialysis center B (Table 1). None of the new centers reported seroconversions during the study period.

The viral RNA was detected in 5.4% (43/798) of these 42 also had antibodies anti-HCV. One patient showed only the viral RNA without antibodies (Table 2). Regarding genotypes of HCV, the most common type was 1 genotype in 86.1% (37/43) of patients, type 2 was found in 11.6% (5/43) and type 3 in only 1 patient (2.3%). All patients with genotype 2 hemodialysis performed in the center E, as shown in Table 3.

Analysis of risk factors showed that the time on hemodialysis, renal transplantation and blood transfusion without screening for HCV (before November 1993) were associated with HCV positivity (Table 4). Regarding knowledge of the vesting period of HCV infection, 45% (30/67) of patients known to have acquired before the start of hemodialysis and 55% (37/67) already acquired in dialysis program. Of those who acquired the infection during hemodialysis, 73% (27/37) have more than 5 years of renal replacement therapy (Table 5).

DISCUSSION

When the hepatitis C virus beginning to be studied in dialysis units, the prevalence was very high [Karohl et al. 1995, Vanderborgh et al. 1995]. The screening of anti-HCV in blood donors and the adoption of specific measures for prevention and control of viral infections in the units were fundamental to the decrease in prevalence, however, the rates are much higher than the general population [Carneiro et al. 2005].

This study found a prevalence of 8.4% for anti-HCV, higher than that observed by dialysis Brazilian census of 2010, 5.8% [Sesso et al. 2010]. Prevalence of 8.4% was also observed in the city of Recife, Pernambuco [Melo et al. 2007], however, in hemodialysis units from various regions of Brazil prevalence was greater than these: 16.8% in the city of Tubarão, Santa Catarina [Baldessar et al. 2007], 16.4% in the State of Goiás [Carneiro et al. 2007] and 14.8% in Juiz de Fora, Minas Gerais [Leão et al. 2010]. Worldwide, lower rates were observed in Canada [Tu et al. 2009] and England [Ghafur et al. 2007], 5.4% and 3.3%, respectively, while higher prevalence was identified by Kalantar-Zadeh et al. 2007 in the United States (12%) and Khan et al 2011, Pakistan (29.2%).

Several studies point out that gaps in prevention and control of infections in hemodialysis unit explain geographical differences in the prevalence of hepatitis C [Agarwal et al. 2009, Thompson et al. 2009, Sauné et al. 2011]. Different prevalence were reported between the various dialysis units in the same region [Silva et al. 2006, Arenas et al. 2001, Medeiros et al. 2004]. A similar result was observed in this study (Table 1). Carneiro et al. 2007 found variations from 0 to 47.7% between the units studied. The main causes are related to inefficient use of measures of universal precautions for infection control [Santos et al. 2007, Medeiros et al 2004].

When compared the diagnostic methods, the viral RNA was detected in only 5.4% of patients (Table 2). One patient had viral RNA with Elisa nonreactive. HCV-specific antibodies in the absence of viral RNA were also detected by other authors [Dotta et al. 2003, Albuquerque et al. 2005]. Detectable viral RNA and anti-HCV negative was observed by Oliveira et al. 2009 and Li et al.2010. Ghafur et al. 2007 identified early viral RNA without HCV antibodies, which later seroconverted.

ELISA reagent with undetectable viral RNA could be due to the disappearance of viral RNA per total elimination, because the viruses are located in different tissues from the bloodstream because the viral load is below the threshold detected by PCR or because the viral load was swinging and viral RNA absent from the circulation at the time of collection

[Dotta et al. 2003]. The detection of viral RNA in the absence of antibody specific HCV may be related to immune window at the beginning of acute infection. However, you can also assign the state of immunosuppression in hemodialysis patients, with impaired production of circulating antibodies [Albuquerque et al. 2005]. The presence of virus in the absence of HCV-specific antibodies represents a major risk for the spread of the virus in the environment dialysis, whereas molecular biology tests are not routinely used for this population.

Genotype 1 was the most prevalent (86.1%) in this study (Table 3). Several Brazilian studies found similar results with prevalence of genotypes 1 and 3 [Freitas et. 2008, Silva et al. 2006, Amorim et al. 2010]. In contrast, the type 2 was the second most encountered in this study, all in the same hemodialysis unit. Farah et al. 2007, in southeastern Brazil, found similar results. In the general population of northern Brazil, genotype 1 is the most prevalent, followed by type 3 [Campiotto et al. 2005, Sawada et al 2011]. This genotype distribution may suggest nosocomial transmission in hemodialysis units. Rare genotypes for a given region can be imported and spread by nosocomial route.

Risk factors for acquisition of HCV, with statistical significance ($p < 0.05$) in this study were duration of dialysis, kidney transplantation and blood transfusion without prior screening for HCV (which occurred before 1993), as noted in Table 4. Duration of dialysis and blood transfusion before screening period for hepatitis C are conventionally considered the main risk factors for HCV infection in patients on hemodialysis, found in several studies [Leão et al. 2010, Carneiro et al. 2007, Sauné et al 2011]. As observed in this study (Table 5), the longer the treatment the higher the risk for contamination by HCV.

Renal transplantation was also strongly associated with HCV in several studies [Tu et al. 2009, Li e Wang 2010, Yábar e Zevallos 2009]. Botelho et al 2008 observed a significant association of anti-HCV positive subjects with renal transplants performed before 1994. Likewise, patients related in this study may have acquired HCV by blood transfusion, for nosocomial or contaminated donor.

Finally, the findings of this study emphasize the importance of control strategies for hepatitis C in hemodialysis. The molecular biology methods need to be deployed in hemodialysis units, at least on admission to subsidize measures of infection control.

Table 1. Seroprevalence of the anti-hepatitis C virus (HCV) antibody in the dialysis centers in the city of Belém, North Brazil.

Centers	Total	Anti-HCV	
		Positive (%)	Negative (%)
A	157	16 (10)	141 (90)
B	122	5 (4)	117 (96)
C	64	4 (6)	60 (94)
D	75	11 (14)	64 (86)
E	179	18 (10)	161 (90)
F	113	7 (6)	106 (94)
G	88	6 (7)	82 (93)
Total	798	67 (8,4)	731 (91,6)

χ^2 : 2:2 = 3.52 p=0,04 e 2:4 = 3.26 p=0,05

Table 2. Variations of HCV markers in hemodialysis patients in Belém, Pará- Brazil.

Anti-HCV	PCR VHC		Total
	Positive	Negative	
Positive	42 (62,7)	25 (37,3)	67
Negative	1 (0,1)	730 (99,9)	731
Total	43 (5,4)	755 (94,6)	798

G=224.25 p= 0,00

Table 3. Hepatitis C virus genotypes isolated from hemodialysis patients in the dialysis centers.

Centers	Total	Genotypes		
		1 (%)	2 (%)	3 (%)
A	9	9 (100,0)	-	-
B	2	2 (100,0)	-	-
C	3	3 (100,0)	-	-
D	5	5 (100,0)	-	-
E	15	9 (60,0)	5 (33,3)	1(6,7)
F	3	3 (100,0)	-	-
G	6	6 (100,0)	-	-
Total	43	37 (86)	5 (12)	1 (2)

Table 4. Risk factors associated with Hepatitis C virus (HCV) infection in hemodialysis patients.

Risk factor	Anti-HCV		OR (95% IC)	P valor
	Pos./total	(%)		
<u>Length of time on hemodialysis</u>				
< 1 year	5/185	(2.7)	-	
1 a 5 year	28/329	(8.5)	3.34 (1.27-8.82)	0.01
>5 years	34/250	(13.6)	4.89 (1.87-12.76)	0.00
<u>Transfusion of blood screened for anti-HCV</u>				
Yes	8/9	(88%)	98.98 (12.17-804.88)	0.00
No				
<u>Kidney transplantation</u>				
Yes	11/58	(19)	1.34 (1.40-5.81)	0.00
No	56/740	(7.6)		

Table 5. Period of seroconversion to anti-HCV related to duration of hemodialysis.

Length of time on hemodialysis	HCV infection		Total
	Before HD (%)	During HD (%)	
< 1 year	8 (89)	1 (11)	9
> 1 ó 5 years	15 (62)	9 (38)	24
> 5 years	7 (20)	27 (80)	34
Total	30	37	67

HD= Hemodialysis

G=7.19 p= 0,02

REFERENCES

- Agarwal SK, Dash SC, Gupta S, Pandey RM. 2009. Hepatitis C infection in haemodialysis: the no-isolation policy should not be generalized. *Nephron Clin Pract* 111: c328-c332.
- Albuquerque ACC, Coelho MRCD, Lopes EPA, Lemos MF, Moreira RC. 2005. Prevalence and risk factors of hepatitis c virus infection in hemodialysis patients from one center in Recife, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 100(5): 467-470.
- Amorim RMS, Raiol T, Trevizoli JE, Neves FAR, Martins CRF, Martins RMB. 2010. Hepatitis C virus genotypes in hemodialysis in the Federal District, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 52(1):57-60.
- Arenas MD, Muñoz C, Sánchez-Payá J, Jover R, Egea JJ, Gil MT, Martín F, Sarró F, Soriano A, Luna A, Olivares J, Reyes A, Muñoz Del Bustillo E, Del Pozo C, Valverde V, Perdiguero M, Araque A. 2001. Distribución de los genótipos del virus c em la población de hemodiálises de la provincia de Alicante. *Nefrología*, 6: 581-586.
- Ayres, M; Ayres Junior, M. *Bio Estat 5.0: aplicações estatísticas das ciências biológicas e médicas*, Belém: Sociedade Civil Mamirauá. MCT-CNPq, 2008.
- Baldessar MZ, Bettiol J, Foppa F, Oiveira LH. 2007. Hepatitis C risk factor for patients submitted to dialysis. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 11(1): 12-15.
- Botelho SM, Ferreira RC, Reis, NRS, Kozłowski AG, Carneiro MAS, Teles S A, Yoshida CFT, Martins RMB. 2008. Epidemiological aspects of hepatitis C virus infection among renal transplant recipients in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 103(5): 472-476.
- Campiotto S, Pinho JRR, Carrilho FJ, Da Silva LC, Souto FJD, Spinelli V, Pereira LMMB, Coelho HSM, Silva AO, Fonseca JC, Rosa H, Lacet CMC, Bernardini AP. 2005. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 38: 41-49.
- Carneiro MAS, Teles S A, Dias MA, Ferreira RC, Naghettine AV, Silva S A, Lampe E, Yoshida CFT, Martins RMB. 2005. Decline of hepatitis c infection in hemodialysis patients in Central Brazil: a ten years of surveillance. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100(4): 345-349.
- Carneiro MAS, Teles S.A, Lampe E, Espírito-Santo MP, Oliveira RG, Reis NRS, Yoshida CFT, Martins RMB. 2007. Molecular and epidemiological study on nosocomial transmission of HCV in hemodialysis patients in Brazil. *Journal of Medical Virology*. 9: 1325-1333.
- Dotta MA, Chequer H, Pereira JPM, Schmitt VM, Krug L, Saitovitch D. 2003. Métodos molecular e imunológico no diagnóstico de hepatite C em pacientes em hemodiálise. *J Bras Nefrol*. 25(2): 86-94.
- Fabrizi F, Martin P, Dixit V, Brezina M, Cole MJ, Vinson S, Mousa M, Gitnick G. 2000. Biological dynamics of viral load in hemodialysis patients, with hepatitis c virus. *American Journal of Kidney Diseases*, 35:122-129.
- Farah KP, Carmo RA, Antunes CMF, Serufo JC, Nobre Júnior VA, Castro LPF, Leite VHR, Silva RAP, Álvares MCB, Corrêa GO, Busek SCU, Lambertucci JR. 2007. Hepatitis C, HCV genotypes and hepatic siderosis in patients with chronic renal failure on haemodialysis in Brazil. *Nephrol Dial Transplant* 22: 2027-2031.
- Freitas SZ, da Cunha RV, Martins RM, Teles SA, Ibanhes ML, Motta-Castro AR. 2008. Prevalence, genotypes and risk factors associated with hepatitis C virus infection in hemodialysis patients in Campo Grande, MS, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 103(4):405-8.
- Ghafur A, Raza M, Labbett W, Chawla A, Smith C, Ngui SL, Davenport A, Geretti AM. 2007. Travel-associated acquisition of hepatitis C virus infection in patients receiving haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 22(9): 2640-2644.
- Hazari S, Acharya SK, Panda SK. 2004. Development and evolution of qualitative comparative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) for hepatitis C virus RNA in serum using transcribed thio-RNA as internal control. *J Virol Methods* 116:45-54.

- Kalantar-Zadeth K, Kilpatrick RD, Mcallister CJ Miller LG, Daar ES, Gjertson DW, Kopple, JD, Greenland S. 2007. Hepatitis c virus and death risk in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 18(5): 1584-1593.
- Karohl C, Manfro RC, Senger MB, Thomé FS, Gonçalves LFS, Rigatto M, Prompt CA. 1995. Prevalence of anti-hepatitis C virus in patients in chronic hemodialysis in Porto Alegre. *J Bras Nefrol.* 17(1): 40-46.
- Khan S, Attaullah S, Ali I, Ayaz S, Nasseemullah, Khan S N, Siraj S, Khan J. 2011. Rising burden of hepatitis C virus in hemodialysis patients. *Virology Journal* 8:438.
- Leão JR, Pace FH, Chebli JM. 2010. Infection by hepatitis C virus in patients on hemodialysis: prevalence and risk factors. *Arq Gastroenterol.* 47(1):28-34.
- Li H, Wang S. 2010. Hepatitis C viral infection in a chinese hemodialysis unit. *Chin Med J* 123(24): 3574-3577.
- de Almeida MK, Dos Santos KN, Fecury AA, de Oliveira CS, Freitas AS, Quaresma JA, Fuzii HT, Martins LC. 2012. Prevalence of viral hepatitis B and C in riverside communities of the Tucuruí Dam, Pará, Brazil *Journal of Medical Virology* 84 (12) 1907-1912.
- Medeiros MTGM, Lima JMC, Lima JWO, Campos HH, Medeiros MMC, Coelho Filho JM. 2004. Prevalence and associated factors to hepatitis C in hemodialysis patients in Brazil. *Rev Saúde Pública* 38(2): 187-93.
- Mello L de A, de Melo-Junior MR, de Albuquerque AC, Coelho MR. 2007. Hepatitis C serum prevalence in hemodialyzed patients. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 40: 290-294.
- Oliveira MLP, Castilho DD, Perone C, Oliveira AH, Espíndola T, Zocratto KBF, Cambraia RD, Teixeira R. 2009. Diagnosis of hepatitis C in hemodialysis patients with end-stage renal disease (ESRD): what is the best strategy?. *J Bras Nefrol* 31(2):154-162
- Santos MAM, Souto FJD. 2007. Infection by the hepatitis, c virus in chronic renal failure patients undergoing hemodialysis in Mato Grosso State, Central Brazil: a cohort study. *BMC Public Health* 7:32.
- Sauné K, Kamar N, Miédougé M, Weclawiak H, Dubois M, Izopet J, Rostaing L. 2011. Decreased prevalence and incidence of hcv markers in haemodialysis units: a multicentric French survey. *Nephrol Dial Transplant* 26(7): 2309-2316.
- Savey A, Simon F, Izopet J, Lepoutre A, Fabry J, Desenclos JC. 2005. A large nosocomial outbreak of hepatitis C virus infections at a hemodialysis center. *Infect Control Hosp Epidemiol* 26:752-760.
- Sawada L, Pinheiro AC, Locks D, Pimenta Ado S, Rezende PR, Crespo DM, Crescente JÂ, Lemos JA, Oliveira Filho AB. 2011. Distribution of hepatitis C virus genotypes among different exposure categories in the State of Pará, Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop.* 44(1):8-12.
- Sesso RC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Burdmann EA. 2011. 2010 Report of the Brazilian dialysis census. *J Bras Nefrol*; 33(4): 442-447.
- Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. 2005. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 5(9):558-67.
- Silva LK, Silva MB, Rodart IF, Lopes GB, Costa FQ, Melo ME, Gusmão E, Reis MG. 2006. Prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV genotypes of hemodialysis patients in Salvador, Northeastern Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 39(5):595-602.
- Tu AW, Buxton JA, Whitlock M, Djurdjev O, Chong M, Krajden M, Beaulieu M, Levin A. 2009. Prevalence and incidence of hepatitis C virus in hemodialysis patients in British Columbia: follow-up after a possible breach in hemodialysis machines. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 20: e19-e23.
- Vanderborcht BOM, Rouzere C, Ginuino CF, Maertens G, Van Heuverswyn H, Yoshida CFT. 1995. High prevalence of hepatitis c infection among brazilian hemodialysis patients in Rio de Janeiro: a one-year follow-up study. *Rev. Inst. de Med. Trop. São Paulo*, 37(1):75-79.

Yábar MV, Zevallos JC. 2009. Factores asociados a la infección por hepatitis C en casos incidentes en hemodiálisis crónica. *Rev gastroenterol Perú*; 29: 11-16.