

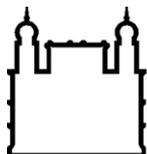
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado em Medicina Tropical

***HEPATITES B E C EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HIV, DOENTES RENAIIS
CRÔNICOS E COAGULOPATAS: EPIDEMIOLOGIA E AVALIAÇÃO DO
DESEMPENHO DE TESTES RÁPIDOS PARA INCREMENTO DE AÇÕES DE
PREVENÇÃO E DIAGNÓSTICO.***

JAKELINE RIBEIRO BARBOSA

Rio de Janeiro
Agosto de 2017



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

JAKELINE RIBEIRO BARBOSA

Hepatites B e C em indivíduos infectados pelo HIV, doentes renais crônicos e coagulopatas: epidemiologia e avaliação do desempenho de testes rápidos para incremento de ações de prevenção e diagnóstico.

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz
como parte dos requisitos para obtenção do título
de Doutor em Medicina Tropical

Orientadores: Prof. Dra. Lívia Melo Villar
Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares

RIO DE JANEIRO
Agosto de 2017

Barbosa, Jakeline Ribeiro.

Hepatites B e C em indivíduos infectados pelo HIV, doentes renais crônicos e coagulopatas: epidemiologia e avaliação do desempenho de testes rápidos para incremento de ações de prevenção e diagnóstico. / Jakeline Ribeiro Barbosa. - Rio de Janeiro, 2017.

163 f.; il.

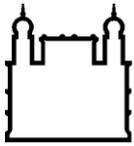
Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2017.

Orientadora: Lívia Melo Villar

Co-orientador: Jeová Keny Baima Colares.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Hepatite B. 2. Hepatite C. 3. Prevalência. 4. Diagnóstico. 5. Teste rápido. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

JAKELINE RIBEIRO BARBOSA

***HEPATITES B E C EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HIV, DOENTES
RENAIS CRÔNICOS E COAGULOPATAS: EPIDEMIOLOGIA E AVALIAÇÃO DO
DESEMPENHO DE TESTES RÁPIDOS PARA INCREMENTO DE AÇÕES DE
PREVENÇÃO E DIAGNÓSTICO.***

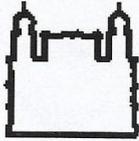
ORIENTADOR (ES): Prof. Dra. Lívia Melo Villar
Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares

Aprovada em: 18/08/2017

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Eduardo de Mello Volotão (Fiocruz-RJ-Brasil)
Prof. Dra. Claudia Esther Alicia Rocio Hassan (INCA- RJ - Brasil)
Prof. Dr. Jorge Paulo Strogoff de Matos (UFF-RJ-Brasil)
Prof. Dr. Estevão Portela Nunes (INI/Fiocruz-RJ-Brasil)
Prof. Dra. Danielle Malta Lima (Unifor-CE-Brasil)
Prof. Dra. Carmen Baur Vieira (Suplente/UFF-RJ-Brasil)
Prof. Dra. Luciane Almeida Amado Leon (Suplente/Fiocruz-RJ-Brasil)

Rio de Janeiro, 18 de agosto de 2017.



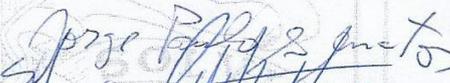
Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

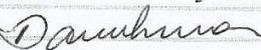
Ata da defesa de tese de doutorado em Medicina Tropical de **Jakeline Ribeiro Barbosa**, sob orientação do Dr^a. Livia Melo Villar e Dr. Jeová Keny Baima Colares. Ao décimo oitavo dia do mês de, realizou-se às treze horas, no Auditório Maria Deane/FIOCRUZ, o exame da tese de doutorado intitulada: **“Hepatites B e C em indivíduos infectados pelo HIV, insuficientes renais crônicos e coagulopatas: estudos de prevalência e avaliação do desempenho de testes rápidos para incremento de ações de prevenção e diagnóstico”** no programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências - área de concentração: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle, na linha de pesquisa: Diagnóstico de Doenças Infecciosas e Parasitárias A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr. Eduardo de Mello Volotão - IOC/FIOCRUZ (Presidente), Dr^a. Claudia Esther Alicia Rocio Hassan - INCA/RJ, Dr. Jorge Paulo Strogoff de Matos - UFF/RJ, Dr. Estevão Portela Nunes - INI/FIOCRUZ, Dr. Danielle Malta Lima - UNIFOR/CE e como suplentes: Dr^a. Carmen Baur Vieira - UFF/RJ e Dr^a. Luciane Almeida Amado Leon - IOC/FIOCRUZ. Após arguir a candidata e considerando que a mesma demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela APROVAÇÃO da defesa da tese de doutorado. De acordo com o regulamento do Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Doutora em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, a Coordenadora do Programa, Dr^a. Martha Cecilia Suárez Mutis, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 18 de agosto de 2017 .

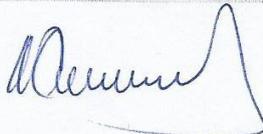
Dr. Eduardo de Mello Volotão (Presidente da Banca): 

Dr^a. Claudia Esther Alicia Rocio Hassan (Membro da Banca): 

Dr. Jorge Paulo Strogoff de Matos (Membro da Banca): 

Dr. Estevão Portela Nunes (Membro da Banca): 

Dr. Danielle Malta Lima (Membro da Banca): 

Dr^a. Martha Cecilia Suárez Mutis (Coordenadora do Programa): 

Av. Brasil, 4365 Manguinhos Rio de Janeiro RJ Brasil CEP: 21040-360
Contatos: (21) 2562-1201 / 2562-1299 E-mail: atendimento@ioc.fiocruz.br Site: www.fiocruz.br/iocensino

À toda minha família pelo carinho, incentivo e apoio em todos os momentos importantes da minha vida.

Sem vocês nenhuma conquista valeria a pena.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante em minha vida e por me dar forças para vencer todos os desafios propostos

Aos meus pais e irmãos por me apoiarem em todas as minhas decisões e estarem sempre torcendo por mim.

Aos meus amores, marido Márcio Henrique de Oliveira Garcia e filho Miguel Barbosa Garcia, que sofreram com minha ausência e falta de atenção em prol da realização desta pesquisa. Meu filho, essa conquista foi para você que serviu como fonte de inspiração e determinação na conclusão desse trabalho.

À Dra. Livia Melo Villar, pela orientação, parceria, apoio, paciência, amizade e conhecimentos compartilhados. Serei eternamente grata por tudo que fez por mim durante esses 4 anos. Certamente nossa parceria não acabará por aqui.

À FIOCRUZ, Pós-graduação em Medicina tropical, por meio do Doutorado Interinstitucional (DINTER) com a Universidade Federal do Ceará (UFC), Pós-graduação em Patologia, pela oportunidade e apoio na realização desta pesquisa. Em especial ao Dr. Filipe Anibal e a Dra. Cristiane Frota por toda atenção e dedicação ao DINTER.

À UFC, Programa de Pós-graduação em Patologia, e seus professores pela confiança, oportunidade e suporte técnico para a realização desse curso.

Ao Ministério da Educação pelo auxílio financeiro através da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

Aos colegas e profissionais da equipe do Laboratório de Hepatites Virais (LAHEP), especialmente a Dra. Elisabeth Lampe, chefe do LAHEP, mesmo a distância, me deram todo o suporte técnico e apoio necessário na realização dos testes e experimentos: Juliana Miguel, Elisangela Ferreira, Islene Azevedo, Geane Flores, Helena Medina, Vanessa Cortes, Moyra Portilho, Ana Carolina Fonseca, Letícia Scalioni e Vanessa Marques. Agradeço pelas calorosas acolhidas e apoio em todos os períodos que estive no LAHEP/ Fiocruz.

Aos professores, Dr. Jeová Keny Baima Colares e Dra. Danielle Malta Lima, pela orientação, apoio e acolhida no Núcleo de Atenção Médico Integrado (NAMI/UNIFOR). Onde pude contar também com a ajuda de toda a equipe do Laboratório de Pesquisa de Bioagentes Patogênicos, Carolina Pimentel de Azevedo, Nathalia Souza, Camila de Lizier Mesquita, Geysa Maria Nogueira Farias, Paulo Lage, Antônia Barbosa de Oliveira, Maria Marion Borges Ático, para recrutar os participantes e processar as amostras de sangue.

Às instituições parceiras que ajudaram na realização deste estudo, Núcleo de Atenção Médico Integrado (NAMI/UNIFOR), Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN-CE), GRUPO PRONEFRON, Clínica de doenças renais-RJ (CDR), Instituto de Nefrologia de Queimados-RJ (INQUE), Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (UFRJ) e Hospital Universitário Gaffrée Guinle (UNIRIO).

Aos colegas do DINTER, Aline Fievez, Camila Oliveira, Cristianne Bezerra, Cynara Parente, Emília Tomé, Fabrício Bezerra, Fernanda Capelo, Juliana Montezuma, Luiz Carlos Pinto, Roberta Luiz e Weberty Figueiredo, pela adorável convivência, amizade, apoio, ensinamentos e aprendizado compartilhado em sala de aula e, principalmente, fora dela. Foram muitos desafios ao longo desses 4 anos, certamente o fato de estarmos juntos me ajudou na adaptação em Fortaleza, no desenvolvimento e conclusão do doutorado e, no maior deles, a chegada do Miguel e o exercício da maternidade durante o curso. Em especial, agradeço à Cristianne Bezerra, que esteve presente sempre quando precisei de apoio, incentivo, conselho e amizade.

Aos meus amigos e familiares que em diversas vezes foram privados da minha presença e atenção em benefício da realização deste trabalho.

À sogra e cunhados pelo apoio durante o doutorado e ajuda com o Miguel nos momentos que não pude dar atenção e que estava tão distante da minha família. A vocês, minha eterna gratidão.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram e torceram pela realização deste trabalho, o meu reconhecimento e sinceros agradecimentos.

E por fim, agradeço aos participantes que voluntariamente e sem nenhum tipo de gratificação, aceitaram participar deste estudo e me deram grandes lições de vida.

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”

Albert Einstein

RESUMO

As infecções por HBV e HCV são prevalentes em todo o mundo, principalmente em populações mais vulneráveis. Os testes rápidos (TRs) são ferramentas úteis para triagem de indivíduos infectados em comparação ao teste padrão, dado a facilidade de uso, a rapidez, e altas probabilidades de correta classificação quando há presença de infecção pelo HBV ou HCV. O objetivo foi avaliar a prevalência e o desempenho de testes rápidos para detecção de marcadores da infecção pelos vírus das hepatites B e C em indivíduos com maior vulnerabilidade para aquisição destas infecções. O total de 699 amostras de sangue total e soro foram utilizadas, compostos pelo Grupo I (GI) com 362 indivíduos HIV-positivo, o Grupo II (GII) com 286 DRC em hemodiálise e Grupo III (GIII) com 51 Coagulopatas hereditário, coletados de agosto de 2012 a março de 2015 no Rio de Janeiro-RJ e Fortaleza-CE. Nestes grupos, mais de 66% eram homens, faixa etária de 26-35 anos em GI e GIII, e 56-65 anos em GII. A maioria dos pacientes tinha mais de 8 anos de escolaridade, com renda familiar entre 100-400 dólares. A prevalência do marcador HBsAg foi de 3,9%, 7% e 3,9%, o anti-HBc total foi de 28,6%, 55,9% e 31,4% e o anti-HCV foi 1,3%, 12,6% e 47% para GI, GII e GIII, respectivamente. Esses resultados mostraram alta prevalência de infecção por HBV e HCV nos GII e GIII em relação ao GI e à população em geral. As amostras foram testadas pelos TRs para HBsAg [Víkia HBsAg (BioMérieux, França) e Wama Imuno-Rápido HBsAg (WAMA Diagnóstica, Brasil)] e anti-HCV [Wama Imuno-Rápido anti-HCV (WAMA Diagnóstica, Brasil), Doles HCV teste rápido (DOLES Reagentes, Brasil) e/ou Bioeasy HCV Rapid Test (BIOEASY Diagnóstica, Brasil)], os quais tiveram os resultados comparados ao do teste padrão (ELISA). A análise de desempenho de testes rápidos para detecção do HBsAg (Víkia HBsAg[®] e Wama Imuno-Rápido HBsAg[®]) mostraram altas sensibilidade (>92%) e especificidade (>99%) com soro e sangue total. No entanto, encontramos uma menor sensibilidade (80%) e concordância (72,3%) do TR Wama Imuno-Rápido HBsAg quando as amostras com HBV DNA detectado foram consideradas como verdadeiro-positivo. Os TRs para detecção de anti-HCV (Wama Imuno-rápido anti-HCV[®] e Bioeasy HCV Rapid Test[®]) revelaram sensibilidades e especificidades acima de 92,0% e valores de Kappa acima de 89,0%. A carga viral do HIV foi maior entre os resultados discordantes do TR anti-HCV. Já a avaliação de desempenho dos TRs para detecção de HBsAg (Víkia HBsAg[®] e Wama Imuno-Rápido HBsAg[®]) apresentou sensibilidade e especificidade acima de 85%, com concordância maior que 90% em relação ao ELISA. Enquanto os TRs anti-HCV (Doles HCV teste rápido[®] e Wama Imuno-Rápido anti-HCV[®]) apresentaram maior sensibilidade e concordância (> 89%) em relação ao ELISA quando utilizaram amostras de soro e sangue total de indivíduos com DRC do que dos coagulopatas. Conclui-se que uma alta prevalência de HBV e HCV foi encontrada nesses três grupos específicos em comparação com a população em geral. Os TRs demonstraram bom desempenho para os grupos avaliados, mostrando a utilidade desses ensaios nessas populações, indicando baixa interferência dessas condições clínicas no desempenho desses ensaios.

Palavras-chaves: Hepatite B, Hepatite C, Prevalência, Diagnóstico, Teste rápido.

ABSTRACT

HBV and HCV infections are prevalent worldwide, especially in the most vulnerable populations. Rapid tests (RTs) are useful tools for screening infected individuals in comparison to the standard test, given the ease of use, speed, and high probability of correct classification when there is presence of HBV or HCV infection. The objective was to evaluate the prevalence and performance of rapid tests for the detection of markers of hepatitis B and C virus infection in individuals with higher vulnerability to the acquisition of these infections. A total of 699 whole blood and serum samples were used. Group I (GI) with 362 HIV-positive individuals, Group II (GII) with 286 CKD on hemodialysis and Group III (GIII) with 51 hereditary Coagulopath, collected from August 2012 to March 2015 in Rio de Janeiro- RJ and Fortaleza-CE. In these groups, more than 66% were men, age range of 26-35 years in GI and GIII, and 56-65 years in GII. Most patients had more than 8 years of schooling, with family income between \$ 100-400. The prevalence of the HBsAg marker was 3.9%, 7% and 3.9%, the total anti-HBc was 28.6%, 55.9% and 31.4% and the anti-HCV was 1.3 %, 12.6% and 47% for GI, GII and GIII, respectively. These results showed a high prevalence of HBV and HCV infection in GII and GIII in relation to GI and the general population. The samples were tested by RTs for HBsAg [Vikia HBsAg (BioMérieux, France) and Wama Immuno-Rapid HBsAg (WAMA Diagnostica, Brazil)] and anti-HCV [Wama Immuno-Rápido anti-HCV (WAMA Diagnostica, Brazil), Doles HCV teste rápido (DOLES Reagentes, Brazil) and/or Bioeasy HCV Rapid Test (BIOEASY Diagnostica, Brazil), which had the results compared to the standard ELISA. Performance analysis of rapid tests for HBsAg detection (Vikia HBsAg[®] and Wama Immuno-Rápido HBsAg[®]) showed high sensitivity (> 92%) and specificity (> 99%) with serum and whole blood. However, we found a lower sensitivity (80%) and concordance (72.3%) of the Wama RT Immuno-Rápido HBsAg when samples with HBV DNA detected were considered to be true-positive. RTs for anti-HCV detection (Wama Immuno-rapid anti-HCV[®] and Bioeasy HCV Rapid Test[®]) revealed sensitivities and specificities above 92.0% and Kappa values above 89.0%. HIV viral load was higher among the discordant results of anti-HCV RT. On the other hand, the performance evaluation of RTs for detection of HBsAg (Vikia HBsAg[®] and Wama Immuno-Rapid HBsAg[®]) showed sensitivity and specificity above 85%, with concordance greater than 90% in relation to ELISA. While anti-HCV RTs (Doles HCV teste rápido and Wama Immuno-Rápido anti-HCV) were more sensitive and concordant (> 89%) than ELISA when using serum and whole blood samples from individuals with CKD two coagulopath. It was concluded that a high prevalence of HBV and HCV was found in these three specific groups compared to the general population. The RTs demonstrated good performance for the groups evaluated, showing the usefulness of these tests in these populations, indicating low interference of these clinical conditions in the performance of these tests.

Key-Words: Hepatitis B, Hepatitis C, Prevalence, Diagnosis, Rapid Test

ÍNDICE

RESUMO	X
ABSTRACT	XI
APRESENTAÇÃO	XVIII
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 HEPATITE B.....	2
1.1.1 Histórico.....	2
1.1.2 Estrutura e Genoma Viral.....	3
1.1.3 Replicação viral.....	7
1.1.4 Formas de Transmissão.....	8
1.1.5 Epidemiologia.....	9
1.1.6 Aspectos clínicos.....	13
1.1.7 Diagnóstico.....	15
1.1.8 Prevenção.....	23
1.2 HEPATITE C.....	24
1.2.1 Histórico.....	24
1.2.2 Estrutura e Genoma Viral.....	24
1.2.3 Replicação viral.....	27
1.2.4 Formas de Transmissão.....	29
1.2.5 Epidemiologia	30
1.2.6 Aspectos clínicos.....	32
1.2.7 Diagnóstico.....	33
1.2.8 Prevenção.....	40
1.3 Populações vulneráveis às infecções pelo HBV e HCV.....	41
1.3.1 Coinfecções: HIV/HBV e HIV/HCV.....	42
1.3.2 Portadores de doença renal crônica (DRC) em hemodiálise e as infecções com HBV e HCV.....	45
1.3.3 Portadores de coagulopatia (hemofilia e Doença de Von Willebrand) e as infecções com HBV e HCV.....	48
2 JUSTIFICATIVA	52
3 OBJETIVOS	54
3.1 Objetivo Geral	54
3.2 Objetivos Específicos	54
4 RESULTADOS	55

4.1	Artigo 1: Barbosa JR, Bezerra CS, Carvalho-Costa FA, Azevedo CP, Flores GL, Colares JKB, Lima DM, Lampe E, Villar LM. Cross sectional study to determine the prevalence of hepatitis B and C virus infection in high risk groups in northwest region of Brazil. <i>Int J Environ Res Public Health</i> . 2017;14(7):793.....	55
4.2	Artigo 2: Barbosa JR, Colares JKB, Flores GL, Cortes VF, Miguel JC, Portilho MM, Marques V, Potsch D, Brandão-Mello C, Amendola-Pires MM, Pilotto JH, Lima DM, Lampe E, Villar LM. Performance of rapid tests for detection of hepatitis B and C markers among HIV infected patients. <i>J Virol Methods</i> . 2017; 248:244-249.....	69
4.3	Artigo 3: Barbosa JR, Cortes VF, Portilho MM, Miguel JC, Marques VA, Bezerra CS, Souza NV, Lima DM, Colares JKB, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, Villar LM. Performance of point of care assays for hepatitis B and C viruses in chronic Kidney Disease patients. <i>J Clin Pathol</i> . 2018; 0:1–6.....	76
5	DISCUSSÃO	83
5.1	Prevalência de infecção do vírus da hepatite B e C em grupos de alto risco em Fortaleza-CE.....	83
5.2	Desempenho dos testes rápidos para detecção de HBsAg e anti-HCV em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV).....	89
5.3	Desempenho dos testes rápidos para detecção do HBsAg e anti-HCV em indivíduos doentes renais crônicos.....	93
6	CONCLUSÕES	98
7	RECOMENDAÇÕES	100
8	PERSPECTIVAS	102
9	LIMITAÇÕES	103
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
11	ANEXOS	133
11.1	Anexo1: Aprovação do Comitê de Ética.....	133
12	APÊNDICES	140
12.1	Apêndice 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	140
12.2	Apêndice 2: Questionário Sócio-comportamental.....	142

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação da estrutura do genoma do HBV	4
Figura 2: Estrutura completa do vírus da Hepatite B	6
Figura 3: Partículas completas e incompletas do HBV	6
Figura 4: Ciclo de replicação do Vírus da Hepatite B	8
Figura 5: Taxa de infecção crônica pelo vírus da hepatite B e distribuição geográfica dos principais genótipos do vírus no mundo	11
Figura 6: Distribuição dos genótipos do HBV nas regiões brasileiras	13
Figura 7: Representação esquemática do teste rápido	21
Figura 8: Fluxograma de triagem da infecção pelo vírus da hepatite B por meio de testes rápidos	22
Figura 9: Estrutura do Vírus da Hepatite C	25
Figura 10: Estrutura do genoma e funções das proteínas do HCV	26
Figura 11: Ciclo de replicação do Vírus da Hepatite C.	29
Figura 12: Distribuição dos genótipos do HCV nas regiões brasileiras	32
Figura 13: Representação esquemática do teste rápido de fluxo lateral	39
Figura 14: Fluxograma de triagem da infecção pelo vírus da hepatite C por meio de testes rápidos	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Interpretação dos resultados sorológicos para infecção com vírus da hepatite B	17
--	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ALT – alanina aminotransferase

Anti-HBc IgG -- Anticorpos contra o HBcAg do tipo IgG

anti-HBc IgM – Anticorpos contra o HBcAg do tipo IgM

Anti-HBc total – Anticorpo Anti-HBc IgG + Anti-HBc IgM

Anti-HBe -- Anticorpo contra antígeno “e” do vírus da hepatite B

Anti-HBs – Anticorpo contra o HBsAg

Anti-HCV -- Anticorpo contra o vírus da hepatite C

AST – aspartato aminotransferase

ccDNA -- Círculo fechado de DNA

CLIA -- do termo em inglês *ChemiLuminescent Immuno Assay* - imunoensaio quimioluminescente

CMIA -- do termo em inglês *Chemiluminescent Magnetic Immunoassay* - imunoensaio de micropartículas quimioluminescentes

DNA -- Ácido desoxirribonucleico

DO/CO – Razão de densidade ótica e Cut off

DVW - Doença de Von Willebrand

EASL – do termo em inglês *European Association for the Study of the Liver* - Associação europeia para o estudo do fígado

ECLIA -- do termo em inglês *Electrochemiluminescence assay* - imunoensaio por electroquimioluminescência

ELISA – do termo em inglês “*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*”- Ensaio Imunoenzimático

FIOCRUZ -- Fundação Oswaldo Cruz

FN -- Falso Negativo

FP -- Falso Positivo

HAV – do termo em inglês *hepatitis A virus* - Vírus da Hepatite A

HBsAg -- Antígeno de superfície do vírus da hepatite B

HBV -- do termo em inglês *hepatitis B virus* - Vírus da Hepatite B

HCV -- do termo em inglês *hepatitis C virus* - Vírus da Hepatite C

HDV -- do termo em inglês *hepatitis D virus* - Vírus da Hepatite D

HEV – do termo em inglês *hepatitis E virus* - Vírus da Hepatite E

HIV -- Vírus da Imunodeficiência Humana

HSH -- homens que fazem sexo com homens
IOC -- Instituto Oswaldo Cruz
DRC –Doente Renal Crônico
IST – Infecções Sexualmente transmissíveis
LAHEP -- Laboratório de Hepatites Virais
LiPA- do termo em inglês “*Line Probe Assay*” - Ensaio de sonda de linha
MEIA -- do termo em inglês *Microparticle Enzyme Immuno Assay* -
Ensaio imunoenzimático de micropartículas
OMS -- Organização Mundial da Saúde
ORFs - do termo em inglês *Open Reading Frame*- Fases abertas de leitura
PCDT -- Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas
PCR- do termo em inglês *Polimerase Chain Reaction* - Reação em cadeia de
polimerase
pgRNA - RNA pré-genômico
RFLP – do termo em inglês *Restriction Fragment Length Polymorphism* -
Polimorfismo no Comprimento do Fragmento de Restrição
RIA -- do termo em inglês *Radio immunoassay* - Radioimunoensaio
RNA -- Ácido ribonucleico
RVS – Resposta Viroológica Sustentada
Sinan -- Sistema de Informação de Agravos de Notificação
TARV – Terapia Antirretroviral
RTs – Testes Rápidos
UFC – Universidade Federal do Ceará
EUA – Estados Unidos da América
VPN -- Valor Preditivo Negativo
VPP -- Valor Preditivo Positivo
WHO – *World Health Organization*

APRESENTAÇÃO

A presente tese de doutorado originou-se do Doutorado Interinstitucional (Dinter) em Medicina Tropical, promovido pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) em colaboração com a Universidade Federal do Ceará (UFC). Esse curso, iniciado em maio de 2013, foi fruto da parceria entre o Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do IOC e o Programa de Pós-graduação em Patologia da UFC, o qual contou com apoio e fomento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), sob a coordenação dos professores Filipe Aníbal (IOC/RJ) e Cristiane Frota (UFC).

Esse programa de cooperação visou favorecer atividades de pesquisa de alta relevância para a formação e posterior nucleação de massa crítica de docentes e pesquisadores no Nordeste Brasileiro, ainda carente de programas de pós-graduação com linhas de pesquisa em doenças infecciosas e parasitárias. Por isso, considerando a expertise do Programa de Medicina Tropical do IOC, a proposta do Dinter foi na área de concentração em doenças infecciosas e parasitárias.

Os projetos de pesquisa desenvolvidos nesse Dinter foram sobre as temáticas de leishmaniose, micobacteriose, doença de Chagas, dengue e hepatites virais. Sendo cada tese orientada por dois pesquisadores, um do IOC/Fiocruz e outro da UFC. Esse formato possibilitou os intercâmbios científico e técnico entre as instituições parceiras, contribuindo com a qualidade das teses e disseminação do conhecimento científico e tecnológico.

A escolha do tema da presente tese, assim como a definição do orientador, ocorreu durante a disciplina de virologia, ofertada pela professora Lívia Melo Villar. Foi então, em conversa com a professora sobre sua linha e projetos de pesquisa, que ela me propôs desenvolver minha tese sobre hepatites virais, especificamente sobre a prevalência e avaliação do desempenho de testes rápidos para detecção de marcadores da infecção pelos vírus das hepatites B (HBV) e C (HCV) em indivíduos com maior vulnerabilidade para aquisição dessas infecções, como os indivíduos infectados pelo HIV, doentes renais crônicos e coagulopatas.

Diante desse convite, aceitei rapidamente a sugestão do tema para a tese, assim como, ser orientada da professora Lívia. Por entender que, o teste rápido é uma importante ferramenta de triagem em comparação ao teste padrão, dado a facilidade de uso, a rapidez, e altas probabilidades de correta classificação quando

há presença de infecção pelo HBV ou HCV. Inclusive, alguns estudos identificaram bom desempenho dos testes rápidos para hepatite B e C na população em geral mas ainda existem poucos dados do desempenho desses testes em alguns grupos populacionais mais vulneráveis.

Dessa forma, para o desenvolvimento da presente pesquisa, esses três grupos populacionais foram incluídos e recrutados em serviços de saúde do estado do Rio de Janeiro e do Ceará, sendo o grupo de pacientes HIV oriundo de ambulatórios de HIV/Aids da cidade do Rio de Janeiro-RJ e Fortaleza-CE; o grupo de pacientes doentes renais crônicos (em tratamento de hemodiálise) oriundos de três clínicas privadas de diálise, que atendem pacientes do sistema público e privado de saúde, localizadas nas cidades do Rio de Janeiro-RJ, Queimados-RJ e Fortaleza-CE; o grupo de pacientes portadores de coagulopatia hereditária (hemofilia ou doença de Von Willebrand) foram oriundos do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, localizado em Fortaleza-CE.

Como fruto dessa pesquisa, foi produzido e publicado três artigos originais em revistas científicas internacionais, conforme referências listadas abaixo:

- Barbosa JR et al. Cross sectional study to determine the prevalence of hepatitis B and C virus infection in high risk groups in northwest region of Brazil. *Int J Environ Res Public Health*. 2017; 14(7):793.
- Barbosa JR et al. Performance of rapid tests for detection of hepatitis B and C markers among HIV infected patients. *J Virol Methods*. 2017; 248:244-249.
- Barbosa JR et al. Performance of point of care assays for hepatitis B and C viruses in chronic Kidney Disease patients. *J Clin Pathol*. 2018; 0:1–6.

1 INTRODUÇÃO

Hepatite é a definição usada para qualquer inflamação do fígado, que pode ser causada por diferentes agentes, tais como medicamentos, doenças autoimunes, metabólicas e genéticas, álcool, substâncias tóxicas e vírus (WHO, 2016). As hepatites virais podem ser causadas por cinco agentes etiológicos: Vírus da Hepatite A (HAV), Vírus da Hepatite B (HBV), Vírus da Hepatite C (HCV), Vírus da Hepatite D ou Delta (HDV) e Vírus da Hepatite E (HEV) (Howard & Melnick, 1993).

As hepatites virais são divididas em dois grupos, conforme seu modo de transmissão, sendo o HAV e HEV de transmissão entérica, que não evoluem para cronicidade, e as hepatites B, C e D de transmissão parenteral, que têm a capacidade de evoluir para doença crônica, podendo levar ao desenvolvimento de cirrose (formação excessiva de tecido conjuntivo seguido de endurecimento e contração) e hepatocarcinoma (tumor maligno constituído de células epiteliais do fígado) (Howard & Melnick, 1993).

As hepatites B e C são responsáveis por 96% de todas as mortes causadas por hepatites virais. São doenças silenciosas que nem sempre apresentam sintomas, mas quando aparecem, seja em sua fase aguda ou crônica, podem provocar casos graves da doença. Por isso, é importante o acesso a testes diagnósticos e tratamento precoce, a fim de evitar a progressão da doença para casos crônicos e danos mais graves ao fígado, como cirrose e câncer (WHO, 2017d).

As hepatites B e C representam grande desafio de saúde pública que requer uma resposta urgente. Apesar de existir medicamentos e/ou vacina disponível, cerca de 325 milhões de pessoas em todo o mundo estão vivendo com a infecção pelo HBV ou HCV (WHO, 2017d).

Alguns grupos populacionais são considerados em situações de maior vulnerabilidade à infecção pelo HBV e HCV, tais como: gestantes; trabalhadores da saúde; portadores de IST; homossexuais; comunicantes sexuais de portadores de hepatite B; coletadores de lixo; pessoas reclusas; populações indígenas; manicures/pedicures; potenciais receptores de múltiplas transfusões de sangue ou politransfundidos; profissionais do sexo; usuário de drogas injetáveis, inalada e pipadas e caminhoneiros (Brasil, 2010; Brasil, 2016).

1.1 HEPATITE B

1.1.1 *Histórico*

Os vírus causadores das hepatites foram descobertos somente no século XX, mas o conhecimento da existência dessa enfermidade é mais antigo, pois relatos da existência de icterícia, principal manifestação clínica das hepatites, são historicamente encontrados na literatura desde 300 a 400 anos antes de Cristo, que desde então já suspeitavam que a icterícia fosse provavelmente de origem infecciosa e o problema poderia estar no fígado (Hollinger, 1994; Fonseca, 2010).

Existem relatos de ocorrência de surtos de icterícia em várias regiões do mundo, principalmente nas regiões de guerra como foi no caso da guerra da Sucessão Austríaca (1743), de Napoleão no Egito (1798), Franco-Prussiana (1870), Secessão Americana (1861-1865) e primeira Guerra Mundial (1917-1919). Além disso, em 1885 na Alemanha dois surtos de icterícia foram relatados e relacionados à vacinação contra varíola, quando pela primeira vez a existência de uma forma de hepatite de transmissão parenteral foi relatada. Vários outros casos de surtos também foram referidos em outros países (Fonseca, 2010; Gerlich, 2013).

Apesar dos pesquisadores suspeitarem na época que os surtos de icterícia fossem causados por vírus, a incapacidade de isolar o agente prejudicava o avanço das pesquisas (MacCallum e Bauer, 1944). MacCallum em 1947 definiu o termo hepatite B para este agente etiológico causador de icterícia (MacCallum, 1947). A partir de então, as denominações hepatite A, para se referir à hepatite infecciosa, e hepatite B, para se referir à hepatite por soro, começaram a ser utilizadas (Block et al., 2016).

Apesar da via de transmissão da hepatite B ter sido descoberta, a doença continuou sendo transmitida por doações de sangue devido à ausência de exames para testagem das amostras doadas (Lok, 2016). Foi então, que Blumberg e colaboradores em 1965, descobriram um novo antígeno no soro de um aborígine australiano e o nomearam como antígeno Austrália (Au). Posteriormente demonstraram ausência do antígeno na população saudável dos Estados Unidos da América (EUA), mas alta frequência em pacientes com leucemia, levantando a hipótese desse antígeno ser um marcador dessa doença (Blumberg et al., 1965).

Um longo caminho foi percorrido até que o antígeno Austrália pudesse ser associado à hepatite B (Lok, 2016). Em 1970, Dane e colaboradores, visualizaram pela primeira vez a partícula viral íntegra do HBV em soros positivos para o Au, com o auxílio da microscopia eletrônica. Diante disso, esses pesquisadores sugeriram que os antígenos do HBV se agrupavam formando partículas infecciosas e não infecciosas (Dane et al., 1970). O conhecimento da partícula viral permitiu que o antígeno Austrália fosse identificado como o antígeno de superfície do HBV (HBsAg) (Block et al., 2016). Posteriormente, após degradação da partícula de Dane com detergentes, foi encontrado um componente interno, o antígeno do Core ou HBcAg, que reagia com anticorpos específicos (Almeida et al., 1971). Em 1972, um novo antígeno associado à hepatite B foi descrito e nomeado antígeno “e” do HBV (HBeAg) (Lok, 2016).

Portanto, a partir da descoberta do antígeno Austrália, rápidos avanços no estudo da hepatite B foram possíveis. Principalmente no que se refere a produção de testes de diagnósticos, que tornaram as transfusões sanguíneas mais seguras e permitiram conhecer a extensão da infecção pelo HBV no mundo (Gerlich, 2013; Block et al., 2016).

1.1.2 Estrutura e Genoma Viral

O HBV pertence à família *Hepadnaviridae*, que tem dois gêneros: *Avihepadnavirus* que infectam aves; e *Orthohepadnavirus* que infectam os mamíferos (Littlejohn et al., 2016; ICTV, 2017).

O HBV possui tropismo pelas células hepáticas, o vírus é envelopado, mede aproximadamente 42 nm de diâmetro e o genoma é constituído de uma molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) de fita parcialmente dupla, com cerca de 3200 pares de base (pb) (Gerlich et al., 2013).

O HBV possui um dos menores genomas entre os vírus que infectam o homem. Seu genoma viral possui quatro fases/regiões abertas de leitura (*Open Reading Frame*- ORFs), responsáveis pela codificação e síntese das proteínas do envelope (pré-S e S), do core (pré-core e core), da polimerase (P) e da proteína regulatória X. A tradução do produto da ORF que codifica a proteína de envelope pode produzir as três formas dessa proteína (pré-S1, pré-S2 e S). Essas três formas da proteína de envelope dão origem ao antígeno “s” do HBV (HBsAg). A

ORF da proteína de capsídeo pode ser traduzida tanto na região Pré-Core (PréC) quanto na região do capsídeo (ou core), que sintetizam duas proteínas: o HBcAg que é uma proteína estrutural do capsídeo e o HBeAg que é um antígeno solúvel não estrutural associado a infecciosidade (Figura 1). Esses antígenos induzem a produção de anticorpos, anti-HBc e anti-HBe, que podem ser detectados no soro de indivíduos infectados (Kao, 2011; Busch & Thimme, 2014; Caligiuri et al., 2016).

A fita mais longa é complementar ao RNA mensageiro e por convenção possui polaridade negativa. A fita menor é denominada de positiva e possui uma região de fita simples, a posição da extremidade 5' terminal é fixa enquanto a porção 3' terminal tem tamanho variável, ou seja, o comprimento da fita positiva é variado, correspondendo entre 50 a 90% do comprimento da fita complementar. Observa-se uma pequena sequência de 11 nucleotídeos próxima às extremidades 5' de ambas as fitas, que são diretamente repetidas e por isso chamadas de *Direct Repeats* (DR1 e DR2), importantes para a iniciação da replicação viral (Figura 1) (Kao, 2011; Zhang & Cao, 2011; Tong & Reville, 2016).

O gene P é o maior gene do HBV e codifica a enzima com atividade de DNA polimerase, transcriptase reversa, e ribonuclease que está envolvida na síntese de DNA. O gene X codifica o HBxAg que estimula a transcrição e replicação viral, além de mostrar-se eficiente em ativar as respostas imunes celular e humoral. O HBxAg também está relacionado com a regulação do ciclo celular, ativação das vias de sinalização, modulação da apoptose viral e inibição do reparo do DNA (Zhang & Cao, 2011; Kim et al., 2016).

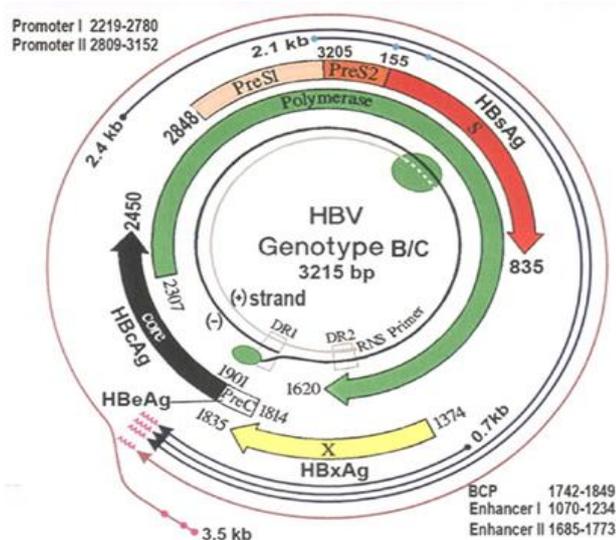


Figura 1: Representação da estrutura do genoma do HBV
(Fonte: Zhang & Cao, 2011)

O antígeno de superfície do HBV (HBsAg) apresenta alta variabilidade, possibilitando a classificação das variantes antigênicas do HBV em nove subtipos diferentes: ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrq- e adrq+. As bases genômicas dos determinantes antigênicos do HBsAg foram elucidadas pelo sequenciamento do gene S (Albuquerque et al., 2016; Tong & Revill, 2016).

Posteriormente as variantes do HBV foram classificadas em dez genótipos, denominados em ordem alfabética (A-J), que diferem na sequência nucleotídica do genoma completo. Enquanto os subgenótipos são descritos pela nomenclatura numérica (1, 2, 3, 4 e 5) (Lin & Kao, 2011; Tong & Revill, 2016).

Durante a multiplicação viral, o HBV apresenta um mecanismo que permite a produção de três tipos de partículas virais: completas, esféricas e tubulares (Gerlich et al., 2013; Hu & Liu, 2017).

As partículas completas são infecciosas e conhecidas como partículas de Dane (Figura 2). As partículas esféricas e tubulares são consideradas não-infecciosas ou incompletas porque não possuem o nucleocapsídeo, o genoma e a polimerase viral, sendo formadas apenas pelo envelope viral associado à glicoproteína de superfície (HBsAg), medem cerca de 22nm de diâmetro e possuem comprimento variável. Essas partículas não infecciosas são produzidas em grande quantidade e podem ser facilmente identificadas no sangue de indivíduos infectados pelo HBV. Por isso, o antígeno HBsAg circulante é o primeiro marcador utilizado para detectar a infecção. Além disso, essas partículas são imunogênicas e auxiliam nas estratégias de escape do vírus ao sistema imunológico do hospedeiro (figura 3) (Gerlich et al., 2013; Busch & Thimme, 2014; Hu & Liu, 2017).

A partícula de Dane é composta também por um envelope lipoprotéico externo que engloba um nucleocapsídeo icosaédrico, formado pelo antígeno do core (HBcAg), que contém o genoma de DNA e a polimerase viral (Hu & Liu, 2017).

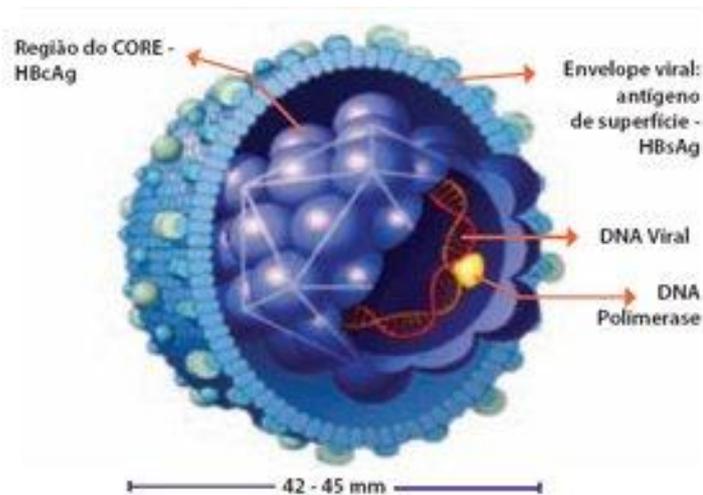


Figura 2: Estrutura completa do vírus da Hepatite B
(Fonte: Adaptado de Perkins JA, 2002)

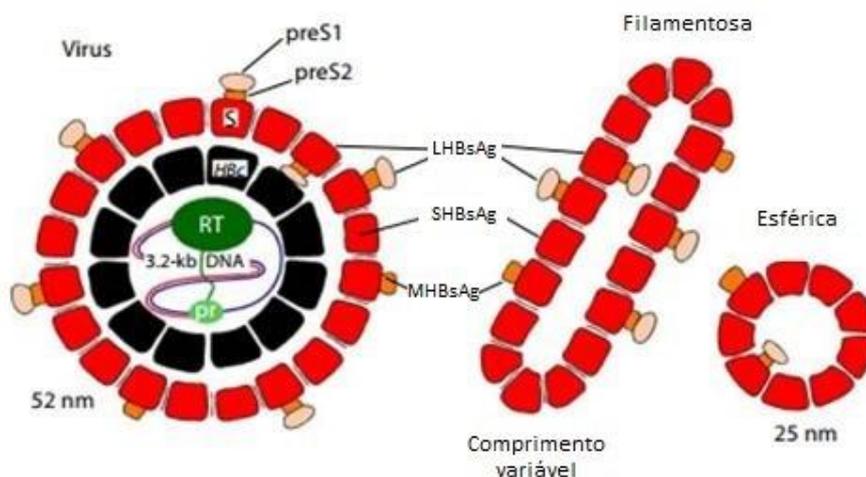


Figura 3: Partículas completas e incompletas do HBV
(Fonte: Adaptado de Gerlich et al 2013)

Os resultados clínicos das infecções crônicas pelo HBV são variáveis, e fatores relacionados ao vírus podem apresentar relação direta com a progressão da doença, tais como, fatores do hospedeiro, genótipo do HBV, mutações virais específicas, carga viral e níveis quantitativos de HBsAg são importantes na sua predição, como também na resposta ao tratamento (Shi et al., 2013; Sunbul, 2014)

Estudos têm investigado a relação das características genéticas do vírus com os mecanismos de escape da resposta imune do hospedeiro. Assim como desenvolvimento de hepatite oculta, evolução da doença para carcinoma hepatocelular e resposta à terapia antiviral. Apontando os genótipos B e C e o subgenótipo A1 como associados ao desenvolvimento de carcinoma hepatocelular

(Sunbul, 2014). Assim como, estudos que encontraram associação do genótipo A e C com uma progressão mais rápida da infecção aguda para a infecção crônica por HBV e relacionou o genótipo C ao nível sérico de HBV DNA mais elevado, maior prevalência de mutações nas regiões promotoras do núcleo e a seroconversão tardia de HBeAg (Sunbul, 2014; Tong & Revill, 2016).

1.1.3 Replicação viral

A interação do HBV com a célula hospedeira é mediada por receptores presentes no envelope viral e nos hepatócitos. Essa associação desencadeia uma interação entre a membrana plasmática celular e o envelope viral que resulta na entrada do nucleocapsídeo do vírus no citoplasma da célula. No processo de adsorção, o vírus perde seu envelope e, há exposição do nucleocapsídeo que contém uma fita de DNA dupla parcial circular relaxada (rcDNA), o nucleocapsídeo é transportado ao núcleo celular (Busch & Thimme, 2014; Tong e Revill, 2016).

No núcleo dos hepatócitos, o DNA genômico é “reparado” para formar a fita de DNA integralmente dupla e covalentemente fechada circular (cccDNA), no qual o rcDNA é liberado e convertido em uma forma de cccDNA (Nassal, 2015). O cccDNA, que forma um minicromossoma com alta estabilidade é o modelo para a transcrição de RNAs mensageiros (RNAm) virais utilizando a RNA polimerase dependente do DNA do hospedeiro para desencadear a expressão da proteína viral e a replicação do genoma. (Busch & Thimme, 2014 Nassal, 2015).

O cccDNA é transcrito em dois moldes distintos de RNA. i) um mais curto, onde o transcrito de RNA mensageiro (mRNA) pré-S/S menor é traduzido em proteínas de superfície do vírus (L, M e S) e na proteína X; ii) outro mais comprido, RNA pré-genômico (pgRNA) é traduzido nas proteínas HBeAg, HBcAg e a polimerase viral e sofre transcrição reversa para gerar novas fitas de DNA genômico (Schaefer & Dienstag, 2012; Nassal, 2015).

O pgRNA serve como molde para replicação viral. A replicação é iniciada com a ligação da polimerase viral a este RNAPg para produção da fita de DNA negativa. À medida que este DNA está sendo formado, o domínio RNaseH da polimerase degrada a fita molde de RNA (pgRNA). Em seguida, procede-se a formação da fita positiva do genoma (Tong e Revill, 2016).

Os nucleocapsídeos podem ir para o núcleo celular para desmonte e liberação do genoma viral (alimentando a presença de cccDNA intranuclear e reiniciando o ciclo), ou se encaminhar ao retículo endoplasmático celular para serem envelopados (com as proteínas de superfície do vírus) e liberados por exocitose (Busch e Thimme, 2014; Tong e Revill, 2016). (Busch & Thimme, 2014; Tong e Revill, 2016).

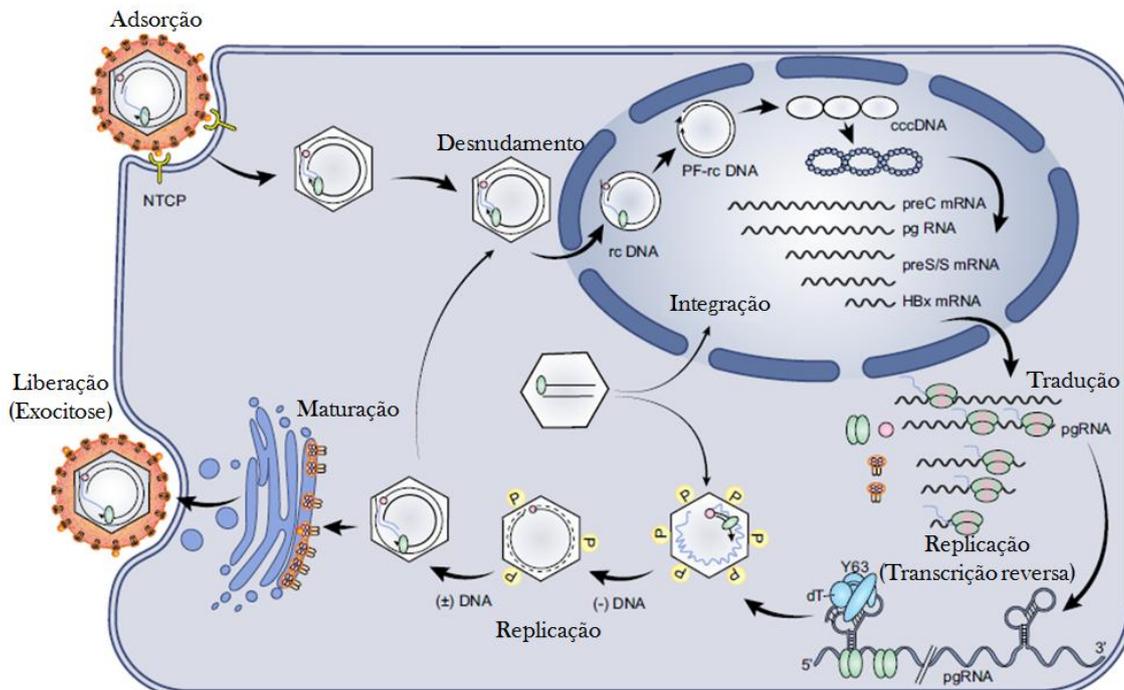


Figura 4: Ciclo de replicação do Vírus da Hepatite B

NTCP: receptor para entrada do vírus na célula (*Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide*); cccDNA: DNA covalentemente fechado; mRNA: RNA mensageiro; pgRNA: RNA pré-genômico (adaptado de Tong e Revill, 2016).

1.1.4 Formas de Transmissão

O HBV é altamente infeccioso, sendo facilmente transmitido pelo contato com líquidos corporais infectados. Esse vírus está presente principalmente no sangue, saliva, sêmen, secreções vaginais, sangue menstrual e, em menor quantidade, no suor, leite materno, urina e lágrima de indivíduos infectados. A transmissão do HBV pode acontecer por diferentes vias, tais como: parenteral, sexual e vertical (mãe para o filho) (Alter, 2003; Trépo et al., 2014).

A transmissão parenteral do HBV pode ocorrer por meio de agulhas, seringas, ou instrumentos contaminados, alicates de unha, agulhas para tatuagem, *piercing* e acupuntura, abuso de drogas por via intravenosa, e também durante

hemodiálise ou através de transfusão de sangue e hemoderivado, além de acidente ocupacional com perfurocortante (Lavanchy, 2004; You et al., 2014).

A transmissão sexual do HBV, que é atualmente considerada a principal forma de contaminação, pode ocorrer através do contato com sêmen e secreções vaginais contaminadas, sendo que alguns comportamentos podem aumentar o risco de contágio, como: relações sexuais desprotegidas, múltiplos parceiros, o tipo de prática sexual e a presença de outras Infecções Sexualmente transmissíveis (IST) (Lavanchy, 2004; Gorgos, 2013).

A transmissão vertical do HBV, da mãe infectada para o filho, pode acontecer dentro do útero, antes e após o parto. No entanto, a probabilidade de transmissão vertical é maior quando a mãe é infectada pelo HBV no último trimestre de gestação em comparação com infecção no primeiro semestre da gravidez, ou caso a mãe seja portadora crônica do HBV (Gentile et al., 2014; Mavilia & Wu, 2017). No Brasil, apesar da introdução da vacina e dos esforços progressivos em prevenção contra a hepatite B, a transmissão vertical ainda é uma realidade. Do total de casos notificados no país de 1999 a 2015, 23563 casos (11,1%) ocorreram em gestantes. Destes, a região Sul foi responsável por 33,7%; Sudeste por 26,1%; Norte por 16,0%; Centro-Oeste por 14,2% e Nordeste por 9,8% (Brasil, 2017a). A taxa de transmissão vertical foi estimada em 3,2% (Conceição et al., 2009; Kupek & Oliveira, 2011).

1.1.5 Epidemiologia

Segundo a Organização Mundial de Saúde, 2 bilhões de indivíduos no mundo já tiveram contato com o vírus da hepatite B (HBV), cerca de 257 milhões de pessoas estão cronicamente infectadas com esse vírus e 887 mil pessoas morreram em 2015 devido a complicações da doença, principalmente cirrose e carcinoma hepatocelular (WHO, 2017a).

A hepatite B está presente em todo o mundo, sua distribuição pode variar amplamente entre as regiões geográficas, conforme a prevalência local, as vias de transmissão e os genótipos. Sendo os países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, geralmente, os de maior incidência. A classificação das áreas geográficas quanto a endemicidade do HBV ocorre pela prevalência de HBsAg, da seguinte forma: alta endemicidade quando mais de 8% da população são HBsAg

positivos, intermediária quando de 2-7% da população apresenta o marcador HBsAg e baixa endemicidade quando menos que 2% da população apresenta a infecção (Gadano et al., 2011; Trépo et al., 2014).

Globalmente, as áreas com maior prevalência de HBV incluem a região africana e do oeste pacífico com 6,1% e 6,2% de prevalência, respectivamente. Nas regiões do leste mediterrâneo, sudeste asiático e Europa, as prevalências de HBsAg são de 3,3%, 2,0% and 1,6%, respectivamente e 0,7% da região das Américas está infectada (WHO, 2017c). Na América Latina, a maioria dos países tem baixa endemicidade do HBV. Entretanto, existem regiões de endemicidade intermediária e alta como a bacia amazônica, parte do noroeste argentino e países como o Haiti e a República Dominicana (Figura 5) (Gadano et al., 2011; Trépo et al., 2014).

Em relação à distribuição global dos genótipos, observamos que os genótipos A e D são mais amplamente distribuídos pelo mundo. O genótipo A é predominante na África e no norte da Europa e norte da América. Enquanto os genótipos B e C são mais prevalentes no Sudeste da Ásia. O genótipo D na Europa Central e mediterrânea, Norte da África, Oriente Médio e Índia. O genótipo E é restrito às regiões oeste e central da África. O genótipo F é encontrado no Alasca e Américas Central e do Sul. A distribuição geográfica do genótipo G é pouco conhecida, mas já foi encontrado em diferentes locais e parece ser ubíquo. O genótipo H é encontrado na América Central e Sul dos Estados Unidos. Os genótipos I e J são os mais recentes, foram isolados no Vietnã e Japão, respectivamente (Figura 5) (Lin & Kao, 2011; Sunbul, 2014; Trépo et al., 2014).

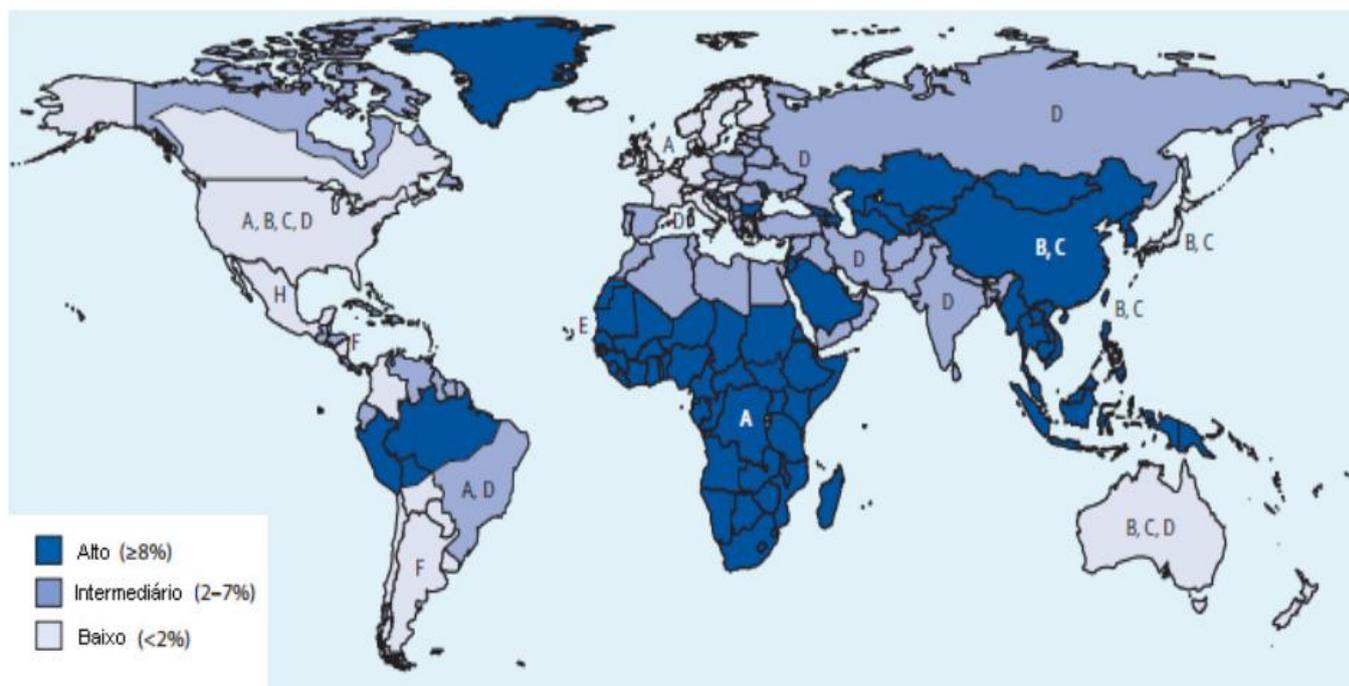


Figura 5: Taxa de infecção crônica pelo vírus da hepatite B e distribuição geográfica dos principais genótipos do vírus no mundo

(Fonte: Adaptado de Trépo et al., 2014)

No Brasil, também observamos diferentes valores de prevalência de hepatite B. A Amazônia tem alta endemicidade no país, particularmente no Acre, sul da Amazônia, bem como Rondônia, Pará e Noroeste de Mato Grosso (Souto, 2016). Enquanto as demais regiões do país são classificadas como de baixa endemicidade, nas quais a prevalência do HBsAg foi 0,19% para o Nordeste, 0,47% para o Centro-Oeste e 0,60% para o Distrito Federal (Pereira et al., 2009).

Considerando-se que, no Brasil, a hepatite B é uma doença de notificação compulsória, dados mais recentes, do Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais (Brasil, 2017a) que considerou os casos notificados no Sistema de Informação de Agravo de Notificação (Sinan), apresentam 212.031 casos de hepatite B notificados de 1999 até 2016, onde a maioria das notificações ocorreu nas regiões Sudeste (35,4%) seguido pelas regiões Sul (31,6%), Norte (14,2%), Nordeste (9,4%) e Centro-Oeste (9,3%) (Brasil, 2017a).

O cenário nacional vem se modificando a partir da década de 90, principalmente após a implementação da vacinação universal contra hepatite B para menores de um ano de idade e, posteriormente, estando disponível para toda a população, indicando mudanças na endemicidade da infecção pelo HBV. Entretanto, em algumas regiões do país a prevalência da doença continua

umentando, normalmente entre grupos populacionais específicos, como os indivíduos de maior vulnerabilidade à infecção pelo HBV (Souto 1999; Viana 2005; Lindenberg et al. 2013; Zatti et al, 2013; Souto, 2016).

No que diz respeito aos estados do Ceará e do Rio de Janeiro, dados do boletim epidemiológico (Brasil, 2017a) informam um total de 2511 e 9890 casos confirmados de hepatite B no Ceará e Rio de Janeiro, respectivamente, de 1999 a 2016. Os casos confirmados no Ceará correspondem a 12,6% do número de casos total da região nordeste, enquanto os casos confirmados no Rio de Janeiro perfazem 13,2% do número de casos total da região nordeste. A taxa de detecção de casos confirmados de hepatite B, por 100.000 habitantes, no ano de 2016, foi de 1,6 no Ceará e 3,1 no Rio de Janeiro. No ano de 2000 a 2015, foram notificados 126 e 627 óbitos por hepatite B como causa básica nos estados do Ceará e Rio de Janeiro, respectivamente (Brasil, 2017a). Estudo realizado por Villar e colaboradores (2014) para avaliar a prevalência da hepatite B entre crianças e adolescentes do Rio de Janeiro detectou o HBV em 1,8% dos indivíduos testados. Por outro lado, estudo realizado entre frequentadores de universidades da cidade do Rio de Janeiro detectou presença do HBsAg em apenas 0,136% dos indivíduos testados (Pinto et al., 2015), o que denota prevalência variável do HBV entre diferentes grupos. No Ceará, estudo de Távora et al. (2013) relatou prevalência do HBV igual a 3,7% entre indivíduos portadores do HIV.

Estudo realizado com doadores de sangue na região Centro-Oeste indica diminuição na prevalência de HBsAg de 2001 (9,42%) para 2010 (3,04%). Provavelmente devido à melhoria no recrutamento de doadores, técnicas diagnósticas mais acuradas, profilaxia pós-exposição, terapia antiviral e impacto positivo do programa de vacinação, provocando uma queda da prevalência dessa infecção na população em geral (Lindenberg et al. 2013; Souto, 2016). Souto e colaboradores (2016) também relataram redução de prevalência do HBV com taxa de prevalência abaixo de 1% no Brasil nos últimos anos.

No Brasil, foram identificados sete genótipos de HBV circulantes, sendo em geral, o genótipo A (58,7%) o mais prevalente, seguido pelo genótipo D (23,4%) e F (11,3%), os quais apresentaram diferentes frequências nas cinco regiões do país. Além desses, os genótipos E, G, C e B também foram identificados, mas em proporções bem menores (Lampe et al., 2017).

O genótipo A foi predominante nas regiões Norte (71,6%) e Nordeste (65,0%). Enquanto na Região Sul, o genótipo D estava presente em 78,9% das amostras analisadas e o genótipo F foi o segundo mais prevalente na região Nordeste (23,5%). Já nos Estados do Ceará e do Rio de Janeiro, predominou os genótipos F (53%) e A (79%), respectivamente (Figura 6) (Mello et al., 2007; Lampe et al., 2017).

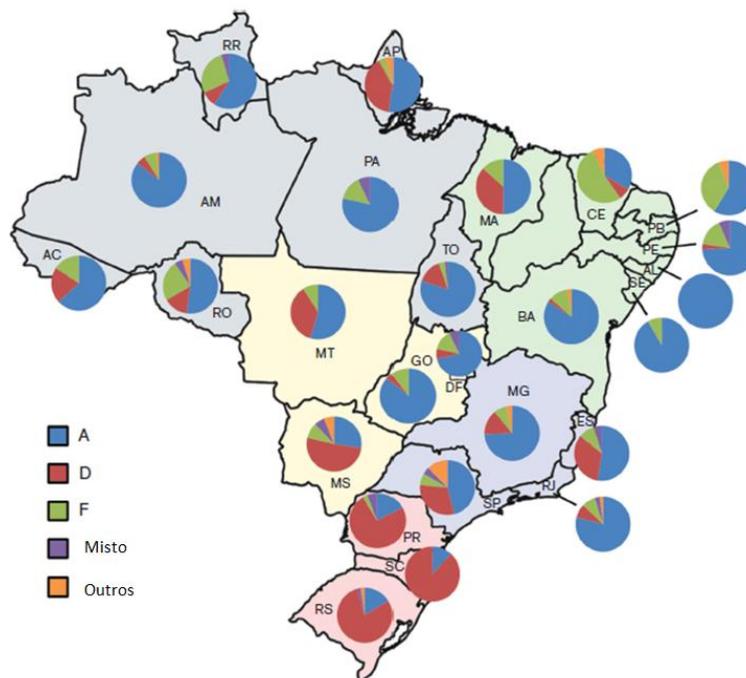


Figura 6: Distribuição dos genótipos do HBV nas regiões brasileiras
(Fonte: Adaptado de Lampe et al., 2017)

1.1.6 Aspectos clínicos

A infectividade do HBV é de 50 a 100 vezes maior do que a do HIV-1, e a susceptibilidade à infecção é universal, sendo que, a imunidade para a hepatite B pode ocorrer por meio de infecção passada ou vacinação (Tauil et al., 2012).

A Hepatite B apresenta um amplo espectro clínico, variando desde formas assintomáticas, anictéricas e ictericas típicas, até a insuficiência hepática aguda grave (fulminante). A doença varia conforme fatores relacionados ao hospedeiro, como idade na infecção aguda, sexo e sistema imunológico, fatores do vírus, como genótipo, subtipo e mutação do HBV, e fatores das diferentes regiões do mundo (Lampertico et al., 2015). Além disso, a hepatite B pode se apresentar de forma aguda, crônica ou oculta (Burns e Thompson, 2014).

A infecção aguda pelo HBV pode se apresentar na forma assintomática, na forma icterícia ou como hepatite fulminante. Os sintomas observados no início da infecção aguda, quando presentes, são inespecíficos, caracterizados por febre, dor de cabeça, artralgias, fadiga, náusea, vômitos, anorexia e dores abdominais no quadrante superior direito. Essa fase da doença costuma durar de três a dez dias, antecedendo a icterícia (You et al., 2014; Burns e Thompson, 2014; Busch e Thimme, 2014).

O HBV possui um período de incubação prolongado, de 45 a 180 dias (média de 60-90 dias). Na maioria dos casos, a infecção pelo HBV pode passar despercebida uma vez que a doença clínica (icterícia) só ocorre em 10% dos casos em menores de cinco anos e de 30-50% em maiores de cinco anos. Mesmo naqueles em que há manifestação clínica, cerca de 30% são de quadros brandos ou transitórios. A infecção pelo HBV na fase adulta está usualmente associada com hepatite sintomática e evolui para a cura em 90% a 95% dos casos, exceto em imunodeprimidos. No entanto, alguns fatores tais como: idade do paciente, via de transmissão, porta de entrada e resposta imune do hospedeiro podem interferir no curso da infecção. Além de coinfeção com outros vírus hepatotrópicos ou com doenças hepáticas subjacentes, que podem contribuir para um quadro mais grave da doença (Juszczak, 2000; You et al., 2014; Singh et al., 2017).

A taxa de evolução para doença crônica na hepatite B pode chegar a 90% em menores de cinco anos quando a transmissão ocorre durante a gestação, o parto ou a amamentação. Enquanto para os maiores de 5 anos de idade, 5% a 10% evoluem para cronicidade (Gish et al., 2015).

A infecção crônica pelo HBV é caracterizada pela presença do antígeno HBsAg no soro por mais de seis meses. Esse estágio da doença pode resultar em um estado de portador assintomático ou oligossintomático e, na maioria das vezes, não há quadros de icterícia e a doença seguirá assintomática por muitos anos, com evolução contínua da inflamação e necrose dos hepatócitos, usualmente progredem para cirrose hepática, hipertensão portal, com edema, circulação colateral, ascite e encefalopatia, chegando até a falência hepática. A inflamação pode apresentar intensidade variável, onde os títulos do HBV DNA mantido persistentemente ao longo do tempo representa o principal risco de progressão para cirrose e carcinoma hepatocelular (Fonseca, 2007; Dienstag, 2008; Gish et al 2015).

A hepatite B crônica é um processo dinâmico que reflete a interação entre a replicação do HBV e a resposta imune do hospedeiro (Busch e Thimme, 2014). Para facilitar a compreensão de cada etapa da doença, a hepatite B crônica costuma ser classificada em cinco fases: 1ª fase: Imunotolerância: caracterizada pela positividade do AgHBe, pelos altos níveis de replicação do HBV, com ligeira ou nenhuma necroinflamação hepática; 2ª fase: Resposta imunológica AgHBe-positiva: caracterizada pela positividade do AgHBe, relativamente menor nível de replicação em comparação com a fase da tolerância imunológica, com necroinflamação hepática moderada ou grave, e progressão mais rápida de fibrose em relação à fase anterior; 3ª fase: Estado de portador inativo do VHB: pode seguir a seroconversão do AgHBe para o anticorpo anti-HBe sendo caracterizado pelos níveis séricos de HBV DNA indetectáveis ou muito baixos; 4ª fase: AgHBe-negativa: pode seguir a seroconversão do AgHBe para os anticorpos anti-HBe durante a fase da resposta imune ou pode desenvolver-se após anos ou décadas do estado do portador inativa; 5ª fase: HBsAg-negativa: caracterizada por HBsAg sérico negativo e anticorpos positivos para HBcAg (anti-HBc), com ou sem anticorpos detectáveis para HBsAg (anti-HBs). Esta fase também é conhecida como "infecção oculta pelo HBV" (Gerlich et al., 2010; González et al., 2014; Lok, 2016; EASL, 2017a).

1.1.7 Diagnóstico

O diagnóstico da hepatite B é baseado na detecção dos marcadores sorológicos do vírus presentes no sangue, soro, plasma ou fluido oral da pessoa infectada, por meio de imunoenaios (Hoofnagle & Di Bisceglie, 1991; Brasil, 2015a). Além destes, os testes moleculares oferecem uma alternativa para a detecção mais precoce da infecção pelo HBV e também servem para a confirmação de casos de hepatite B oculta, empregando técnicas de biologia molecular para detecção do ácido nucleico viral (Caliendo et al., 2011; Brasil, 2015a; Villar et al., 2015a).

Os quadros clínicos agudos das hepatites virais são muito diversificados, variando desde formas assintomáticas até formas de insuficiência hepática aguda grave. Já o quadro clínico crônico, na maioria dos casos, é assintomático e as manifestações clínicas aparecem apenas em fases adiantadas de acometimento

hepático. Sendo o diagnóstico da hepatite B realizado, na maioria das vezes, durante a fase crônica da doença (Brasil, 2015a).

Para auxiliar no diagnóstico da hepatite B também é utilizado exames inespecíficos, com base nos parâmetros bioquímicos da função hepática, a fim de avaliar os níveis séricos das aminotransferases, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), que são marcadores sensíveis para detecção de lesão do parênquima hepático (Brasil, 2017b).

Na forma aguda da hepatite B, essas enzimas podem atingir valores até 25 a 100 vezes acima do normal. Enquanto na fase crônica, não ultrapassam 15 vezes o valor normal, na maioria das vezes. Já em indivíduos assintomáticos, é um importante parâmetro sugestivo de doença hepática (Brasil, 2017b).

Outros parâmetros bioquímicos também podem subsidiar a avaliação da função hepática, como: dosagem de bilirrubinas (diretas e indiretas), proteínas séricas, fosfatase alcalina, gama-glutamilttransferase (GGT), atividade de protrombina, alfafetoproteínae contagem de leucócitos e plaquetas (Brasil, 2017b).

1.1.7.1 Diagnóstico Sorológico

O soro de indivíduos infectados pelo HBV possui antígenos e anticorpos que são utilizados como marcadores sorológicos para o diagnóstico laboratorial da hepatite B e como metodologia de referência, é utilizado o ensaio imunoenzimático ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), para detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBc total, anti-HBc IgM, anti-HBs, HBeAg e anti-HBe. Enquanto o antígeno central do HBV (HBcAg) é intra-celular sendo identificado apenas no interior dos hepatócitos por técnicas de imunofluorescência ou de imunoperoxidase (Hoofnagle & Di Bisceglie, 1991; Kao, 2008).

A presença desses marcadores sorológicos e a combinação destes são responsáveis pela indicação do estado clínico do paciente, assim como do perfil sorológico do indivíduo. No curso da infecção pelo HBV, HBsAg é produzido em grande quantidade e é o primeiro marcador sorológico a aparecer, indicando infecção ativa. O HBsAg pode ser detectado no sangue da maioria dos indivíduos infectados cerca de 30 dias após a infecção. A cronificação da infecção é definida pela persistência do vírus, ou seja, pela presença do HBsAg por mais de seis meses (Kao, 2008; Dény & Zoulim, 2010).

Anti-HBs é um anticorpo neutralizante, e sua presença indica imunidade à infecção pelo HBV. A presença simultânea de anti-HBs e HBsAg foi documentada em pacientes HBsAg positivos, provavelmente devido à incapacidade de anticorpos para neutralizar os viriões circulantes, sendo classificadas como portadoras de infecção pelo HBV (Dufour et al., 2000; Weber, 2005; Petry & Kupek, 2006).

O marcador HBeAg indica alta replicação viral e risco de transmissão de infecção, e a soroconversão de HBeAg para anti-HBe está associada à remissão de doença hepática, que caracteriza pelo fim da fase replicativa do vírus, associada com baixa infectividade do soro. No entanto, alguns indivíduos anti-HBe reativos continuam a ter replicação viral ativa e doença hepática causada por mutações na região pré-core e núcleo no genoma do HBV, o que reduz a produção de HBeAg (Kao, 2008; Dény & Zoulim, 2010).

O marcador anti-HBc, anticorpos contra o HBcAg do tipo IgM (anti-HBc IgM) indica infecção recente pelo HBV. Em seguida, há o surgimento dos anticorpos dirigidos contra o HBcAg do tipo IgG, que permanece detectável no soro em valores mais baixos, na maioria dos indivíduos, pelo resto da vida, mesmo após a cura, indicando infecção por HBV em um tempo indefinido no passado (Ferreira 2000; Kao, 2008).

Tabela 1: Interpretação dos resultados sorológicos para infecção com vírus da hepatite B

Condição do caso	HBsAg	Anti-HBc total	Anti-HBc IgM	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBs
Suscetível	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Período de incubação	(+/-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Hepatite B aguda	(+)	(+)	(+)	(+/-)	(+/-)	(-)
Final da fase aguda	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
Hepatite B crônica	(+)	(+)	(-)	(+/-)	(+/-)	(-)
Hepatite B curada	(-)	(+)	(-)	(-)	(+/-)	(+)*
Imunizado por vacinação	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)

* Em alguns casos de hepatite B curada, o anti-HBs não é detectado por estar em baixos títulos.

Fonte: Brasil, 2015a

O ensaio imunoenzimático (ELISA) é a técnica mais utilizada para a detecção de marcadores da infecção pelo HBV por ser bastante sensível e específica. Além da vantagem de gerar resultados altamente reprodutíveis, automação e baixo custo. Essa técnica consiste na detecção de antígenos e/ou anticorpos específicos contra o vírus (HBV), isoladamente ou combinados. Para a detecção de anticorpos, um antígeno deve ser imobilizado em uma superfície sólida, para então esse anticorpo presente na amostra do paciente se ligar ao antígeno preso na superfície sólida. Acrescenta-se ao sistema um conjugado (anticorpo ligado a uma enzima), que irá se ligar ao anticorpo preso ao antígeno. A detecção ocorre por meio da incubação desse complexo enzimático com um substrato que, ao ser consumido pela enzima, produzirá um produto detectável (colorido ou insolúvel), fruto de uma interação antígeno-anticorpo altamente específica (Grange *et al.*, 2014; Brasil, 2015a).

Além do método ELISA, outras técnicas sorológicas específicas podem ser empregadas para detectar marcadores de hepatite B, tais como radioimunoensaio (RIA), imunoensaio quimioluminescente (CLIA) e imunoensaio por electroquimioluminescência (ECLIA), imunoensaio enzimático de micropartículas (MEIA), imunoensaio de micropartículas quimioluminescentes (CMIA) (Chen *et al.*, 2006; Maylin *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2012; Villar *et al.*, 2015a).

O radioimunoensaio RIA foi a primeira técnica utilizada para o diagnóstico de HBV, onde um dos reagentes é conjugado com radioisótopos. Este método apresenta boa sensibilidade, mas alto custo e risco para o operador (Annesley, 2010; Grange *et al.*, 2014).

Os testes de quimioluminescência (CLIA) envolvem o uso de uma substância luminescente para detecção da reação antígeno-anticorpo e anticorpo-antígeno. A vantagem deste sistema é que ele é muito sensível e específico, e a desvantagem é que exige equipamentos especiais e ainda tem custo elevado. Já a eletroquimioluminescência (ECLIA) é um processo por meio do qual a aplicação de uma corrente elétrica induz uma emissão quimioluminescente a partir dos complexos imunológicos, produzindo luz. A vantagem desse processo consiste na simplicidade de preparação, na alta estabilidade dos reagentes e em uma grande sensibilidade (Forster *et al.*, 2009).

O MEIA é um método que utiliza micropartículas muito pequenas em suspensão líquida como suporte em fase sólida. As partículas são revestidas com moléculas relacionadas específicas para o material medido. MEIA é executado em menos tempo do que outros métodos imunológicos devido à presença de área de superfície ativa de micropartículas o que eleva o estudo cinético e diminui o tempo de incubação (Forster et al., 2009; Villar *et al.*, 2015a).

O CMIA é uma técnica que possui duas etapas de desenvolvimento. Na primeira fase, a amostra e as micropartículas paramagnéticas revestidas de anticorpos são combinadas, onde o antígeno presente na amostra liga-se às micropartículas revestidas de anticorpos. Na segunda fase, o conjugado de anticorpos marcado com acridínio e as soluções pré-ativadora e ativadora são adicionadas à mistura de reação, onde a reação quimioluminescente resultante é medida em unidades de luz relativas (RLUs) (Grange et al., 2014).

1.1.7.2 Diagnóstico Molecular

O material genético do vírus (HBV-DNA) pode ser detectado através de técnicas de biologia molecular qualitativa e quantitativa. Alguns métodos disponíveis para detectar e quantificar o DNA do HBV são: hibridização em fase líquida (dot-blot), técnica de DNA ramificado (bDNA), reação em cadeia de polimerase (PCR) e PCR em tempo real (Caliendo et al., 2011; Datta & Chatterjee, 2014). Por conseguinte, a escolha do método a ser utilizado depende do objetivo do estudo, disponibilidade de reagentes, recurso financeiro e infraestrutura (Gish e Locarnini, 2006).

Atualmente, a metodologia de PCR em tempo real tem sido mais frequentemente utilizada, devido sua capacidade de detectar e quantificar o DNA viral presente em amostra de soro ou plasma. Além de possuir alta sensibilidade, especificidade e amplo intervalo de quantificação. A amplificação do material genético viral permite detectar o DNA do HBV mesmo em amostras de soro com baixa carga viral, sendo a detecção desse material genético associado à infecção ativa pelo HBV. Assim, a quantificação do DNA viral é útil para verificar a resposta ao tratamento, auxiliar no diagnóstico e verificação da resposta virológica sustentada após a terapia antiviral (Gish & Locarnini, 2006; Caliendo et al., 2011).

Um dos testes moleculares comerciais, que utiliza a técnica de PCR em tempo real, foi mais utilizado para detecção de HBV DNA, o COBAS Amplicor HBV Monitor (Roche Molecular Diagnostics, Califórnia, Estados Unidos), que apresentava limite de detecção de 200 UI/mL, considerado de boa acurácia e reprodutibilidade (Villar et al., 2015). Mas posteriormente, foi substituído pelo COBAS TaqMan HBV (Roche Molecular Diagnostics, Califórnia, Estados Unidos) por apresentar limite de detecção de HBV DNA bem menor, 29 a 1,1 x 10⁸ UI/mL. Atualmente, um teste ainda mais sensível, de menor necessidade de manipulação e com menor chance de contaminação foi desenvolvido e encontra-se disponível no mercado, o teste da Abbott (Abbott RealTime HBV, Abbott Molecular, Des Plaines, IL, Estados Unidos), que possui faixa de detecção do DNA viral de 10 UI/mL a 10⁹ UI/mL e especificidade acima de 99% (Ismail et al., 2011; Morris et al., 2013).

Os testes moleculares oferecem uma alternativa para a detecção cada vez mais precoce da infecção pelo HBV. Além de serem úteis também para a confirmação de casos de hepatite B oculta, em que o HBsAg não é detectado no soro ou plasma, mas o material genético do vírus está presente na amostra (Datta et al., 2014; Brasil, 2015). Apesar dessas várias vantagens, apresenta algumas desvantagens porque são testes de alto custo e não se adaptam à realidade de laboratórios de pequeno e médio porte (Morris et al., 2013).

Para identificar os genótipos do HBV, podem ser utilizadas diferentes metodologias, como: o sequenciamento do genoma completo ou da região pré-S/S, PCR com *primers* genótipo-específicos, PCR com posterior análise do polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP), hibridização reversa dos produtos da PCR (LiPA-Line Probe Assay), PCR em tempo real (pela análise da curva de anelamento) (Datta et al., 2014; Villar et al., 2015a).

Apesar dos diferentes métodos comerciais existentes para análises de mutação na sequência de DNA do HBV, o sequenciamento direto do DNA ainda é o método padrão que apresenta resultados precisos, sendo o método de escolha para pacientes infectados com genótipos recombinantes e mutações de resistência a fármacos (Caliendo et al., 2011; Kim et al., 2014).

Apesar da genotipagem do HBV não ser imprescindível para a decisão terapêutica, como ocorre com o HCV, a realização de testes de genotipagem do vírus poderá auxiliar no conhecimento sobre a resistência antiviral ao tratamento e

preencher as lacunas de conhecimento sobre os genótipos do vírus (Kim et al., 2014; Villar et al., 2015a).

1.1.7.3 Utilização de Testes Rápidos

Diferentes princípios metodológicos podem ser utilizados para desenvolvimento dos testes de diagnóstico rápido, como a aglutinação de partículas, imunocromatografia, immunoblot e imunofiltração (Villar et al., 2015a). Estes testes apresentam como dispositivo um suporte sólido (celulose ou Membranas de nylon, micropartículas de látex ou cartões de plástico) onde os antígenos ou anticorpos virais são fixados e os resultados podem ser lidos em até 10 min (Khuroo et al., 2014). Os princípios dos testes rápidos baseiam-se em ligações antígeno-anticorpo na área de aplicação de amostra e na zona “T” ou zona de teste. As amostras fluem pela placa teste por capilaridade e ainda apresentam uma zona “C” ou zona controle que apresenta reagentes para os anticorpos presentes no conjugado do teste para garantir seu funcionamento (Figura 7).

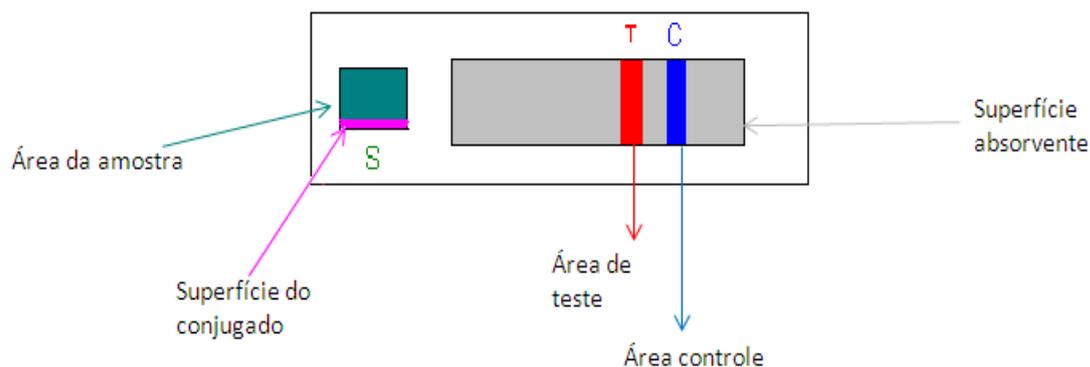


Figura 7: Representação esquemática do teste rápido

(Fonte: Cruz, 2014)

Os testes rápidos oferecem vantagens na leitura dos resultados, que são identificados pela formação de linhas coloridas de fácil interpretação, além de apresentar baixo custo, baixa necessidade de infraestrutura laboratorial, armazenamento e execução em temperatura ambiente, treinamento simples para executar o ensaio (Khuroo et al., 2014; Brasil, 2015a).

Atualmente, diversos testes rápidos para detecção de marcadores da infecção pelo HBV estão disponíveis em todo mundo. Estudos com testes rápidos

de diferentes fabricantes demonstraram bons desempenhos (concordância acima de 90%) para detecção do marcador HBsAg, identificado no soro, plasma ou sangue total (Randrianirina et al., 2008; Bottero et al, 2013; Franzeck et al., 2013; Cruz et al., 2015). No entanto, o estudo de Khuroo e colaboradores (2014) identificaram que o desempenho de testes rápidos tem se mostrado baixo em painéis de soroconversão e entre indivíduos infectados por vários mutantes de HBV, afirmando que estes testes não são indicados para pacientes imunossuprimidos e com baixas concentrações de HBsAg.

O Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais, aprovado pela Portaria nº 25 (01/12/2015), estabelece fluxogramas de diagnóstico para a infecção pelos vírus da hepatite. Assim como, o fluxograma de triagem da infecção pelo HBV por meio de testes rápidos, ilustrado a seguir (Brasil, 2015a; 2015d).

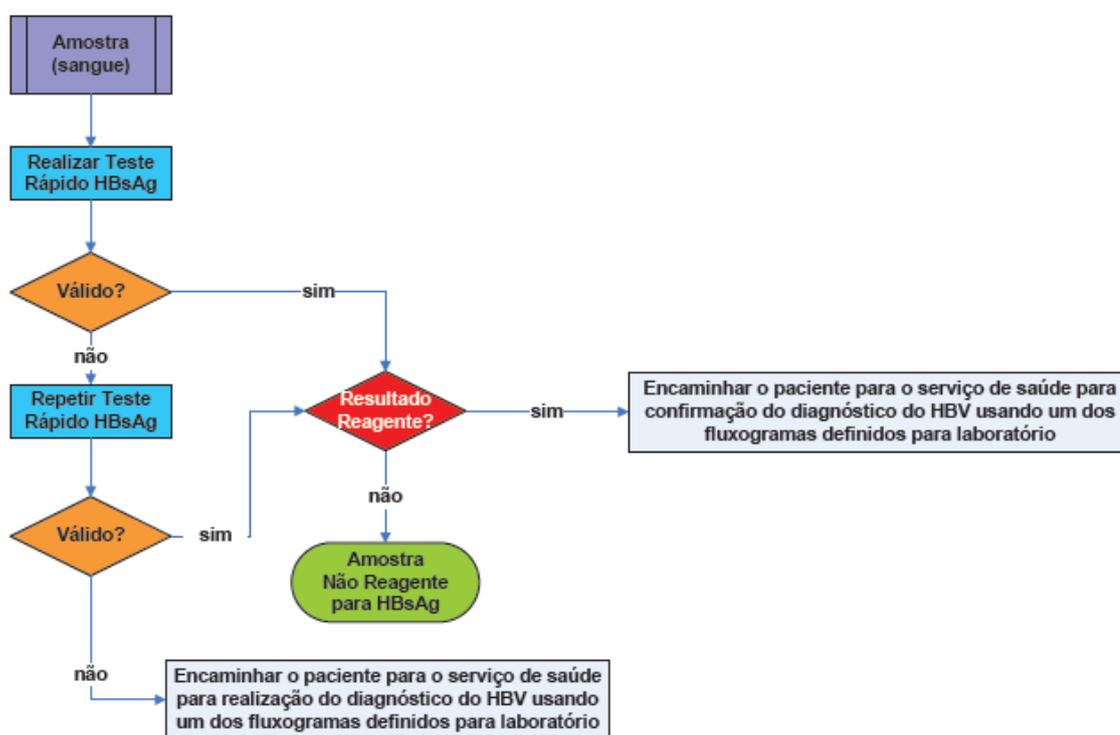


Figura 8: Fluxograma de triagem da infecção pelo vírus da hepatite B por meio de testes rápidos

(Fonte: Brasil, 2015a. Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais)

Este fluxograma detecta infecção ativa pelo HBV. Portanto, é necessário confirmar a presença do antígeno HBsAg por seis meses para definir doença crônica. Visto que, os indivíduos adultos expostos ao HBV, atingem a cura espontânea da infecção em 90% dos casos (Brasil, 2015a).

Quando um resultado for não reagente e permanecer a suspeita de infecção aguda por HBV, após 30 dias o paciente deve ser encaminhado para repetir o teste, com diferente método diagnóstico (Brasil, 2015a).

1.1.8 Prevenção

A prevenção da hepatite B busca reduzir o número de casos, tanto agudos quanto crônicos da doença e, portanto, as complicações desencadeadas pelo agravamento desta infecção (de Paula et al., 2015).

O modo de prevenção mais efetivo contra a infecção pelo HBV é feito pela vacina, produzida por engenharia genética através de DNA recombinante, que é aplicada por via muscular em três doses (0,1 e 6 meses). Após administração do esquema completo, a vacina induz imunidade em 90% a 95% dos casos (Lavanchy, 2004; Hou et al. 2005). A vacina foi implementada no Brasil em 1992 e integra o calendário infantil de imunizações do Ministério da Saúde, que recomenda desde 1998 a primeira dose da vacina contra a hepatite B seja administrada em até 24 horas após o nascimento. A vacina encontra-se disponível gratuitamente nas unidades de saúde do SUS também para indivíduos de até 37 anos de idade e para alguns grupos de maior vulnerabilidade ou que tenha indicação médica, conforme descrito no Parecer Técnico Nº 04/2010 da Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações e do Programa Nacional para a Prevenção e o Controle das Hepatites Virais (Brasil, 2010; de Paula et al., 2015).

Desde a introdução de testagem diagnóstica obrigatória para o HBV em bancos de sangue em 1978, esta via de transmissão tornou-se pouco frequente. Desta forma, o diagnóstico precoce, conhecimento do status sorológico e educação da população em relação às formas de transmissão são importantes mecanismos de prevenção da propagação dessa infecção. Além disso, a hepatite B também pode ser prevenida através de medidas de controle, tais como: uso de preservativo nas relações sexuais, não utilizar drogas ilícitas, não compartilhar agulhas ou seringas, não compartilhar objetos pessoais, e adoção de boas práticas de manuseio dos materiais biológicos e perfurocortantes entre profissionais de saúde (Lavanchy, 2004; Brasil, 2015a).

O objetivo principal do tratamento é reduzir o risco de progressão da doença hepática e de seus desfechos, como a cirrose, hepatocarcinoma e óbito levando a

supressão da replicação viral (HBV-DNA) e da atividade necroinflamatória no fígado (Tan & Sun, 2013; Brasil, 2017b; EASL, 2017a). Para isso, vários agentes antivirais têm sido utilizados de acordo com o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para hepatite B e coinfeções, estabelecido pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2017b).

1.2 HEPATITE C

1.2.1 Histórico

Até início da década de 70, apenas os agentes etiológicos das hepatites A e B tinham sido identificados. Portanto, com o desenvolvimento de testes sorológicos sensíveis a esses agentes, foi possível observar que muitos casos de hepatite pós-transfusional não eram atribuíveis à infecção pelo HAV ou pelo HBV. Dessa forma, foi descrito pela primeira vez uma nova hepatite pós-transfusional, chamada de hepatite “não-A não-B” (Feinstone *et al.* 1975).

A ausência de um marcador sorológico associado à infecção pelo agente etiológico da hepatite “não-A não-B” dificultava sua investigação. Por isso, diferentes grupos de pesquisadores estavam envolvidos na investigação desse agente infeccioso. No final da década 70, demonstraram ser possível a transmissão experimental dos agentes da hepatite “não-A não-B” aos chimpanzés através da administração parenteral de material biológico humano (soro, plasma, hemoconcentrado) (Hollinger *et al.* 1978; Alter *et al.* 1978; Tabor *et al.* 1978; Bradley *et al.* 1981; Hollinger *et al.* 1984; Bradley *et al.*, 1985).

Em 1989, mediante sucessivos estudos de biologia molecular, Choo e colaboradores identificaram o genoma do agente viral responsável por 80 a 90% das hepatites pós-transfusionais não-A e não-B. Tal agente foi denominado de vírus da hepatite C (HCV) e apresenta características biológicas peculiares que o diferenciam dos outros agentes virais hepatotrópicos (Choo *et al.*, 1989).

1.2.2 Estrutura e Genoma Viral

O Vírus da Hepatite C (HCV), anteriormente denominada hepatite Não-A Não-B, por meio de comparações filogenéticas das sequências virais, foi classificado como pertencente ao gênero *Hepacivirus C*, na família *Flaviviridae*. Esse gênero, que inclui o HCV, é um importante patógeno humano que causa doença hepática progressiva e as infecções são tipicamente persistentes (Smith et al., 2016; Simmonds et al., 2017).

A partícula viral é icosaédrica, mede aproximadamente 65nm de diâmetro e possui um envelope lipoproteico, que contém duas glicoproteínas de envelope (E1 e E2), e nucleocapsídeo icosaédrico, composto pela proteína de capsídeo (C) que envolve o genoma viral, constituído por RNA de fita simples de polaridade positiva com aproximadamente 9.400 nucleotídeos (Simmonds et al. 1993; Bartenschlager et al., 2011; Moradpour & Penin, 2013).

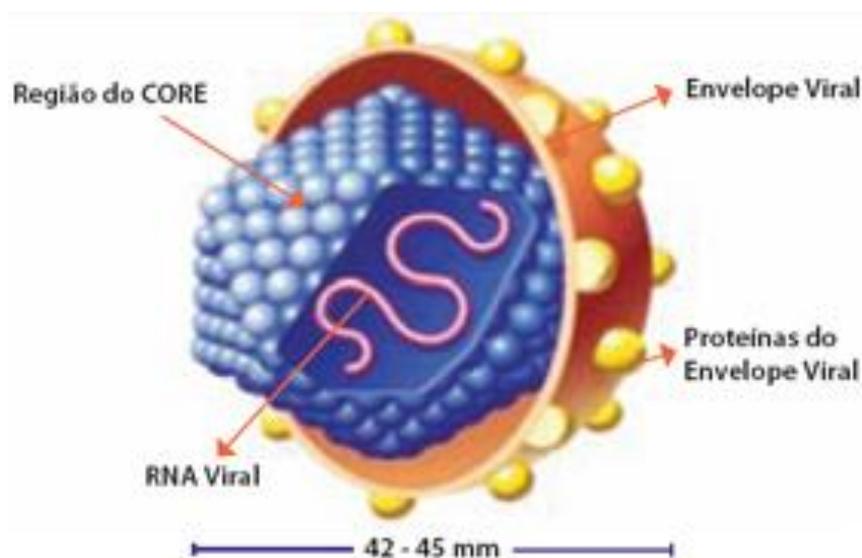


Figura 9: Estrutura do Vírus da Hepatite C
(Fonte: <http://www.aids.gov.br/en/pagina/hepatitis-c>)

O genoma do HCV apresenta nas extremidades duas regiões não codificantes 5' e 3' (5'NC e 3'NC) e uma única região de leitura aberta (*open reading frame* -ORF) que codifica uma poliproteína de cerca de 3.000 aminoácidos e durante e após a tradução, sofre uma série de clivagens por proteases virais e do hospedeiro produzindo proteínas estruturais (E1, E2 e core) e não estruturais (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) do HCV (Choo et al.1991; Moradpour & Penin, 2013; Hussain, 2013).

Há uma divisão funcional das regiões desse genoma: a) região amino terminal - que compreende as proteínas estruturais [core (C), glicoproteínas do

envolpe 1 (E1) e envolpe 2 (E2)]; b) uma região central - que inclui duas proteínas (p7 e NS2) que podem ter papel essencial na morfogênese viral; c) região carboxi terminal - que compreende as proteínas não estruturais necessárias para a replicação do RNA (NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) (Figura 1.2.2) (Tellinghusein *et al.* 2007; Hussain, 2013).

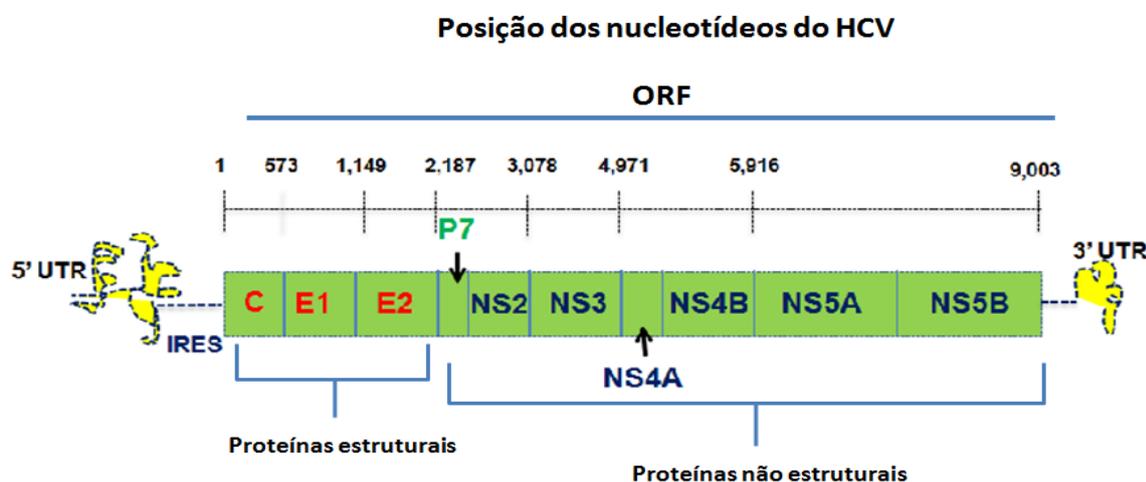


Figura 10: Estrutura do genoma e funções das proteínas do HCV
 Representação da fase de leitura aberta (ORF – *open reading frame*) codificando genes estruturais e não-estruturais com as regiões 5' e 3' UTR. C: Core; E: Envelope; NS: Não estrutural; IRES: sitio interno de entrada ribossomal (IRES – *internal ribosome entry site*). (Fonte: Adaptado de Hussain, 2013)

A replicação viral ocorre no citoplasma e para isso utiliza uma RNA-polimerase dependente da RNA que não possui capacidade de revisão geral, sendo propensa a alta taxa de erros e variabilidade genética do HCV (Zanetti *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2010). Com isso, gera uma população heterogênea ou quasispécie do HCV que diferem em 1-5% na diversidade de sequências nucleotídicas (Moscato *et al.*, 2011; Geller *et al.*, 2016). As quasispecies permitem rápida adaptação do vírus e essa variabilidade genética do HCV serve como uma estratégia inteligente de escape aos agentes antivirais ou do sistema imunológico, por exemplo (Hussain, 2013; Echeverría *et al.*, 2015).

O genótipo do HCV foi determinado principalmente com base na análise de sequências de genoma parcial, para isso, as regiões NS5B, core, E1 e 5'UTRs são as mais utilizadas para genotipagem do HCV (Simmonds *et al.* 1993; Stumpf & Pybus, 2002; Hussain, 2013; Geller *et al.*, 2016).

O sequenciamento e análise filogenética da região NS5B do HCV possibilitou a classificação do vírus em genótipos (homologia de 65,7% a 68,9%) e subtipos (homologia de 76,9% a 80,1%). Atualmente existem 7 genótipos, denominados de 1 a 7 e 84 subtipos, denominados pela letra do alfabeto segundo a ordem de descobrimento (a, b, c, d, ...) (Stumpf & Pybus, 2002; Smith et al, 2016; ICTV, 2017). O genótipo 1 é o mais prevalente no Brasil (64-72%), seguido pelo genótipo 3 (25-30%) e o genótipo 2 (2-5%) (Campiotto et al., 2005, Lampe et al., 2013).

A elevada variabilidade genética do HCV pode apresentar implicações clínicas, tanto na patogenicidade da doença hepática, uma vez que a infecção pelo genótipo 1 ou presença de múltiplas quasispécies parece se correlacionar com a maior gravidade, quanto na influência na resposta antiviral (Tong et al, 2008; Echeverría et al., 2015; Geller et al., 2016).

1.2.3 Replicação viral

O ciclo de replicação do HCV inicia com a entrada do vírus na célula alvo principal, o hepatócito. A estratégia de replicação desse vírus é semelhante com a de outros vírus de RNA de polaridade positiva (Zeisel et al., 2011; Kim & Chang, 2013; Grassi et al., 2016).

A entrada do vírus na célula é complexa e envolve fatores virais e do hospedeiro, na qual, inicia-se pela ligação das glicoproteínas do envelope E1 e E2 do vírus com os diferentes receptores/proteínas presentes na superfície da célula do hepatócito. Onde os receptores como a ocludina, claudina, receptor scavenger de classe B do tipo I (SR-BI) e CD81, estão envolvidos (Kim & Chang, 2013; Lavie et al., 2014; Falson et al., 2015).

Lembrando que, essas glicoproteínas E1 e E2 desempenham um papel essencial na entrada de vírus nas células do fígado e na morfogênese do vírion. O vírus desenvolveu múltiplas estratégias para escapar das respostas imunes do hospedeiro durante a entrada na célula, como a evasão de anticorpos neutralizantes e propagação viral por transmissão célula-célula. (Zeisel et al., 2011; Falson et al., 2015; Khan et al., 2015).

Quando o HCV entra na célula, ocorre a desnudação do genoma viral para iniciar a tradução da poliproteína viral em proteínas estruturais e não-estruturais,

onde as proteínas não estruturais participam da replicação viral e as estruturais fazem parte da estrutura do capsídeo e glicoproteínas do envelope (Zeisel et al., 2011; Kim & Chang, 2013; Khan et al., 2015).

Dessa forma, a replicação viral ocorre em uma rede membranosa, derivada do retículo endoplasmático, e as proteínas não estruturais do vírus se combinam para formar um complexo de replicação do seu RNA genômico. A atividade da RNA-polimerase dependente de RNA gera uma fita de RNA de polaridade negativa, complementar ao RNA viral, que serve também de molde para a síntese de novas fitas de RNA de polaridade positiva que servirão para a formação de novos vírus (Zeisel et al., 2011; Schaefer & Dienstag, 2012; Dubuisson & Cosset, 2014; Grassi et al., 2016).

As regiões terminais não codificantes (NC) são essenciais no processo de replicação viral. A região 5' NC, sequência mais conservada do genoma do HCV, contém um sítio interno de entrada de ribossomo (IRES) que é essencial para a tradução independente do RNA viral. Enquanto a região 3' NC é constituída de uma estrutura em forma de trevo, que contém uma região variável pequena de cerca de 40 nucleotídeos, uma cauda poli-U e uma região altamente conservada de 98 nucleotídeos (Schaefer & Dienstag, 2012; Kim & Chang, 2013; Dubuisson & Cosset, 2014; Grassi et al., 2016).

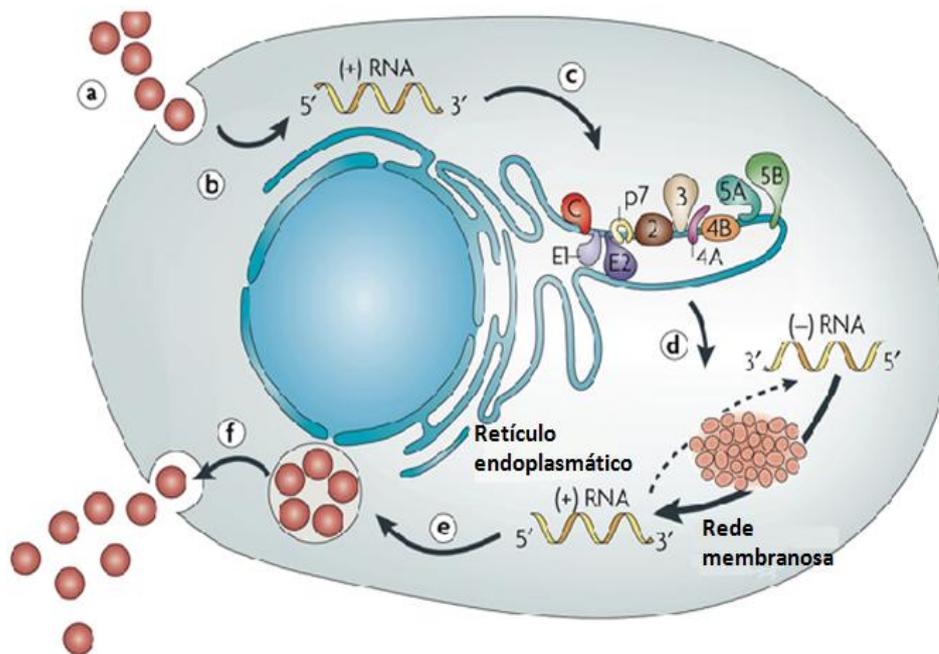


Figura 11: Ciclo de replicação do Vírus da Hepatite C. (a) Ligação e internalização do vírus; (b) Liberação citoplasmática; (c) tradução e processamento de poliproteína mediada por IRES; (d) Replicação de RNA; (e) Embalagem e montagem; (f) Maturação e liberação do vírion. (Fonte: https://www.researchgate.net/figure/6344573_fig2_Figure-1-Lifecycle-of-hepatitis-C-virus-HCVVirus-binding-and-internalization-a)

1.2.4 Formas de Transmissão

A transmissão do HCV pode ocorrer principalmente pela via parenteral, podendo ocorrer também por via sexual e vertical, apesar de serem consideradas muito pouco frequentes (Klebens et al, 2012).

A transmissão parenteral ocorre por meio de agulhas, seringas, ou instrumentos contaminados, alicates de unha, agulhas para tatuagem, *piercing* e acupuntura, abuso de drogas por via intravenosa, e também durante hemodiálise ou através de transfusão de sangue e hemoderivado, além de acidente ocupacional com perfurocortante e compartilhamento de material de higiene pessoal (lâminas de barbear, escovas de dente, alicates de unha ou outros objetos (Martins et al, 2011; Klebens et al, 2012; Hagan et al, 2013).

Com a inclusão dos testes de detecção de anticorpos anti-HCV, bem como a detecção do HCV RNA, em bancos de sangue, a transmissão do vírus diminuiu drasticamente em transfusões de sangue e derivados. Com isso, a grande maioria

das infecções por HCV está associada à utilização de drogas injetáveis (Klevens et al, 2012; Hagan et al,2013; Brasil, 2015c).

A transmissão sexual é considerada rara entre os parceiros heterossexuais, porém, entre homens que fazem sexo com homens (HSH) e na presença da infecção pelo HIV, a via sexual passa a ser considerada para a transmissão do HCV (Alter et al., 1989; Hagan et al,2013). Apesar de o vírus já ter sido detectado na saliva, é pouco provável a transmissão através do beijo, a menos que existam feridas na boca (Lins et al., 2005). Em 2016, a proporção de infecções por via sexual foi igual a 24,2% segundo o boletim epidemiológico (Brasil, 2017a).

A transmissão vertical, da mãe infectada para o filho, é possível de acontecer principalmente no momento do parto ou logo após. Pois, a transmissão intrauterina é considerada incomum. Além disso, a transmissão do HCV pode estar associada à coinfeção com o HIV, ao genótipo e à elevada carga viral do HCV (Gardenal et al., 2011; Tovo et al., 2016).

Apesar da possibilidade de transmissão pelo aleitamento materno, não há evidências conclusivas de aumento de risco à infecção, exceto se houver fissuras ou sangramentos na mama (Gardenal et al., 2011).

1.2.5 Epidemiologia HCV

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que cerca de 71 milhões de pessoas estejam infectadas cronicamente pelo HCV e, portanto, sob risco de desenvolver cirrose ou câncer de fígado. Anualmente, aproximadamente 399 mil pessoas morrem de doenças no fígado em consequência da hepatite C (WHO, 2017a).

A hepatite C é encontrada em todo o mundo e a prevalência da doença é maior em comunidades de países em desenvolvimento. Dependendo do país, a infecção pelo HCV pode estar concentrada em populações específicas, como usuários de drogas injetáveis e/ou na população em geral (Petruzzello et al., 2016; WHO, 2017c).

A prevalência global de HCV é estimada em 2,5%. Ásia Central e África Central têm uma alta prevalência (> 3,5%). Enquanto a Ásia Oriental, Sul e Sudeste Asiático, África Ocidental e Oriental, África do Norte e Oriente Médio, América Latina, América do Sul, Caribe, Austrália e Europa Oriental possuem

prevalência moderada (1,5% - 3,5%). A África do Sul, América do Norte, América Central, Ásia do Pacífico e Europa Ocidental e Central têm baixa prevalência (<1,5%) (Lavanchy, 2009; Mohd Hanafiah et al., 2013; Bruggmann et al., 2014; Petruzzello et al., 2016).

Globalmente, o genótipo 1 é o mais comum, responsável por 49,1% de todas as infecções entre adultos. Seguido pelo genótipo 3 (17,9%), genótipo 4 (16,8%), genótipo 2 (11,0%), genótipo 5 (2,0%) e genótipo 6 (1,4 %). No entanto, a distribuição dos diferentes genótipos do HCV pode apresentar variações regionais, nacionais e locais significativas. As infecções no Caribe, América Latina, América do Norte e Europa são predominantemente causadas pelo genótipo 1 (83,0%, 74,3%, 66,3% e 64,4%, respectivamente). África do Norte e Oriente Médio tem uma grande população de genótipo 4 (65,3%). Na Ásia, os dois genótipos mais comuns são G1 (46,6%) e G3 (22,4%), Na Austrália, o genótipo 1 é mais prevalente (55,0%) em comparação ao genótipo 3 (25,5%) e aos demais (Gower et al., 2014; Petruzzello et al., 2014; Petruzzello et al., 2016).

No Brasil, estudos de base populacional que avaliam a prevalência nacional do HCV são escassos (Pereira et al., 2013). Geralmente, os estudos que estimam a prevalência de HCV consideram áreas geográficas restritas ou populações específicas, consideradas de alto risco para a hepatite C, como usuários de drogas injetáveis, transfusão de sangue antes de 1994, pacientes em hemodiálise e com coagulopatias (Foccacia et al., 1998; Martins et al, 2014; Villar et al, 2015b; Flores et al, 2016).

No inquérito nacional sobre hepatites virais, que considerou todas as capitais brasileiras, realizado pelo Ministério da Saúde, no período de 2005 a 2009, encontrou prevalência global ponderada de 1,38% de anti-HCV, com predomínio da infecção em adultos (20 a 69 anos). Sendo a região Nordeste do país responsável por 0,68% e a região Norte por 2,10% dos casos. Classificando o Brasil como uma área de baixa endemicidade (Pereira et al., 2013).

O Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais (2017), elaborado a partir dos casos de hepatites virais registrados no Sinan, identificou um total de 319.751 casos notificados, com resultado anti-HCV ou HCV RNA reagente no período de 1999 a 2016. Destes, 155.032 casos tiveram ambos os marcadores detectados, sendo distribuídos respectivamente nas regiões Sudeste (64,1%), Sul (24,5%), Nordeste (5,5%), Centro-Oeste (3,3%) e Norte (2,5%) (Brasil, 2017a).

No Brasil, o genótipo 1 (64,9%) é predominante em todo o país, seguido pelo genótipo 3 (30,2%), genótipo 2 (4,6%), genótipo 4 (0,2%) e genótipo 5 (0,1%) (Campiotto et al., 2005; Lampe et al., 2013; Pereira et al., 2013) (Figura 11). Alguns estudos mostraram diferenças na distribuição geográfica dos subgenótipos do HCV nas regiões brasileiras. O Estado de Pernambuco apresentou prevalência do subtipo 1b (42-66,7%), seguido pelo subtipo 3a (16-25,4%), 1a (4-6,3%) e 2b (1-1,6%) (Alvarado-Mora et al., 2012). No Estado de Rondônia o subtipo 1b também foi mais prevalente (50%), seguido pelo subtipo 1a (27,2%), 2b (13,6%) and 3a (9,0%) (Vieira et al., 2011). Enquanto, no Estado do Rio de Janeiro o subtipo 3a (41,6%) era mais frequente, seguido pelo subtipo 1a (30,3%) e 1b (22,7%) (Lampe et al., 2013). No Ceará o genótipo 1 foi o mais prevalente (46,9%), seguido pelo genótipo 3 (34,4%) e 2 (8,3%) (Bezerra et al., 2007).

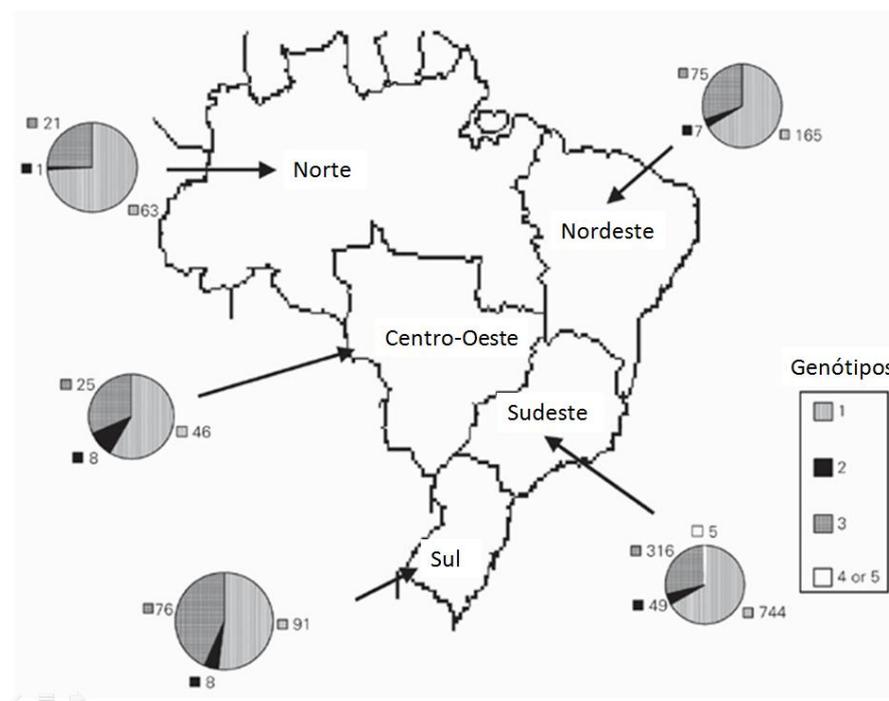


Figura 12: Distribuição dos genótipos do HCV nas regiões brasileiras (Campiotto et al., 2005)

1.2.6 Aspectos clínicos

O HCV possui baixa infectividade e lenta taxa de replicação viral. O período de incubação varia de 15 a 150 dias (média de 50 dias). O HCV pode causar infecções assintomáticas ou sintomáticas. Os sintomas são caracterizados por mal-

estar, cefaleia, febre baixa, anorexia, astenia, fadiga, artralgia, náuseas, vômitos, desconforto no hipocôndrio direito e aversão a alguns alimentos e ao cigarro. Além de icterícia, que pode ser encontrada em aproximadamente 20 a 30% dos casos agudos, e hepatomegalia ou hepatoesplenomegalia (Fecury et al., 2014; Westbrook & Dusheiko, 2014).

A hepatite C pode ser classificada clinicamente como forma aguda ou crônica. De modo geral, a hepatite C aguda apresenta evolução subclínica, com cerca de 80% dos casos assintomáticos e anictéricos, o que dificulta seu diagnóstico. Por outro lado, a forma aguda também pode apresentar sinais clínicos, alterações enzimáticas ou sintomas da doença até um período de 6 meses após a exposição ao HCV. Entretanto, a forma aguda é observada em apenas 20-30% dos indivíduos infectados (Blackard *et al.* 2008; Chalupa et al., 2015).

A maioria dos casos apresenta a forma crônica da doença (70-80%), onde o vírus replica-se persistentemente e é possível detectar o RNA viral no soro ou tecido hepático, na presença de resposta imune (Lemon *et al.* 2007; Blackard *et al.* 2008). Destes, aproximadamente 15 a 20% poderão evoluir para cirrose ao longo dos anos (10 a 30 anos), podendo desenvolver também hepatocarcinoma em 1% a 5% dos cirróticos (Bruijne *et al.* 2009; Chalupa et al., 2015).

A progressão da lesão hepática, da hepatite crônica para cirrose, pode ainda relacionar-se a fatores do hospedeiro, como: sexo, idade, uso de álcool ou coinfeção com outros vírus. O mais importante dos fatores do hospedeiro, parece ser o seu estado imunológico (Plauzolles et al, 2013; Kamal et al., 2014). Assim, uma resposta imunológica vigorosa pode provocar resolução espontânea do HCV em até 20% dos indivíduos, enquanto em pacientes crônicos, ou imunossuprimidos a doença evolui mais rapidamente para cirrose e hepatocarcinoma quando comparada aos imunocompetentes (Plauzolles et al, 2013). Além disso, fatores relacionados ao vírus, como carga viral e genótipos, também podem influenciar na progressão da doença (Tong et al, 2008; Kamal et al., 2014; Fecury et al., 2014; Geller et al., 2016).

1.2.7 Diagnóstico

A descodificação do genoma do HCV permitiu o desenvolvimento de testes de diagnóstico da infecção pelo HCV, que é realizado através de testes de

detecção de anticorpos, antígenos (não estruturais e estruturais) e do genoma viral em amostras de soro ou plasma (Choo et al 1989, Kuo et al 1989).

Além disso, existem os exames laboratoriais inespecíficos, como os testes bioquímicos que são empregados rotineiramente para avaliar os níveis séricos das aminotransferases - alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), que indicam lesão do parênquima hepático (Brasil, 2015c).

Na forma aguda da infecção, essas enzimas podem atingir valores até 25 a 100 vezes acima do normal, embora alguns pacientes com hepatite C apresentem níveis bem mais baixos dessas enzimas. Já na fase crônica, na maioria das vezes, não ultrapassam 15 vezes o valor normal. Enquanto nos indivíduos assintomáticos, serve como um importante parâmetro sugestivo de doença hepática (Brasil, 2015a).

Outros parâmetros bioquímicos inespecíficos também podem auxiliar na avaliação da função hepática, como: dosagem de bilirrubinas (diretas e indiretas), proteínas séricas, fosfatase alcalina, gama-glutamilttransferase (GGT), atividade de protrombina, alfafetoproteínae contagem de leucócitos e plaquetas (Brasil, 2015c).

1.2.7.1 Diagnóstico sorológico

O Diagnóstico sorológico baseia-se na detecção de anticorpos anti-HCV dirigidos contra antígenos virais (não estruturais e estruturais) no soro ou plasma de indivíduos infectados pelo HCV, e podem pertencer a duas categorias: triagem ou complementar/confirmatório. Os testes de triagem são imuno-ensaios que detectam anticorpos anti-HCV de forma genérica, sem a distinção dos antígenos que são reconhecidos (Alter *et al.* 2003; Villar et al., 2015a).

Estes testes podem ser classificados em dois grupos, segundo a forma de detecção: (1) enzimático colorimétrico (conhecido como ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*) e (2) enzimático quimioluminescente (conhecido como CLIA, do inglês *enhanced chemiluminescence immunoassay*). Os testes complementares ou confirmatórios diferenciam os anticorpos presentes no soro/plasma do paciente e atualmente existe apenas um teste comercialmente disponível: imunoblote recombinante, conhecido por RIBA (do inglês *recombinant immunoblot assay*) (Gretch 1997; Richter 2002; Alter *et al.* 2003; Villar et al., 2015a).

O teste ELISA apresenta vantagens como alta sensibilidade, rapidez no processamento, alta confiabilidade, facilidade de automação e custo relativamente baixo. Este método sofreu algumas modificações ao longo do tempo, buscando aperfeiçoar sua capacidade diagnóstica e conseqüentemente o aumento da sensibilidade e da especificidade do ensaio (Chevaliez & Pawlotsky 2006; Villar et al., 2015a).

As quatro gerações de ELISA desenvolvidas até o momento utilizam proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos para a captação do anti-HCV do soro ou do plasma nos poços de microplacas, pela utilização de antígenos específicos (Brandão *et al.*, 2001; Chevaliez & Pawlotsky, 2006; Lambert, 2007). Então, o complexo antígeno-anticorpo é revelado através de reação colorimétrica enzimática, que tem sua leitura em espectrofotômetro. Os resultados são expressos como a razão entre a densidade ótica do teste e a do controle (Chevaliez & Pawlotsky, 2006).

A primeira geração do ELISA, que não é mais utilizada, foi baseada em somente um antígeno, derivado da região NS4, com sensibilidade de 70-80% e baixa especificidade (Aach *et al.*, 1991). Enquanto na segunda geração do ELISA foram incluídas três proteínas recombinantes, duas das regiões não-estruturais NS3 e NS4 e uma da região core, o que levou ao aumento da sensibilidade para cerca de 95% e uma menor taxa de resultados falso-positivos (Aach et al 1991, Alter, 1992). Já o ELISA de terceira geração foi desenvolvido utilizando antígenos recombinantes da região core, NS3, NS4 e NS5 do genoma viral, com sensibilidade superior a 99% (Colin, 2001; Albeldawi et al., 2010). Os testes de quarta geração servem para detecção simultânea de antígenos do HCV e anticorpos anti-HCV em amostras de soro ou plasma (Lambert, 2007).

O teste de CLIA é um imuno-ensaio, que apresenta grande semelhança com o ELISA. Atualmente, o CLIA automatizado está sendo amplamente usado e estão substituindo gradualmente o ELISA, particularmente em laboratórios clínicos com grande volume de amostras. Pois, oferecem vantagens como melhor precisão, confiabilidade, simplicidade técnica, menor tempo de reação e automação completa (Dufour et al., 2003; Cabezas-Fernandez & Cabeza-Barrera 2012).

O resultado anti-HCV positivo detectado pelo ELISA ou CLIA indica que essa pessoa foi previamente exposta ao vírus da hepatite C. Contudo, esse teste não possibilita discriminar se este resultado está relacionado com uma hepatite

aguda ou crônica. Por outro lado, um resultado negativo significa que o indivíduo não tem anticorpos contra o HCV, seja por não ter tido contato prévio com o vírus ou por não ter desenvolvido anticorpos (período da janela imunológica ou imunossupressão) (Gretch 1997; Chevaliez & Pawlotsky, 2006).

O ensaio de RIBA é um teste complementar, de alta especificidade, utilizados na confirmação de resultados positivos ou inconclusivos por ELISA e CLIA para confirmação diagnóstica da infecção pelo HCV em indivíduos com resultados positivos (Uyttendaele et al., 1994; Lok & Gunaratnam, 1997; Souto et al., 2002).

Quando um teste é anti-HCV positivo ou indeterminado é aconselhado à confirmação do diagnóstico através de técnicas moleculares (Brandão *et al.*, 2001). Por isso, a indicação dos testes RIBA tem sido cada vez mais restrita na prática clínica, uma vez que o procedimento mais custo-efetivo é a realização da pesquisa do HCV RNA qualitativo, pois, já confirma a presença do anticorpo como também estabelece a presença de viremia atual (Pawlotski, 2002; Firdaus, 2015; Villar et al., 2015a).

Os métodos sorológicos têm sido aperfeiçoados e consolidados a fim de aumentar o nível de sensibilidade e de confiabilidade dos resultados obtidos e tornar os testes mais rápidos, de mais simples execução e adaptáveis aos processos automatizados. Entretanto, para se garantir a qualidade dos resultados são necessários rigoroso controle e cuidadosa interpretação (Chevaliez & Pawlotsky, 2006).

1.2.7.2 Diagnóstico molecular

Os testes moleculares para a detecção do RNA do HCV são baseados na amplificação de regiões específicas do genoma do vírus, que oferecem uma alternativa para a detecção cada vez mais precoce da infecção pelo HCV e também para a confirmação dos casos anti-HCV reagentes (Ballardini *et al.*, 1997; Chevaliez & Pawlotsky, 2006; Villar et al., 2015a).

Para a detecção do RNA viral pode ser utilizado testes qualitativo ou quantitativo. No qual, os testes qualitativos permitem identificar a presença do HCV no soro ou plasma, ainda no início da infecção, antes da produção de anticorpos e de sua possível identificação por métodos sorológicos. Para o diagnóstico molecular qualitativo pode-se empregar PCR ou TMA, os dois métodos utilizam o

produto da transcrição reversa (Chevaliez & Pawlotsky, 2006; Franciscus & Highleyman, 2014).

Os ensaios comerciais Cobas[®] Amplicor HCV versão 2.0, com limite de detecção de 50 UI/mL (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA, EUA), e Versant[®] HCV RNA ensaio qualitativo (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, EUA), com sensibilidade analítica de 10 IU/ml, são exemplos de ensaios comerciais qualitativos (Firdaus, 2015, Villar et al 2015a).

Os testes quantitativos permitem determinar a quantidade do material genético (carga viral) do HCV presente no sangue do indivíduo infectado, identificação possível a partir do final da 1ª semana após a infecção. Para isso, podem ser utilizadas diferentes técnicas moleculares, como a tr-PCR competitiva, PCR-ELISA quantitativa, PCR em tempo real e técnica de DNA ramificado (bDNA). Estes testes devem apresentar elevada sensibilidade para determinação da carga viral antes e durante o tratamento antiviral, uma vez que são utilizados tanto no diagnóstico quanto no monitoramento da eficácia terapêutica (Ballardini *et al.* 1997; Strauss, 2001; Sunbul, 2014; Villar et al., 2015a)

Os ensaios quantitativos disponíveis comercialmente são: Versant[®] HCV (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, EUA), com limite de detecção entre 615 UI/mL a 8 milhões UI/mL; o COBAS[®] TaqMan HCV Test v2.0 (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA, EUA); e teste Abbott[®] HCV Tempo Real (Abbott Laboratories, Chicago, Illinois, EUA), com faixa de detecção de 12 UI/mL a 100 milhões UI/mL (Firdaus, 2015, Villar et al 2015a).

O uso de testes de PCR em tempo real é preconizado pelo ministério da saúde por apresentarem vantagens significativas em relação à técnica convencional de PCR e as demais técnicas, devido à possibilidade de quantificação da carga viral, a praticidade, a redução no tempo de execução do ensaio e de manipulação de reagentes e produtos de PCR e, conseqüentemente, reduzida possibilidade de contaminações (Chevaliez et al., 2012; Brasil, 2015a).

A identificação dos genótipos do HCV apresenta implicação prognóstica e terapêutica, determinando o esquema e a duração do tratamento (Ghany et al., 2009; Sunbul, 2014).

Diferentes ensaios para a genotipagem do HCV são usados para determinar o genótipo infectante, tais como, método de sequenciamento ou hibridação. A maioria dos ensaios de genotipagem utiliza a amplificação da região específica do

genoma viral por PCR seguido de sequenciamento direto do DNA complementar (cDNA). Enquanto uma variedade de técnicas é usada, o padrão-ouro para a genotipagem do HCV é o sequenciamento de nucleotídeos, o que pode ser feito usando regiões do núcleo (C), envelope (E1) ou não-estrutural (NS5B) que podem ser amplificadas por transcrição reversa seguido pela reação em cadeia da polimerase (Casanova et al., 2014; Firdaus et al., 2015; Villar et al., 2015a).

Os primeiros ensaios comerciais para a genotipagem do HCV avaliavam exclusivamente a região não codificante (5'NC), que tem uma proporção elevada de erros de classificação, particularmente no nível do subtipo. Atualmente, testes comerciais analisam as regiões de codificação, especialmente a proteína não-estrutural NS5B e a proteína do núcleo (Firdaus et al., 2015; Villar et al., 2015a).

A PCR em tempo real utiliza a tecnologia TaqMan para determina o genótipo e subtipo viral das amostras infectadas. A técnica de tamanho de polimorfismo de enzimas de restrição (RFLP) é uma técnica útil para a genotipagem do HCV em diferentes grupos, uma vez que apresenta baixo custo comparado aos outros métodos comerciais. Mas o sequenciamento direto é o padrão-ouro para determinação de genótipos e subtipos de HCV (Chevaliez & Pawlotsky, 2006; Chevaliez et al., 2012; Franciscus & Highleyman, 2014; Casanova et al., 2014; Firdaus et al., 2015).

1.2.7.3 Utilização de Testes rápidos

Atualmente, vários testes rápidos para detecção de anticorpos anti-HCV estão comercialmente disponíveis e vêm sendo introduzidos como uma ferramenta alternativa para o diagnóstico da hepatite C (Khuroo et al., 2015).

O teste baseia-se no princípio da reação antígeno-anticorpo onde o antígeno encontra-se fixado na linha T do teste e os anticorpos anti-HCV na amostra do paciente, caso tenha tido contato prévio com o HCV. A linha T do teste apresenta uma combinação de antígenos (core, NS3, NS4 e NS5) que pode variar de acordo com o fabricante (Shivkumar et al. 2012). Com a adição da amostra com presença de anticorpos anti-HCV, este reage com o conjugado (proteína A) e migra até a linha T do teste onde se ligará aos antígenos fixados, produzindo cor rosa (Figura 12).

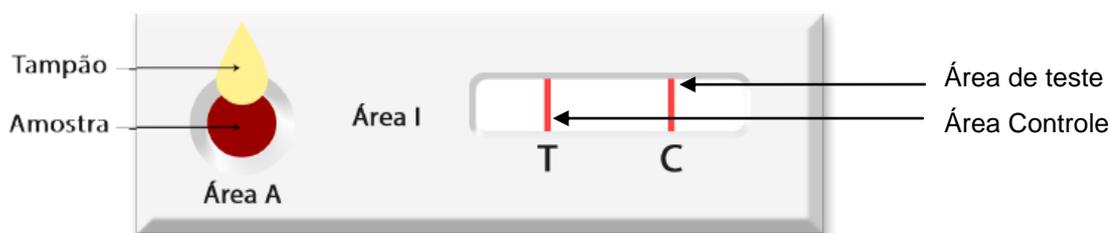


Figura 13: Representação esquemática do teste rápido de fluxo lateral

Fonte: <http://www.telelab.aids.gov.br/index.php/component/k2/item/109>

Os testes de diagnóstico rápido são ferramentas úteis para triagem de indivíduos infectados, principalmente quando há urgência no resultado. Sua importância se dá pela facilidade de uso, a rapidez, e altas probabilidades de correta classificação quando há presença de infecção pelo HCV em comparação ao teste padrão. Estudos demonstraram bom desempenho dos testes rápidos para hepatite C na população em geral, com sensibilidade de 70,3% a 93,84% e especificidade de 93,75% a 100% (Kim *et al.* 2013; Rosa *et al.*, 2013; Tagny *et al.* 2014; Scalioni *et al.* 2014).

O fluxograma de triagem da infecção pelo HCV por meio de testes rápidos, é indicado para ampliar o acesso ao diagnóstico da infecção pelo HCV, conforme ilustrado a seguir (Brasil, 2015a; 2015d).

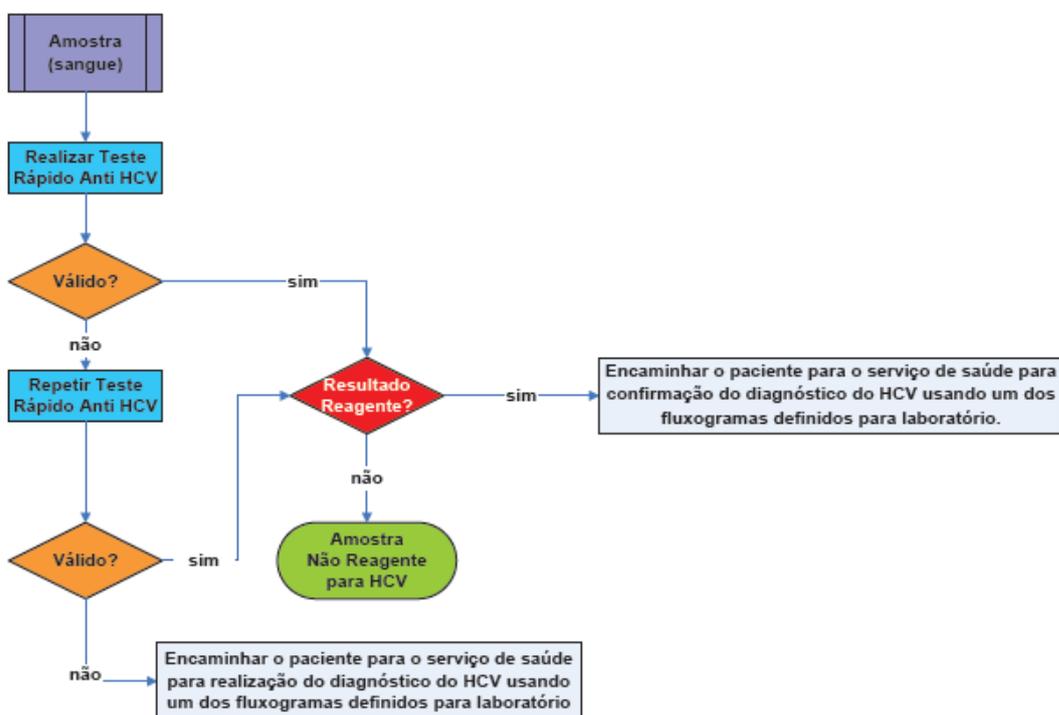


Figura 14: Fluxograma de triagem da infecção pelo vírus da hepatite C por meio de testes rápidos

(Fonte: Brasil, 2015a. Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais)

Quando um resultado for reagente pelo teste rápido é necessário confirmar a presença de infecção ativa por meio de testes moleculares ou de antígeno, visto que este fluxograma indica contato prévio com o HCV. Entretanto, em caso de resultado não reagente e permanência da suspeita de infecção, após 30 dias coletar uma nova amostra para repetir o teste (Brasil, 2015a).

Importante destacar que esse fluxograma pode ser utilizado em gestantes. Mas, não é indicado para indivíduos menores de 18 anos e/ou imunossuprimidos, uma vez que esses testes detectam anticorpos do HCV.

1.2.8 Prevenção

Ainda não existe vacina disponível para prevenção da hepatite C. Por isso, deve-se evitar a transmissão do HCV através da eliminação dos comportamentos de risco, como a exposição percutânea a sangue contaminado com esse vírus, que é um dos principais modos de transmissão. Além do não compartilhamento de seringas e agulhas, objetos perfurocortantes como lâminas de barbear, alicate de unha e outros, que contribuirão com a redução das taxas de infecção (Klevens et al, 2012; Hagan & Schinazi, 2013).

Apesar da transmissão sexual do HCV ainda ser controversa, principalmente entre casais heterossexuais e monogâmicos, o uso de preservativos e práticas sexuais seguras são aconselhadas para a prevenção da transmissão do HCV (Russell et al, 2009; Hagan & Schinazi, 2013).

O cumprimento das normas sanitárias e de biossegurança nos estabelecimentos de saúde, salões de beleza e em lojas de tatuagem e *piercing* são essenciais para prevenção da hepatite C e de outras infecções (Klevens et al, 2012; Villar et al., 2014). Após a adoção dos testes de triagem anti-HCV em doadores de sangue em 1993 e, recentemente a inclusão de Teste de Ácido Nucleico (Nat) em bancos de sangue públicos e privados do país, foi responsável por uma significativa redução do risco de infecção desse vírus por transfusão sanguínea, que está em torno de 0,001% por unidade de sangue transfundida (Martins et al., 2011; Villar et al., 2014).

Portanto, para erradicar o HCV, a transmissão deve ser eliminada de três modos: triagem de casos de HCV e consequente conscientização destes indivíduos

para que evitem a infecção de outros indivíduos, tratamento dos indivíduos positivos e mudança de política e comportamento para prevenir novas infecções e reinfecções (Hagan & schinazi, 2013; WHO, 2017c).

O principal objetivo do tratamento da hepatite C é a erradicação do vírus. De modo a aumentar a expectativa e a qualidade de vida do indivíduo infectado, diminuindo a incidência de complicações hepáticas crônicas e redução da transmissão do HCV (Corey *et al.*, 2010; Brasil, 2015c). Constatando a erradicação do vírus por meio da Resposta Viroológica Sustentada (RVS), caracterizada pelo resultado de HCV-RNA indetectável na 12^a ou 24^a semana após o início tratamento, conforme o regime terapêutico estabelecido (Brasil, 2015c; EASL, 2017b).

No entanto, antes de indicar o tratamento deve se avaliar o grau de acometimento hepático, parâmetros virológicos basais e presença de comorbidades, como a síndrome metabólica, a obesidade, o etilismo e a coinfeção por HIV (Collazo *et al.*, 2011; Brasil 2015c). A caracterização genotípica complementa a avaliação clínico-laboratorial na definição da estratégia para o tratamento da hepatite C crônica (Germer *et al.*, 1999; EASL, 2017b).

1.3 Populações vulneráveis às infecções pelo HBV e HCV

Apesar de todas as pessoas estarem vulneráveis a contrair hepatites virais, do tipo B e C, algumas populações apresentam uma exposição maior e um risco aumentado em relação à população geral, tais como (PAHO, 2017):

- Pessoas com doenças sexualmente transmissíveis (DST);
- Militares, policiais e profissionais do sistema carcerário;
- Coletores de lixo hospitalar e domiciliar;
- Comunicantes sexuais de portadores de hepatite B e C;
- Doadores de sangue;
- Lésbicas, gays, bissexuais, travestis e transexuais;
- Pessoas institucionalizadas;
- Manicures, pedicures e podólogos;
- Populações de assentamentos e acampamentos;
- Populações indígenas;

- Receptores de transfusão de sangue (principalmente antes de 1993);
- Profissionais do sexo;
- Usuários de drogas ilícitas
- Caminhoneiros.

Por isso, as campanhas de conscientização e testagem têm esses grupos como alvos. Além destes grupos, as gestantes também devem ser testadas, visando impedir a transmissão vertical, principalmente da Hepatite B.

Portanto, recomenda-se que os grupos populacionais mencionados sejam prioritariamente testados, objetivando a ampliação do acesso ao diagnóstico e ao tratamento da hepatite B e C em todo o território nacional (Brasil, 2017a).

Dentre esses grupos populacionais de maior vulnerabilidade às infecções por HBV e HCV, há aqueles que possuem taxas de prevalência e riscos ainda mais elevados para contração dessas infecções, são eles os indivíduos infectados pelo HIV, doentes renais crônicos em hemodiálise e indivíduos portadores de coagulopatia, especialmente os hemofílicos e com Doença de Von Willebrand (Edey et al., 2010; Lacombe & Rockstroh, 2012; Brasil, 2017a).

1.3.1 Coinfecções: HIV/HBV e HIV/HCV

A prevalência de infecção por HBV e HCV é maior entre os indivíduos infectados com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em comparação com a população geral. Pois, esses vírus compartilham as principais vias de transmissão, especialmente a via parenteral, sexual e perinatal, apesar dessas últimas duas vias estarem pouco envolvidas na transmissão do HCV. Devido a esses modos compartilhados de transmissão, as pessoas em risco de infecção pelo HIV também estão em risco de infecção pelo HBV e HCV (Hoffmann et al., 2012; Kretzer et al., 2014; WHO, 2017b).

Em todo o mundo, estima-se que em torno de 36,7 milhões de pessoas viviam com HIV no final de 2015. Das quais, a prevalência global de coinfecção do HIV/HBV é de 7,4% e da coinfecção do HIV/HCV é de 6,2% (WHO, 2017b). Estudos mostram que a probabilidade de infecção pelo HCV é seis vezes maior em pessoas vivendo com HIV do que na população geral (Platt et al., 2016).

A prevalência e a via de transmissão do HBV na população infectada pelo HIV variam conforme as regiões geográficas. Em regiões endêmicas, como a África

e Ásia que a prevalência é de 10%, a maioria da transmissão do HBV ocorre de mãe para filho no nascimento ou antes de completar os 5 anos de idade devido o contato intradomiciliar, procedimentos médicos ou escarificações (Modi & Feld, 2007; Lacombe & Rockstroh, 2012; Utsumi & Lusida, 2015). Já na Europa Ocidental e Estados Unidos da América (EUA), a prevalência global é de 6%, onde a maioria das coinfeções HIV/HBV pode ser localizada em homens que fazem sexo com homens (Konopnicki et al., 2005; Soriano et al., 2010; Sun *et al.*, 2014).

Enquanto, a transmissão do HCV é altamente eficaz através do contato com sangue contaminado, a prevalência de coinfeção HIV/HCV em diferentes países, regiões e populações está intimamente relacionada com a prevalência de uso de drogas intravenosa (Utsumi & Lusida, 2015). Por isso, na Europa, Austrália e EUA, cerca de 25% da população está coinfectada HIV/HCV (Rockstroh & Spengler, 2004). Enquanto, taxas de coinfeção HIV/HCV (70%) ainda mais elevadas foram observadas em países da Europa Oriental, como a Ucrânia e a Rússia, onde o uso de drogas injetáveis é a principal via de transmissão do HIV (Soriano et al., 2008).

No Brasil, existem diferentes valores de prevalência de coinfeção do HIV com HBV e HCV e um número significativo de indivíduos coinfectados assintomáticos, levando a um diagnóstico tardio e subnotificação dos casos (Farias et al., 2012; Oliveira et al., 2014).

Nos estudos brasileiros, a prevalência de HIV/HBV varia de 2,8% a 10,3%, enquanto a coinfeção de HIV/HCV varia de 4,6% a 13,6% (Farias et al., 2012; Távora et al., 2013; Flores et al., 2016), de acordo com a região do país (Oliveira et al., 2014). Nos estados de Goiás, Ceará, São Paulo e Porto Alegre foram encontrados, respectivamente, 3,8%, 3,7%, 2,8% e 4,2% de prevalência de infecção por HBV (HBsAg) na população vivendo com HIV/Aids. Enquanto a prevalência de infecção por HCV (anti-HCV) foi 9,7%, 5,4%, 6,4% e 13,6% nos mesmos estados (Farias et al., 2012; Távora et al., 2013; Brandão et al., 2015; Brasil, 2017a).

Segundo o boletim epidemiológico das hepatites virais (2017), foram observadas taxas de coinfeção HIV/HBV de 5,2% e HIV/HCV de 9,8% no período de 2007 a 2016. A proporção de indivíduos coinfectados variou segundo as regiões; onde a coinfeção HIV/HBV foi mais prevalente no Sudeste (8,1%) seguida pelas regiões Nordeste (4,3%); Sul (4,1%), Centro-Oeste (3,9%) e Norte (2,0%). Em relação a coinfeção HIV/HCV, a maior proporção de indivíduos

coinfectados foi relatada na região Sul (13,2%) seguido pelas regiões Sudeste (9,5%); Centro-Oeste (7,8%), Nordeste (3,8%) e Norte (2,7%) (Brasil, 2017a).

Sabe-se que o HIV acelera a evolução da lesão hepática causada pelo HBV e HCV, especialmente em pacientes com maior imunodeficiência, levando ao aumento da morbidade e mortalidade (Joshi et al., 2011; Utsumi & Lusida, 2015). Geralmente o quadro clínico dos indivíduos coinfectados HIV/HBV e HIV/HCV pode ser ainda mais grave devido a interação desses vírus, acelerando a atividade necroinflamatória e progressão para doença hepática grave. Sendo o risco de mortalidade por doenças do fígado 2-3 vezes maior entre os coinfectados do que os pacientes mono infectados (Lacombe & Rockstroh, 2012).

A história natural da infecção pelo HBV é alterada pelo HIV, pois, indivíduos coinfectado HIV/HBV tem cinco a seis vezes mais chance de se tornarem portadores crônicos do HBV do que os indivíduos mono infectados com HBV (Lok & McMahon, 2009; Coffin et al., 2012). O HIV aumenta a replicação do HBV, pois, indivíduos soropositivos para o HIV têm imunidade celular diminuída, possibilitando o aumento da replicação e variação na virulência do HBV. Conseqüentemente, levando à forma mais grave de doença hepática (Lok & McMahon, 2009; Coffin et al., 2012).

Esses indivíduos tendem a evoluir com menores taxas de soroconversão espontânea do HBeAg para anti-HBe e HBsAg para anti-HBs – e apresentam altas taxas de replicação viral (Lok & McMahon, 2009). Formas mais graves de doença hepática também tem sido associadas a síndrome de reconstituição imune após a terapia antirretroviral (TARV), ocasionando piora nas provas de função hepática, possivelmente decorrente do aumento da atividade necroinflamatória (Drake et al., 2004; Coffin et al., 2012; EASL, 2017a).

Em relação a infecção do HCV em portadores do HIV, pouco se sabe sobre os efeitos adicionais da presença do HCV, apesar de existir estudos que comprovam a contribuição do HIV na progressão da infecção pelo HCV, que evolui mais rápido para cirrose (Brasil, 2015c). Estudos recentes sugerem que o HCV possa ser um cofator para a evolução da infecção do HIV, acelerando a queda das células CD4 (Hoffmann et al., 2012). O HCV induz células CD4 a se proliferarem no tecido hepático, podendo levar a facilitação da replicação do HIV, especialmente nos pacientes com altos títulos de HCV. Além disso, a interação do HCV com o HIV interfere também na produção de citocinas celulares levando ao aumento dos

níveis dos dois vírus. Por isso, devem ser levados em consideração no suporte clínico desses pacientes, os aspectos quanto ao tipo de tratamento e progressão para fibrose (Franco et al., 2014; Hoffmann et al., 2012).

Por esse motivo, o diagnóstico precoce de infecção por HBV e HCV é importante, principalmente entre indivíduos infectados com HIV, uma vez que a coinfeção pode afetar o prognóstico da doença, a definição de tratamento e, conseqüentemente, o resultado da terapia (Lacombe & Rockstroh, 2012; Távora et al., 2013).

Desde 2015, a OMS recomendou o tratamento para todos com diagnóstico de infecção pelo HIV, independentemente do estágio da doença. No entanto, quando há presença de coinfeção com HBV, o TARV pode ser muito desafiador. Visto que, os indivíduos infectados pelo HIV geralmente são menos sensíveis ao tratamento para o HBV, além de aumentar o risco de hepatotoxicidade e interações medicamentosas, como é o exemplo do uso de alfainterferon, que está contraindicado nessa situação (Matthews et al., 2014). No entanto, os medicamentos ativos contra o HIV e o HBV podem permitir a simplificação do regime de tratamento, como é o caso do tenofovir, considerado como primeira escolha no tratamento recomendado contra a coinfeção HIV/HBV (Agyeman & Ofori-Asenso, 2016; Brasil, 2017b).

Pacientes portadores de coinfeção HIV/HCV devem ser priorizados para receber um regime de tratamento compatível com sua terapia antirretroviral. (Sulkowski et al., 2014; EASL, 2017b).

A administração de TARV demonstrou diminuição na progressão da fibrose e na mortalidade associada à doença hepática (Qurishi et al., 2003). Por isso, na maioria das diretrizes, a coinfeção por HBV ou HCV representa uma comorbidade na qual o início do tratamento do HIV é recomendado (Brasil, 2017b).

1.3.2 Portadores de doença renal crônica (DRC) em hemodiálise e as infecções com HBV e HCV

Os pacientes portadores de DRC em hemodiálise são considerados de alto risco de adquirir infecção por HBV e HCV, comparados à população em geral. Pois, a exposição frequente ao sangue, à contaminação nosocomial, repetidas transfusões de sangue, transplante de órgãos e tempo em hemodiálise que esta

população está submetida contribui com o risco aumentado de infecção por HBV e HCV. Visto que, a exposição parenteral é a principal via de transmissão desses vírus, que ocorre durante o tratamento de hemodiálise (Edey et al., 2010; Carvalho-Filho et al., 2015).

Doença renal crônica afeta cerca de 10% da população mundial, independente da idade e raça (Brasil, 2015d). Estima-se que haja aproximadamente 112.000 pessoas em diálise no Brasil em 2014 e a prevalência de testes sorológicos positivos para HBsAg e anti-HCV mostrou-se estável nos últimos anos, com 1,4% e 4,2%, respectivamente (Sesso et al., 2014). Moreira e colaboradores (2010) demonstraram altas prevalências de HBsAg nos serviços de diálise analisados, de diferentes Estados do país, sendo 15,4% em São Paulo (Moreira et al., 2010), 3,3% em Recife (Albuquerque et al., 2009), 10% em Santa Catarina (Carrilho et al., 2004) e 5,5% em Campinas (Marquesini et al., 2008). Enquanto a prevalência de anti-HCV foi de 6,4%, 13,9%, 14,8% e 52% em Campinas, Manaus, Juiz de Fora e Fortaleza, respectivamente (Medeiros et al., 2004; Marquesini et al., 2008; Maia et al., 2009).

A incidência de infecções pelo HBV e HCV em populações em diálise diminuiu nas últimas décadas, principalmente devido a melhorias no controle de infecções e na implementação da vacinação contra o HBV. Independentemente disso, surtos de infecção continuam a ocorrer em unidades de diálise, e as taxas de prevalência continuam inaceitavelmente altas. Por várias razões, os pacientes em diálise correm maior risco de adquirir esses vírus (Edey et al., 2010). Portanto, os surtos decorrentes dessas infecções em pacientes DRC ainda são uma importante preocupação de saúde pública, tanto de países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. Estudos revelaram diferentes taxas de infecção por esses vírus, geralmente influenciadas pela estrutura organizacional ou processo de trabalho dos centros de hemodiálise, assim como a frequência na higiene e esterilização dos equipamentos e sala de diálise, a distribuição dos pacientes e dos trabalhadores de saúde na sala de diálise e quantidade de reutilização dos capilares. Evidenciando assim, falhas no cumprimento das normas sanitárias estabelecidas para unidades de hemodiálise (Carrilho et al 2004; Santos e Souto 2007; Moreira et al 2010; Chang et al 2014; Fabrizi et al., 2015; Fabrizi e Messa, 2015)

A história natural da infecção por HBV nos pacientes DRC em hemodiálise possui alguns aspectos peculiares. A progressão para a cronicidade ocorre em

cerca de 60% dos casos devido ao efeito imunossupressor da insuficiência renal. A maioria dos pacientes em hemodiálise com infecção crônica pelo HBV possui HBeAg negativo, embora não indique, necessariamente, a ausência de replicação viral. Por isso, torna-se fundamental a avaliação da replicação viral e do grau de acometimento hepático nesses pacientes, na tentativa de prevenir ou minimizar as consequências da infecção pelo HBV. Além disso, o curso clínico da doença pode variar de acordo com o momento de infecção e genótipo do vírus. Geralmente, a maioria dos pacientes recentemente infectados por HBV e submetidos à diálise apresentaram um curso clínico relativamente leve e frequentemente assintomático, com níveis de transaminases séricas normais ou ligeiramente elevadas (Edey et al., 2010; Fabrizi e Messa, 2015).

A história natural da infecção pelo HCV em DRC não é totalmente compreendida, apesar da evidência de que a infecção por HCV interfere negativamente na sobrevivência desses pacientes e aqueles submetidos a transplante renal. Os pacientes em hemodiálise apresentam uma doença hepática mais leve com níveis menores de aminotransferase e carga viral, representados por características histológicas mais leves na biópsia hepática. Além disso, o curso clínico assintomático é consistente com uma progressão da doença mais lenta e uma menor frequência de cirrose e carcinoma hepatocelular (Marinaki et al., 2015). Entretanto, a imunossupressão leva a uma resposta do hospedeiro menos agressiva ao vírus e à liberação intradialítica de citocinas "hepatoprotetoras" como o interferon (IFN)- α e o fator de crescimento de hepatócitos, associando assim a hepatite C crônica a uma maior mortalidade cardiovascular e à maior progressão da doença renal em pacientes DRC (Wong et al., 2005; Oliveira et al., 2009).

O diagnóstico da hepatite B e C em pacientes DR é dificultado em razão do quadro clínico inespecífico, semelhante aos sintomas de uremia, dos níveis normais ou flutuantes de ALT, baixa viremia observada nesses pacientes e, conseqüentemente, maior chance de testes sorológicos com resultado falso-negativo (Alter et al., 2003; Sharif et al., 2015). Por isso, atualmente o teste HBsAg e anti-HCV são realizados a cada seis meses nas clínicas de diálise para monitorar a ocorrência de novas infecções, sendo confirmado por testes de biologia molecular (Wong et al., 2005; Oliveira et al., 2009).

Os pacientes com DRC avançada apresentam comprometimento geral da resposta imune. Os pacientes urêmicos produzem títulos baixos de anticorpos

neutralizantes contra antígenos de superfície, aumentando os riscos de infecções pelos vírus da hepatite B e C, fato que pode explicar resultados de exames soronegativos (Alter et al., 2003; Sharif et al., 2015). Por isso, o diagnóstico precoce da infecção pelo HBV e HCV tem, como principais vantagens, a instituição do tratamento na fase aguda da doença, aumentando as chances de resposta terapêutica, e a identificação precoce dos pacientes recém-infectados, permitindo a adoção de medidas que visam controlar a propagação dessas infecções nas unidades de diálise (Alter et al., 2003; Wong et al., 2005).

O tratamento de pacientes portadores de DRC e infectados por HBV ou HCV está indicado, desde que haja ajuste de dose ou usados com precaução por esse grupo. No caso do HCV, a terapia está indicada aos pacientes não tratados anteriormente com daclatasvir, simeprevir ou sofosbuvir, e que apresentem resultados de exame indicando fibrose hepática avançada (METAVIR F3 ou F4) (EASL, 2017b). Já no caso de tratamento da hepatite B, há três antivirais disponíveis (tenofovir, entecavir e tenofovir), porém o tenofovir é contraindicado para os portadores de DRC. Além disso, a função renal deve ser acompanhada durante o tratamento antiviral para identificar uma possível necessidade de mudança de tratamento ou de um novo ajuste de dose (EASL, 2017a).

1.3.3 Portadores de coagulopatia (hemofilia e Doença de Von Willebrand) e as infecções com HBV e HCV.

As coagulopatias hereditárias, como a hemofilia (tipo A e B) e a Doença de Von Willebrand (DVW), são doenças hemorrágicas resultantes da deficiência quantitativa e/ou qualitativa de proteínas plasmáticas da coagulação, implicando na redução da formação de trombina que é um fator fundamental para a coagulação do sangue. A hemofilia, do tipo A – possui deficiência do fator VIII e do tipo B – possui deficiência do fator IX da coagulação, é uma doença genética ligada ao cromossomo X e acomete quase exclusivamente indivíduos do sexo masculino. Já a DVW ocorre devido a mutação no cromossomo 12, caracterizada por deficiência qualitativa ou quantitativa do fator de Von Willebrand de coagulação, e acomete indivíduos de ambos os sexos (Brasil, 2006; Federici et al., 2006).

Estima-se que, na população mundial, a hemofilia afeta 1 em cada 10.000 recém-nascidos, sendo classificada como doença rara. Enquanto a DVW atinge de

0,8% a 2% da população. No Brasil, em 2015 o número de pacientes com coagulopatias hereditárias era de 22.932, dos quais a hemofilia A era de 9.908 (43,21%), a hemofilia B era de 1.948 (8,49%) e a DVW de 7.220 (31,48%) do total de portadores de coagulopatia hereditária (Rezende et al., 2009; Brasil 2017).

O tratamento das coagulopatias baseia-se na reposição do fator de coagulação deficiente, quando houver manifestações hemorrágicas ou como profilaxia primária. No tratamento das hemofilias A e B, bem como da DVW, devem ser empregados os concentrados de fator VIII, fator IX e fator Von Willebrand, respectivamente. Esta terapia aumenta a sobrevida desses pacientes e apresenta sucesso também na prevenção das diferentes manifestações hemorrágicas, como: Na hemofilia - hemartroses, artropatia hemofílica crônica, hematoma, hematúria, sangramento gastrointestinal e pseudotumor hemofílico ou cistos hemorrágicos. Na DVW - os episódios hemorrágicos mais característicos são os sangramentos de mucosas, como epistaxes, gengivorragias e menometrorragias (Mannucci et al., 2001; Brasil, 2006).

No entanto, o grande inconveniente destas terapias é que os fatores de coagulação eram feitos de plasma humano congelado, conhecido como crioprecipitado. Essa técnica gerava a possibilidade de infecção por microorganismos veiculados pelo sangue, como o HBV e HCV, por exemplo. Mas a partir de 2002, através da Resolução RDC n.º 23 publicada em 24 de janeiro de 2002, o Ministério da Saúde proibiu a utilização de crioprecipitado para terapia de reposição em hemofílicos e portadores de DVW, exceto em situação de inexistência de concentrados sintéticos. As opções de tratamento das coagulopatias têm evoluído rapidamente nos últimos anos, proporcionando maior segurança aos pacientes que necessitam de terapia de reposição. Como foi o caso da fabricação dos fatores de coagulação sintéticos pela indústria farmacêutica, a qual emprega técnicas de biologia molecular e de purificação para a fabricação dos concentrados recombinantes (Brasil, 2006; Pimentel, 2006; Federici et al., 2006).

Apesar desses avanços, a transfusão sanguínea continua sendo a principal terapia. Antes dos anos 90, o risco de contaminação por doenças veiculadas pelo sangue era muito grande, mas a partir de 1993, através da Portaria N.º. 1.376 de 19 de novembro de 1993 (Brasil, 1993), testes laboratoriais (entre eles o teste de hepatite C – anti-HCV) passaram a ser obrigatórios em bancos de sangue e com isso diminuiu significativamente este risco. Inclusive, atualmente são poucos os

casos relatados de infecções derivadas de transfusões. Mas antes disso, um grande número de indivíduos portadores de coagulopatia foi contaminado com sangue infectado, sendo o HCV um dos principais agentes infecciosos, pois, não havia sido implantado nos bancos de sangue teste diagnóstico para este vírus (Brasil, 2006; Pimentel, 2006).

Portanto, os portadores de coagulopatia com idade acima de 20 anos, que receberam fatores de coagulação ou transfusões sanguíneas antes de 1993, possuem uma probabilidade maior de infecção pelo HCV e HBV, entre outros agentes infecciosos (Pimentel, 2009). No caso do Brasil, a prevalência de infecção por HBV varia de 0,7% a 2,3%, enquanto a infecção pelo HCV varia de 2,5% a 34,9% nos portadores de coagulopatia, de forma geral (Rezende et al., 2009; Ferreira et al., 2014; Brasil, 2015b).

Mas um inquérito nacional sobre as características dos pacientes com coagulopatias hereditárias no Brasil, revelou que entre aqueles portadores de hemofilia A, hemofilia B e DVW a prevalência de sorologia positiva para hepatite B (HBsAg) foi de 0,98%, 0,90% e 0,35%, respectivamente. Enquanto a sorologia para hepatite C (anti-HCV) apresentou prevalência de 4,06%, 4,63% e 0,76%, respectivamente (Rezende et al., 2009; Ferreira et al., 2014)

Vários estudos têm demonstrado que o curso natural da infecção pelo HCV, em pacientes hemofílicos é similar aos pacientes sem hemofilia, entretanto, são poucos os dados na literatura que mostram a resposta imunológica contra o HCV e HBV nos pacientes portadores de coagulopatia (Federici et al., 2006; Franchini et al., 2006; Pimentel, 2006). Além disso, estudos que avaliam a associação da resposta imune humoral e celular, carga viral do HCV e as concentrações de transaminases (AST e ALT) nessa população infectada pelo HCV não observaram perfil diferente entre infectados pelo HCV e os não infectados (Pimentel, 2006). Hemofílicos infectados com HCV têm apresentado uma progressão lenta de doença hepática, com a minoria dos casos evoluindo para uma doença hepática e hepatocarcinoma em estágio final. Mas por outro lado, uma porcentagem significativa de hemofílicos infectados com HCV também foram coinfectados com o HIV, que pode acelerar a progressão da doença hepática (Castro et al., 2014).

Quanto ao tratamento da hepatite C nessa população, seu objetivo é interromper a infecção crônica para prevenir a progressão da hepatite para cirrose, descompensação hepática e câncer. Estudos com os esquemas terapêuticos

anteriores não mostraram resposta adequada aos medicamentos. No entanto, o tratamento atual do HCV, tem se mostrado altamente eficaz e com o surgimento de novos agentes antivirais, sem interferon e geralmente com terapias de uso oral e diário, durante 8 a 12 semanas. Alcançando resposta viral sustentada em mais de 95% e com praticamente nenhum efeito colateral, como vem mostrando a maioria dos estudos sobre o tratamento do HCV nessa população (Lee, 2015; Makris & Konkle, 2017). Mas para o tratamento das hepatites virais nesse grupo, deve ser criteriosamente avaliado pelo médico especialista, considerando também a existência de outras comorbidades, além do perfil virológico dessas infecções e existência/extensão do dano hepático (Castro et al., 2014).

2 JUSTIFICATIVA

O diagnóstico precoce da infecção pelo HBV e HCV é de suma importância, principalmente nas populações mais vulneráveis. Mas para isso, os testes diagnósticos disponíveis devem oferecer boa acurácia, com capacidade de detectar os indivíduos verdadeiramente infectados.

Estudos brasileiros para identificar a prevalência de infecção por HBV e HCV são comuns na população em geral, principalmente na região sudeste do país (Pereira et al., 2009; Marques et al., 2011; Melo et al., 2015; Villar et al., 2015b; Ximenes et al., 2015), mas dados semelhantes ainda são escassos na região nordeste, especialmente entre os indivíduos HIV-positivo, pacientes com DRC em hemodiálise e pacientes com coagulopatia hereditária. Visando a realização de diagnóstico precoce a fim de tratar e prevenir a transmissão dessas infecções e, consequentemente, prevenir a progressão de dano hepático.

O diagnóstico do HBV e HCV é comumente feito pelo método ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), um ensaio imunoenzimático que se baseia nas reações antígeno-anticorpo detectáveis através de reações enzimáticas com o soro do paciente. No entanto, para a execução desses ensaios é necessário profissional especializado e infraestrutura laboratorial. Enquanto, os testes de diagnóstico rápido são ferramentas úteis para o diagnóstico de HBV e HCV, uma vez que, possuem baixo custo, podem ser armazenados em temperatura ambiente, realizados por qualquer profissional treinado, são de execução rápida e simples, o que os tornam adequados para situações de emergência e em áreas remotas e sem infraestrutura.

Estudos demonstraram bom desempenho dos testes rápidos para hepatite B e C na população em geral (Randrianirina et al, 2008; Bottero et al, 2013; Kim et al, 2013). Entretanto, ainda existem poucos dados do desempenho desses testes em grupos de indivíduos HIV-positivo, DRC e portador de coagulopatia. De forma que avalie a influência do HIV no desempenho desses ensaios, bem como, a interferência do tratamento de hemodiálise e a terapia de reposição do fator de coagulação.

Diante disso, destaca-se a importância de determinar a eficiência dos testes rápidos para HBV e HCV também nesses grupos populacionais. Pois, estes dados poderão ampliar o acesso ao diagnóstico precoce, com menor custo, à esses

indivíduos. Assim, o presente estudo objetivou avaliar a prevalência e o desempenho de testes rápidos para detecção de marcadores da infecção pelos vírus das hepatites B e C em indivíduos com maior vulnerabilidade para aquisição destas infecções, a fim de fornecer subsídios para definição de políticas e protocolos de diagnóstico das hepatites B e C.

Para esse estudo, a população amostral foi selecionada nos serviços de saúde do estado do Rio de Janeiro e do Ceará, sendo o grupo de pacientes HIV recrutados em ambulatórios de HIV/Aids do Rio de Janeiro-RJ e Fortaleza-CE; o grupo de pacientes hemodialisados recrutados em três clínicas privadas de diálise do Rio de Janeiro-RJ, Queimados-RJ e Fortaleza-CE; o grupo de pacientes coagulopatas (hemofilia ou doença de Von Willebrand) foram recrutados no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, localizado em Fortaleza-CE.

As amostras foram selecionadas nesses locais e serviços de saúde por serem referência para tratamento e acompanhamento das referidas populações. Além disso, a escolha de dois Estados tão distintos, um da região sudeste e outro da região nordeste, foi para observar/comparar os perfis epidemiológicos das infecções pelo HBV e HCV. Além disso, avaliar o desempenho de testes rápidos para detecção desses vírus em estudo de campo com tais populações de maior vulnerabilidade.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a prevalência e avaliar o desempenho de testes rápidos para detecção de marcadores da infecção pelos vírus das hepatites B e C em indivíduos com maior vulnerabilidade para aquisição dessas infecções, a fim de fornecer subsídios para definição de políticas públicas de diagnóstico das hepatites B e C.

3.2 Objetivos Específicos

- Investigar a prevalência de infecção pelo HBV e HCV em indivíduos infectados pelo HIV, pacientes com insuficiência renal crônica, e pacientes com coagulopatia residentes na região Nordeste do Brasil e avaliar a influência de características socioeconômicas e comportamentos de risco em relação à prevalência dessas infecções;
- Analisar o desempenho de testes rápidos para detecção do HBsAg e anti-HCV em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) em comparação aos resultados dos testes imunoenzimáticos e moleculares, a fim de avaliar a aplicabilidade dos testes rápidos para incremento ao acesso ao diagnóstico na população citada;
- Analisar o desempenho dos testes rápidos para detecção do HBsAg e anti-HCV em pacientes renais crônicos em comparação aos resultados dos testes imunoenzimáticos e moleculares para determinar a utilidade dos testes rápidos para o diagnóstico das hepatites B e C nesse grupo.

4 RESULTADOS

A apresentação dos resultados obtidos nesta tese será no formato de manuscrito, composto por três artigos submetidos e publicados em revistas científicas internacionais e indexadas. Listamos os artigos a seguir, indicando autoria e revista escolhida para publicação:

- 4.1 Artigo 1: Barbosa JR, Bezerra CS, Carvalho-Costa FA, Azevedo CP, Flores GL, Colares JKB, Lima DM, Lampe E, Villar LM. Cross sectional study to determine the prevalence of hepatitis B and C virus infection in high risk groups in northwest region of Brazil. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(7):793. Doi: 10.3390/ijerph14070793
- 4.2 Artigo 2: Barbosa JR, Colares JKB, Flores GL, Cortes VF, Miguel JC, Portilho MM, Marques V, Potsch D, Brandão-Mello C, Amendola-Pires MM, Pilotto JH, Lima DM, Lampe E, Villar LM. Performance of rapid tests for detection of hepatitis B and C markers among HIV infected patients. *J Virol Methods*. 2017; 248:244-249. Doi: 10.1016/j.jviromet.2017.08.001
- 4.3 Artigo 3: Barbosa JR, Cortes VF, Portilho MM, Miguel JC, Marques VA, Bezerra CS, Souza NV, Lima DM, Colares JKB, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, Villar LM. Performance of point of care assays for hepatitis B and C viruses in chronic Kidney Disease patients. *J Clin Pathol*. 2018; 0:1–6. Doi: 10.1136/jclinpath-2018-205024

Na sessão seguinte, apresentamos a discussão sobre cada um dos artigos, seguindo esta mesma ordem de apresentação.

Artigo 1: Cross-Sectional Study to Determine the Prevalence of Hepatitis B and C Virus Infection in High Risk Groups in the Northeast Region of Brazil

- **Objetivo:** Investigar a prevalência de infecção por HBV e HCV em pacientes HIV-positivos, Doentes Renais Crônicos (DRC) em hemodiálise e coagulopatias em Fortaleza-CE, Brasil.
- **Situação do Manuscrito:** Artigo publicado na revista *International Journal of Environmental Research and Public Health*.

Classificação Qualis: Área de Medicina II - B1, Fator de Impacto: 2.540 (2016)

Autores: Jakeline Ribeiro Barbosa, Cristianne Sousa Bezerra, Filipe Anibal Carvalho-Costa, Carolina Pimentel de Azevedo, Geane Lopes Flores, Jeová Keny Baima Colares, Danielle Malta Lima, Elisabeth Lampe, Livia Melo Villar

Resumo: As infecções por HBV e HCV são mais prevalentes em populações vulneráveis do que na população em geral. O objetivo deste estudo foi investigar a prevalência de infecção por HBV e HCV em pacientes HIV-positivos (GI), Doente Renal Crônica (DRC) (GII) e indivíduos com coagulopatia hereditária (GIII). Estudo transversal realizado de junho de 2014 a março de 2015. Foram testadas amostras de soro para marcadores de hepatite B e C por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA). Os dados sociodemográficos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais e as análises estatísticas foram realizadas com Epi Info™ 7. Foram recrutados 348 indivíduos, sendo 154 HIV-positivos, 143 pacientes com DRC e 51 pacientes com coagulopatia. Entre eles, mais de 66% eram homens e a faixa etária predominante era de 26-35 anos em GI e 56-65 anos em GIII. A maioria dos pacientes tinha mais de 8 anos de escolaridade (66,2% na GI, 60,6% no GIII e 46,1% no GII), com renda familiar entre 100-400 dólares em mais de 48% dos pacientes. A prevalência do marcador HBsAg foi de 3,9%, 7% e 3,9%, o anti-HBc total foi de 28,6%, 55,9% e 31,4% e o anti-HCV foi 1,3%, 12,6% e 47% para GI, GII e GIII, respectivamente. Contudo, a prevalência de anti-HBs foi superior a 70% em todos os grupos. Este estudo mostra uma alta prevalência de HBV e HCV entre esses grupos. Fatores como idade, renda, número de parceiros sexuais, história de infecções sexualmente transmissíveis, história de transfusão de sangue ou plasma e transfusões de sangue antes de 1994 foram associados a uma maior prevalência para essas infecções.

Palavras-chave: Prevalência; Vírus da hepatite B; Vírus da hepatite C; Vírus da Imunodeficiência Humana 1; Hemodiálise; Coagulopatia



Article

Cross-Sectional Study to Determine the Prevalence of Hepatitis B and C Virus Infection in High Risk Groups in the Northeast Region of Brazil

Jakeline Ribeiro Barbosa ^{1,2} , Cristianne Sousa Bezerra ^{1,2}, Filipe Anibal Carvalho-Costa ³, Carolina Pimentel de Azevedo ¹, Geane Lopes Flores ¹, Jeová Keny Baima Colares ^{2,4} , Danielle Malta Lima ^{2,4} , Elisabeth Lampe ¹ and Livia Melo Villar ^{1,*}

- ¹ Viral Hepatitis Laboratory, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro 21040-900, Brazil; jakelinebarbosa@gmail.com (J.R.B.); tiannebezerra@gmail.com (C.S.B.); carolazevedo09@msn.com (C.P.d.A.); geane@ioc.fiocruz.br (G.L.F.); elampe@ioc.fiocruz.br (E.L.)
 - ² Postgraduate Programme in Pathology, Federal University of Ceará State, Fortaleza CE 60430-160, Brazil; kenycolares@unifor.br (J.K.B.C.); danimalta37@gmail.com (D.M.L.)
 - ³ Laboratory of Epidemiology and Molecular Systematics, Oswaldo Cruz Institute, Fiocruz, Rio de Janeiro 21040-900, Brazil; guaratiba@ioc.fiocruz.br
 - ⁴ Postgraduate Programme in Medical Sciences, University of Fortaleza, Fortaleza CE 60811-905, Brazil
- * Correspondence: lvillar@ioc.fiocruz.br or liviafiocruz@gmail.com; Tel.: +55-21-2562-1918

Academic Editor: Paul B. Tchounwou

Received: 11 May 2017; Accepted: 30 June 2017; Published: 17 July 2017

Abstract: *Background:* HBV (Hepatitis B Virus) and HCV (Hepatitis C Virus) infections are more prevalent in vulnerable populations than the general population. The objective of this study was to investigate the prevalence of HBV and HCV infection in HIV-positive patients (GI), chronic renal failure (CRF) patients (GII) and coagulation disorder individuals (GIII). *Methods:* A cross-sectional study was conducted from June 2014 to March 2015. Serum samples were tested for markers of hepatitis B and C by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Sociodemographic, epidemiological, clinical and laboratory data and accompanying statistical analyses were performed using Epi Info™ 7. *Results:* A total of 348 individuals were recruited, i.e., 154 HIV-positive, 143 CRF and 51 coagulopathy patients. Among them, more than 66% were men, and the predominant age group was 26–35 years in GI and 56–65 years in GIII. Most patients had more than 8 years of education (66.2% in GI, 60.6% in GIII and 46.1% in GII), with a family income between 100–400 dollars in more than 48% of patients. The prevalence of the HBsAg marker was 3.9%, 7% and 3.9%, total anti-HBc was 28.6%, 55.9% and 31.4%, and anti-HCV was 1.3%, 12.6% and 47% for GI, GII and GIII, respectively. However, the prevalence of anti-HBs was greater than 70% in all groups. *Conclusions:* This study shows a high prevalence of HBV and HCV among specific groups compared to the general population. Factors such as age, income, number of sexual partners, sexually transmitted disease burden, blood transfusion history or blood products and blood transfusions before 1994 were associated with a higher prevalence for these infections.

Keywords: prevalence; hepatitis B virus; hepatitis C virus; human immunodeficiency virus 1; haemodialysis; coagulopathy

1. Introduction

Hepatitis B Virus (HBV) and Hepatitis C Virus (HCV) can cause acute and chronic liver disease, which can progress to cirrhosis, liver failure and/or hepatocellular carcinoma [1,2]. An estimated 240 million people are chronically infected with hepatitis B virus, which is defined as testing positive

for hepatitis B surface antigen for at least 6 months. Of these cases, more than 686,000 people die every year due to hepatitis B complications, such as cirrhosis and liver cancer [3]. In Brazil, the prevalence of antibodies against HBc (anti-HBc) ranged from 8.1% to 10.3% in the Federal District and the Central-West region, while the prevalence of HBsAg antigen was 0.19% in the Northeast, 0.47% in the Central-West and 0.60% in the Federal District [4].

It is estimated that approximately 130–150 million people worldwide have chronic hepatitis C infection and that approximately 700,000 people die each year from liver disease related to hepatitis C [3]. In Brazil, the prevalence of Hepatitis C antibodies (anti-HCV) was 1.38% in the state capitals of the five macro-regions and the Federal District, and it varied from 0.68% in the Northeast to 2.10% in the North region of the country [5].

HBV and HCV infections are prevalent worldwide, especially in the most vulnerable populations, such as patients infected with human immunodeficiency virus (HIV), patients with chronic renal failure (CRF) that are on haemodialysis and patients with coagulation disorders compared to the general population [6–14].

HBV and HCV prevalence is high among individuals infected with HIV due to the shared routes of transmission of infection, such as injecting drug use, blood transfusion and sexual intercourse [11,13,15]. In Brazil, the prevalence of HIV/HBV co-infection ranged from 2.8% to 10.3%, while HIV/HCV co-infection ranged from 4.6% to 6.4% [14,16,17]. The high prevalence of co-infected individuals varied according to the specific region of the country [18].

CRF patients are considered high-risk for acquiring HBV and HCV infections because parenteral exposure during the dialysis treatment is a major route of transmission. These infections negatively impact the survival of the haemodialysis patients and those undergoing renal transplant. In Brazil, the prevalence of anti-HBc and HBsAg were 34.1% and 15.4%, respectively, while the prevalence of anti-HCV ranged from 12% to 33.9% in CRF patients [7–9,19].

Hereditary coagulopathies are the result of deficiency diseases of one or more plasma clotting proteins. Among the inherited bleeding disorders, haemophilia and Von Willebrand's Disease (VWD) are the most common. Haemophilia A and B are X-linked recessive bleeding disorders included among rare diseases and caused by mutations in the factor VIII and factor IX genes. Both factors take part in the intrinsic pathway of blood coagulation, and affected individuals have severe, moderate and mild forms of the diseases, which are defined by factor plasma levels [20–22]. However, VWD is caused by a decrease in or dysfunction of the protein called Von Willebrand Factor (VWF) and affects both genders. The diversity of mutations results in various clinical manifestations, e.g., platelet dysfunction associated with decreased serum factor VIII levels [21].

Treatment of coagulopathies involves the replacement of deficient clotting factors, which is administered as processed concentrates from blood donors and/or synthesized by the pharmaceutical industry. Clotting factor replacement increases the survival of coagulopathy patients. However, these patients are at an increased risk of infection with HBV and HCV because of multiple blood transfusions and frequent parenteral exposure. In Brazil, the prevalence of HBV infection ranged from 0.7% to 2.3%, while HCV infection ranged from 2.5% to 34.9% in this population [12,22,23].

Brazilian studies to determine the prevalence of HBV and HCV infection are common in the general population, mainly in the Southeast region of the country. However, few studies have been conducted including these specific populations in Northeast Brazil, such as HIV-positive individuals, patients with CRF on haemodialysis and patients with coagulation disorders [17]. Identifying the prevalence of these infections in these more vulnerable groups is critical to diagnose, treat and prevent the spread of these infections. Therefore, this study aimed to investigate the prevalence of HBV and HCV infection in HIV-positive patients, CRF patients on haemodialysis and coagulation disorders in Fortaleza-CE, Brazil.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design, Sampling and Population

A cross-sectional study was conducted during the period of June 2014 to March 2015. Sociodemographic data from subjects were obtained through a questionnaire, including the variables of income, risk behaviour, age, gender, marital status and education.

Three groups included were as follows: I—HIV-infected patients ($n = 154$); II—patients with CRF on haemodialysis ($n = 143$); and III—patients with coagulopathy (haemophilia or von Willebrand disease) ($n = 51$). These groups were recruited, respectively, from a private HIV/AIDS clinic, private haemodialysis clinic and public Hematology and Hemotherapy Center of Ceará city, all of which are located in Fortaleza, Northeast region of Brazil.

The inclusion criteria for the selection of participants were as follows: individuals of both genders, aged 18 years or more and referral to one of the three health service centres involved in this study (group I, II or III). In addition, diagnostic criteria for HIV (group I) was considered, which included individuals who tested positive using the HIV 1/2 STAT-PAK[®] kit (Chembio Diagnostic Systems Inc., Medford, NY, USA) and who may or may not have undergone antiretroviral treatment for HIV. Group II included CRF patients who were already diagnosed and undergoing haemodialysis treatment in the nephrology clinic. Group III included patients with haemophilia- (A and B) and VWD-type coagulopathies who were diagnosed by clinical and laboratory parameters at the Center of Hematology of Ceará, where patients are monitored since childhood.

2.2. Laboratory Analysis

Blood samples (10 mL) were collected from each subject by venipuncture, centrifuged to obtain serum and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis. Serum samples were tested for markers of hepatitis B and C by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercially available kits. All samples were examined for the presence of HBsAg (Bioelisa[®] HBsAg, Biokit, Lliçà d'Amunt, Spain), total anti-HBc (anti-HBc Bioelisa[®], Biokit), anti-HBs (anti-HBs Bioelisa[®], Biokit) and anti-HCV (Murex anti-HCV version 4.0[®], DiaSorin, Saluggia, Italy) according to the manufacturer's instructions. Reactive and indeterminate samples were retested in duplicate and indeterminate results were excluded. Serological tests were performed at the Viral Hepatitis Laboratory of the Oswaldo Cruz Institute—FIOCRUZ.

2.3. Data Analysis

Sociodemographic, epidemiological, clinical and laboratory data were entered Microsoft Access[®] database (Microsoft, Redmond, WA, USA). Statistical analyses were performed using Epi Info[™] 7 (Epi Info Software, CDC, Atlanta, GA, USA). Prevalence rates in distinct groups were compared with Fisher's exact test. Results with p values (two-tailed) < 0.05 were considered statistically significant.

2.4. Ethical Aspects

The Ethics Committee of FIOCRUZ approved this study under the numbers 34049514.7.3006.5258 and 34049514.7.3009.5051. All patients included in the study provided informed consent and study protocols were followed according to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki.

3. Results

A total of 348 patients were recruited for this study, which included 154 HIV-infected patients, 143 patients with CRF on haemodialysis and 51 patients with coagulopathies, with at least 68% of these patients being men. More than 55% were 26–35 years of age in the HIV group (GI) and coagulopathy group (GIII), while the predominant age was 56–65 years in haemodialysis group (GII) (Table 1).

Regarding marital status, 70.8% of group I and 66.7% of group III were single. However, approximately 50% of group II subjects were married or had a stable union. The education of the

participants was greater than 8 years in 66.2% of group I, 60.6% of group III and 46.1% of group II. Of which, more than 48% of participants had a monthly family per capita income between 100 and 400 dollars.

As shown in Table 2, the prevalence of the HBV surface antigen (HBsAg) was 3.9%, 7% and 3.9% for groups I, II and III, respectively. While the prevalence of total anti-HBc marker was 28.6%, 55.9% and 31.4% in GI, GII and GIII, respectively, anti-HBs prevalence was greater than 70% in all groups. The presence of total anti-HBc and anti-HBs, which indicated immunity after HBV infection, was 21.4% (33/154) in group I, 38.5% (55/143) in group II and 29.4% (15/51) in group III.

Table 1. Sociodemographic characteristics of the sample.

Variable		HIV Positive (n = 154)	CRF α Haemodialysis (n = 143)	Coagulopathy (n = 51)
		N (%)	N (%)	N (%)
Gender	Male	131 (85.0)	98 (68.5)	50 (98.0)
	Female	23 (15.0)	45 (31.5)	1 (2.0)
Age group (years)	18–25	23 (14.9)	1 (0.7)	15 (29.4)
	26–35	58 (37.7)	24 (16.8)	19 (37.3)
	36–45	46 (29.9)	27 (18.9)	12 (23.5)
	46–55	19 (12.3)	34 (23.8)	4 (7.8)
	56–65	7 (4.5)	36 (25.2)	0 (0.0)
	≥ 66	1 (0.6)	21 (14.7)	0 (0.0)
	Unknown	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.0)
Marital status	Married/stable union	44 (28.6)	72 (50.3)	17 (33.3)
	Single	109 (70.8)	71 (49.7)	34 (66.7)
	Unknown	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
Education	Illiterate	2 (1.3)	11 (7.7)	2 (3.9)
	1 to 8 years	50 (32.5)	66 (46.1)	18 (35.3)
	>8 years	102 (66.2)	66 (46.1)	31 (60.8)
Monthly family per capita income	zero	8 (5.2)	4 (2.8)	4 (7.8)
	<100 dollars	16 (10.4)	22 (15.4)	13 (25.5)
	100 to 400 dollars	75 (48.7)	82 (57.3)	25 (49.0)
	>400 dollars	55 (35.7)	35 (24.5)	9 (17.6)

α CRF = chronic renal failure.

Table 2. HBV and HCV markers in population studied.

Variable	HIV-Positive (n = 154)	CRF * Haemodialysis (n = 143)	Coagulopathy (n = 51)
	N (%)	N (%)	N (%)
Marker of Exposure to HBV			
HBsAg reactive	6 (3.9%)	10 (7.0%)	2 (3.9%)
Total anti-HBc reactive	44 (28.6%)	80 (55.9%)	16 (31.4%)
Anti-HBs reactive	115 (74.7%)	103 (72.0%)	37 (72.5%)
Anti-HBc reactive/Anti-HBs reactive	33 (21.4%)	55 (38.5%)	15 (29.4%)
Marker of Exposure to HCV			
Anti-HCV reactive	2 (1.3%)	18 (12.6%)	24 (47.0%)

* CRF = chronic renal failure.

The prevalence of HCV antibody (anti-HCV) was 1.3% (2/154), 12.6% (18/143) and 47% (24/51) in HIV-positive, CRF-haemodialysis and coagulopathy groups, respectively.

Table 3 shows the prevalence of total anti-HBc antibody in relation to the risk factors for each group, with males being the most prevalent, i.e., 31.1% (41/131) of group I, 56.1% (55/98) of group II 32% (16/50) of group III. The prevalence of total anti-HBc in the respective groups was 36.9% (17/46) in the age range of 36–45 years, 69.4% (25/36) in the age range of 56–65 years, and 50% (6/12) in the range of 36–45 years. There was a statistically significant difference between the frequency of this marker in the different age groups of group II ($p = 0.013$) and group III ($p = 0.025$).

Regarding the monthly family per capita income, the highest prevalence of anti-HBc was among individuals without income in group I (50%, 4/8), among individuals with an income higher than \$400 in group II (69.4%, 25/36) and among those without income in group III (75%, 3/4, $p = 0.059$).

Regarding sexual behaviour, men who had sex with men (MSM) had a higher prevalence of total anti-HBc (34.5%, 30/87) in group I, while the highest prevalence of anti-HBc in groups II and III (55.9%, 52/93; 32.6%, 16/49) was among non-MSM subjects. Regarding the number of sexual partners in the previous year, the prevalence of anti-HBc in group I was higher among those who had more than 10 partners ($p = 0.003$). In group II, anti-HBc was more prevalent among those who had six partners or more. While in group III, it was higher among those who had only one partner in the last twelve months (45%, 9/20). There was no statistically significant correlation between the use of a condom and the frequency of anti-HBc in the groups.

The prevalence of anti-HBc was higher for those individuals with coagulopathy (GIII) who had already undergone blood or plasma transfusion ($p = 0.018$) and for blood transfusions performed before 1994 ($p = 0.076$), since testing for anti-HCV became a mandatory component of serological screening conducted at Brazilian blood banks after November 1993.

Table 3. Prevalence of anti-HBc antibody in population groups with a high risk for HBV infection.

Variable	HIV Reactive (<i>n</i> = 154)	<i>p</i> -Value	CRF (<i>n</i> = 143)	<i>p</i> -Value	Coagulopathy (<i>n</i> = 51)	<i>p</i> -Value
	Positive/Tested (% Positive)		Positive/Tested (% Positive)		Positive/Tested (% Positive)	
Gender *						
Male	41/131 (31.3)	0.084	55/98 (56.1)	1	16/50 (32.0)	1
Female	3/23 (13.0)		25/45 (55.5)		0/1 (0.0)	
Age Group (years) **						
18–25	5/22 (22.7)	0.678	0/1 (0.0)	0.013	1/15 (6.7)	0.025
26–35	15/58 (25.9)		11/24 (45.8)		7/19 (36.8)	
36–45	17/46 (36.9)		14/27 (51.8)		6/12 (50.0)	
46–55	5/19 (26.3)		18/34 (52.9)		2/4 (50.0)	
56–65	2/7 (28.6)		25/36 (69.4)		0/0 (0.0)	
≥66	0/1 (0.0)		12/21 (57.1)		0/0 (0.0)	
Marital Status *						
Married/stable union	12/44 (27.3)	1	39/72 (54.2)	0.737	6/17 (35.3)	0.753
Single	32/110 (29.1)		41/71 (57.8)		10/34 (29.4)	
Education **						
Illiterate	0/2 (0.0)	0.891	6/11 (54.5)	0.406	1/2 (50.0)	0.570
1 to 8 years	11/35 (31.4)		28/56 (50.0)		1/11 (9.1)	
>8 years	33/117 (28.2)		46/76 (60.5)		13/37 (35.1)	
Monthly Family per Capita Income **						
0	4/8 (50.0)	0.837	0/1 (0.0)	0.059	3/4 (75.0)	0.121
<100 dollars	3/16 (18.7)		10/21 (47.6)		4/12 (33.3)	
100 to 400 dollars	18/75 (24.0)		43/82 (52.4)		6/25 (24.0)	
>400 dollars	19/55 (34.5)		25/36 (69.4)		3/10 (30.0)	
Sexual Orientation (Males) *						
MSM	30/87 (34.5)	0.312	2/4 (50.0)	1	0/0 (0.0)	0.202
Non-MSM	10/40 (25.0)		52/93 (55.9)		16/49 (32.6)	

Table 3. Cont.

Variable	HIV Reactive (n = 154)	p-Value	CRF (n = 143)	p-Value	Coagulopathy (n = 51)	p-Value
	Positive/Tested (% Positive)		Positive/Tested (% Positive)		Positive/Tested (% Positive)	
Sexual Partner—Last Year **						
1	11/66 (16.7)	0.003	40/72 (55.5)	0.267	9/20 (45.0)	0.543
<5	20/49 (40.8)		11/22 (50.0)		3/16 (18.7)	
6 to 10	7/15 (46.7)		2/2 (100.0)		0/4 (0.0)	
>10	3/6 (50.0)		3/3 (100.0)		1/3 (33.3)	
Unknown	3/18 (16.7)		24/44 (54.5)		3/8 (37.5)	
Condom Use **						
Always	29/112 (25.9)	0.422	21/35 (60.0)	0.285	6/17 (35.3)	0.704
Sometimes	12/29 (41.4)		14/21 (66.7)		6/20 (30.0)	
Never	2/8 (25.0)		42/81 (51.8)		3/9 (33.3)	
Unknown	1/5 (20.0)		3/6 (50.0)		1/5 (20.0)	
ARV Treatment						
Yes	6/123 (4.9)	0.600	-	-	-	
No	0/31 (0.0)					
Unknown	12/194 (6.2)					
Sexually Transmitted Infection						
Yes	29/69 (42.0)	0.001	23/39 (58.9)	0.707	8/10 (80.0)	0.000
No	15/84 (17.8)		56/102 (54.9)		8/40 (20.0)	
Unknown						
Oral Intercourse						
Yes	37/115 (32.2)	0.092	31/54 (57.4)	1	7/25 (28.0)	0.537
No	6/37 (16.2)		34/60 (56.7)		8/21 (38.1)	
Unknown	1/2 (50.0)		15/29 (51.7)		1/5 (20.0)	
Anal Intercourse						
Yes	35/114 (30.7)	0.302	26/50 (52.0)	0.459	6/19 (31.6)	1
No	8/38 (21.0)		43/72 (59.7)		9/27 (33.3)	
Unknown	1/2 (50.0)		11/21 (52.4)		1/5 (20.0)	
Tattoo						
Yes	12/42 (28.6)	1	5/13 (38.5)	0.243	2/6 (33.3)	1
No	32/112 (28.6)		75/130 (57.7)		14/44 (31.8)	
Unknown	0		0		0/1 (0.0)	
Piercing						
Yes	4/15 (26.7)	1	1/2 (50.0)	1	1/2 (50.0)	1
No	40/139 (28.8)		79/141 (56.0)		15/47 (31.9)	
Unknown	0		0		0/2 (0.0)	
Transfusion of Blood/Plasma						
Yes	5/16 (31.2)	0.779	51/90 (56.7)	0.861	15/35 (42.8)	0.018
No	39/136 (28.7)		28/51 (54.9)		1/15 (6.7)	
Unknown	0/2 (0.0)		1/2 (50.0)		0/1 (0.0)	
Transfusion before 1994						
Yes	3/8 (37.5)	0.569	11/15 (73.3)	0.161	13/25 (52.0)	0.076
No	1/8 (12.5)		39/75 (52.0)		2/11 (18.2)	
Unknown	40/138 (29.0)		30/53 (56.6)		1/15 (6.7)	
Attend Manicure						
Yes	24/94 (25.5)	0.460	45/80 (56.2)	1	6/20 (30.0)	1
No	19/59 (32.2)		34/62 (54.8)		10/30 (33.3)	
Unknown	1/1 (100.0)		1/1 (100.0)		0/1 (0.0)	
Injecting/Inhaled Drug Use						
Yes	8/34 (23.5)	0.525	3/8 (37.5)	0.466	1/6 (16.7)	0.649
No	36/120 (30.0)		76/134 (56.7)		15/43 (34.9)	
Unknown	0		1/1 (100.0)		0/2 (0.0)	

CRF = chronic renal failure; * Fisher's exact test; ** chi-square test for trend.

Table 4 shows the prevalence of anti-HCV according to the socioeconomic and behavioural characteristics of each group; there was a prevalence of 4.3% (1/23) among females and 3.2% (1/131) among males in group II (15.3%, 15/98) and group III (48%, 24/50). The highest age range for anti-HCV was 46–55 years (5.2%, 1/19), 56–65 years (22.2%, 8/36) and 36–45 years (91.6%, 11/12) in GI, GII, and GIII, respectively. Married/stable union individuals and those with 1–8 years of education had a higher prevalence of anti-HCV.

Participants in this study with a monthly family per capita income of less than 100 dollars had a higher prevalence of anti-HCV in group I (6.4%, 1/16) and group II (14.3%, 3/21), while group III had a prevalence of 56% (14/25) among those with incomes of 100 to 400 dollars.

Regarding sexual behaviour, the prevalence of anti-HCV in group II was higher for those who had more numerous sexual partners in the last year, whereas in the case of groups I and III, the prevalence was higher for those with one sexual partner. The absence of a condom during intercourse and the practise of oral/anal intercourse were not statistically significant for anti-HCV positivity in these groups. Although inconsistent condom use presented a significant value of $p = 0.062$ in group II.

On the other hand, individuals with a sexually transmitted infection had a higher prevalence of anti-HCV in group I (2.9%, 2/69) and group III (80%, 8/10), with a significant p value for the coagulopathy group ($p = 0.031$).

Regarding individuals who previously received a blood or plasma transfusion, the highest prevalence of anti-HCV was 15.5% (14/90) in group II and 60% (21/35) in group III, in which results for the coagulopathy group were statistically significant ($p = 0.004$). Moreover, individuals who received blood transfusions prior to 1994 were more inclined to HCV exposure and had an anti-HCV prevalence of 41.2% (7/17) and 64% (16/25), with $p = 0.004$ for the haemodialysis group (Table 4). On the other hand, the use of injectable drugs had a significant p value ($p = 0.064$) in group II, albeit not statistically significant.

Table 4. Prevalence of anti-HCV antibody in population groups with a high risk for HCV infection.

Variable	HIV Reactive (<i>n</i> = 154)	<i>p</i> -Value	CRF (<i>n</i> = 143)	<i>p</i> -Value	Coagulopathy (<i>n</i> = 51)	<i>p</i> -Value
	Positive/Tested (% Positive)		Positive/Tested (% Positive)		Positive/Tested (% Positive)	
Gender *						
Male	1/131 (3.2)	0.277	15/98 (15.3)	0.182	24/50 (48.0)	1
Female	1/23 (4.3)		3/45 (6.7)		0/1 (0.0)	
Age Group (Years) ^α						
18–25	0/22 (0.0)	0.367	0/1 (0.0)	0.394	2/15 (13.3)	0.474
26–35	0/58 (0.0)		1/24 (4.1)		9/19 (47.4)	
36–45	1/46 (2.1)		5/27 (18.5)		11/12 (91.6)	
46–55	1/19 (5.2)		2/34 (5.9)		1/4 (25.0)	
56–65	0/7 (0.0)		8/36 (22.2)		0/0 (0.0)	
≥66	0/1 (0.0)		2/21 (9.5)		0/0 (0.0)	
Marital Status *						
Married/stable union	1/44 (2.3)	0.491	9/72 (12.5)	1	11/17 (64.7)	0.135
Single	1/110 (0.9)		9/71 (12.7)		13/34 (38.2)	
Education ^α						
Illiterate	0/2 (0.0)	0.128	1/11 (9.0)	0.144	1/2 (50.0)	0.404
1 to 8 years	1/35 (2.8)		11/56 (19.6)		6/11 (54.5)	
>8 years	1/117 (0.8)		6/76 (7.9)		16/37 (43.2)	
Monthly Family Per Capita Income ^α						
Zero	0/8 (0.0)	0.481	0/1 (0.0)	0.412	4/4 (100.0)	0.210
<100 dollars	1/16 (6.4)		3/21 (14.3)		3/12 (25.0)	
100 to 400 dollars	0/75 (0.0)		11/82 (13.4)		14/25 (56.0)	
>400 dollars	1/55 (1.8)		3/36 (8.3)		3/10 (30.0)	

Table 4. Cont.

Variable	HIV Reactive (n = 154)	p-Value	CRF (n = 143)	p-Value	Coagulopathy (n = 51)	p-Value
	Positive/Tested (% Positive)		Positive/Tested (% Positive)		Positive/Tested (% Positive)	
Sexual Orientation (Males) *						
MSM	1/87 (1.1)	1	1/4 (25.0)	0.495	0/0 (0.0)	1
Non-MSM	0/40 (0.0)		14/93 (15.0)		23/49 (46.9)	
Sexual Partner—Last Year ^α						
1	1/66 (1.5)	0.331	6/72 (8.3)	0.214	13/21 (61.9)	0.214
<5	0/49 (0.0)		5/22 (22.7)		6/16 (37.5)	
6 to 10	0/15 (0.0)		2/2 (100.0)		1/4 (25.0)	
>10	0/6 (0.0)		1/3 (33.3)		1/3 (33.3)	
Unknown	1/18 (5.6)		4/44 (9.1)		3/7 (42.9)	
Condom Use ^α						
Always	2/112 (1.8)	0.165	7/35 (20.0)	0.062	9/18 (50.0)	0.938
Sometimes	0/29 (0.0)		3/22 (13.6)		8/19 (42.1)	
Never	0/8 (0.0)		7/81 (8.6)		5/9 (55.5)	
Unknown	0/5 (0.0)		1/5 (20.0)		2/5 (40.0)	
Sexually Transmitted Infection						
Yes	2/69 (2.9)	0.201	4/39 (10.2)	0.779	8/10 (80.0)	0.031
No	0/84 (0.0)		14/102 (13.7)		15/40 (37.5)	
Unknown	1		2		1	
Oral Intercourse						
Yes	2/115 (1.7)	1	5/54 (9.2)	0.275	9/25 (36.0)	0.138
No	0/37 (0.0)		10/60 (16.6)		13/21 (61.9)	
Unknown	0/2 (0.0)		3/27 (11.1)		2/5 (40.0)	
Anal Intercourse						
Yes	1/114 (0.8)	0.438	7/50 (14.0)	0.780	8/19 (42.1)	0.561
No	1/38 (2.6)		8/72 (11.1)		14/27 (51.8)	
Unknown	0/2 (0.0)		1/21 (4.8)		2/5 (40.0)	
Tattoo						
Yes	1/42 (2.4)	0.472	0/13 (0)	0.372	3/6 (50.0)	1
No	1/112 (0.9)		18/130		13/21 (61.9)	
Unknown	0		0		1/1 (100.0)	
Piercing						
Yes	1/15 (6.6)	0.186	0/2 (0.0)	1	2/2 (100.00)	0.215
No	1/139 (0.7)		18/141 (12.7)		21/47 (44.7)	
Unknown	0		0		1/2 (50.0)	
Transfusion of Blood/Plasma						
Yes	0/16 (0.0)	1	14/90 (15.5)	0.110	21/35 (60)	0.004
No	2/136 (1.5)		3/51 (5.9)		2/15 (13.3)	
Unknown	0/2 (0.0)		1/2 (50.0)		1/1 (100.0)	
Transfusion before 1994						
Yes	0/8 (0.0)	1	7/17 (41.2)	0.004	16/25 (64.0)	0.464
No	0/8 (0.0)		7/73 (9.6)		5/11 (45.4)	
Unknown	2/138 (1.4)		4/53 (7.5)		3/15 (20.0)	
Attend Manicure						
Yes	2/94 (2.1)	0.523	7/80 (8.7)	0.201	9/20 (45.0)	1
No	0/59 (0.0)		10/62 (16.1)		14/30 (46.6)	
Unknown						
Injecting/Inhaled Drug Use						
Yes	1/34 (2.9)	0.393	3/8 (37.5)	0.064	3/6 (50.0)	1
No	1/120 (0.8)		15/134 (11.2)		20/43 (46.5)	
Unknown	0/0 (0.0)		0/1 (0.0)		1/2 (50.0)	

CRF = chronic renal failure; ^α Chi-Squared for trend; * Fisher's exact test.

4. Discussion

In the present study, high HBV and HCV prevalence was found in HIV-positive (GI), haemodialysis CRF (GII), and coagulopathies (GIII) populations compared to the general population. We found HBsAg prevalence of 3.9%, 7% and 3.9%, anti-HBc prevalence of 28.6%, 55.9% and 31.4%, and anti-HCV prevalence of 1.3%, 12.6% and 47% in GI, GII and GIII, respectively. Pereira et al. [4,5] showed that the HBsAg prevalence ranged from 0.19% to 0.60%, total anti-HBc prevalence ranged from 8.1% to 10.3%, and anti-HCV prevalence was 1.38% (ranging from 0.68% to 2.60%) in the general population. In Brazil, the prevalence of hepatitis B and C varies according to the geographical region, risk factors, sociodemographic- and population-based characteristics [4,5].

HBV prevalence in HIV-infected individuals was similar to previous studies [14,16–18]. In the Northeast region of Brazil, Távora et al. [17] found a prevalence of HBV/HIV (3.7%) similar to the present study, despite the different profiles of the health services; we recruited individuals from outpatient HIV/AIDS clinics, while subjects in the previous study were recruited from the infectious disease hospital. Having more than five sexual partners per year and previous sexually transmitted infections correlated with HBV exposure probably due to the shared common transmission routes of both HIV and HBV, particularly through the sexual route [17,24]. As such, this highlights the importance of health education and vaccination programmes for this group to prevent the transmission of HBV.

In patients with CRF on haemodialysis, the prevalence of HBsAg (7%) and anti-HBc (55.9%) were higher compared to HIV-infected individuals, which could be due to repeated blood exposure during CRF maintenance therapy [25]. The prevalence of both were higher than the prevalence found in the Southeast region (5.5% of HBsAg and 4% of anti-HBc) [19] and in a multicentre Brazilian study (1.4% of HBV prevalence) [26], but lower than the HBsAg prevalence in the South (10%) [27] and Central-West region (46.7%) [28]. These studies showed variable HBV prevalence rates in CRF population that may have been influenced by differences in organizational structure or the work process at haemodialysis centres, which includes the frequency of hygiene and sterilization of equipment in the dialysis room, reuse of capillaries and distribution of patients according to the number of health professionals [8,27,29,30].

Patients with CRF on haemodialysis who were older and received 100 to 400 dollars in monthly family income had high anti-HBc prevalence. Older individuals could undergo longer haemodialysis periods, which increases the risk of HBV exposure [31]. In addition, these individuals had difficulty to maintain employment due to the length of time spent on haemodialysis and their clinical condition; these subjects typically received social security benefits (sickness benefit) as a source of income [31,32].

Among the coagulopathy group, the prevalence of HBsAg and total anti-HBc was 3.9% and 31.4%, respectively. These results were higher than those found in the South region of Brazil (HBsAg prevalence of 2.9% and prevalence of total anti-HBc of 28.5%) [33,34]. These differences may have been due to the classification of haemophilia and VWD that lead to frequent blood transfusion and a higher risk of exposure to HBV [12,22,23]. In this group, age, history of sexually transmitted disease and blood or plasma transfusion, were associated with a high risk of HBV infection ($p < 0.05$), which was similar to previous observations [35–37].

Regarding HCV infection, low anti-HCV prevalence (1.3%) was found in HIV-infected individuals compared to studies conducted in the Northeast region (5.4%) [17] and Southeast region of Brazil (4.6% and 6.4%) [14,16]; this was probably due to the small number of intravenous drug users enrolled in the present study. In CRF patients, the prevalence of anti-HCV was 12.6% which is lower than that found in studies conducted in the Southeast region (14.8%) [9], Northeast region (52%) [38] and South region of Brazil (13.57%) [39], which could have been the result of different standards of good practice for dialysis services [25,29,39]. In this group, receiving a blood transfusion before 1994 was associated with HCV infection ($p = 0.004$), as anti-HCV screening in Brazil was initiated in blood banks in 1993 [40].

In coagulopathy patients, anti-HCV prevalence was 47% which is higher than that found in the Southeast region (39.4%) [34], Northeast region (42.2%) [41] and South region of the country (34.16%) [34] and could have been the result of different types of coagulopathy included in each study. The anti-HCV prevalence was 34.9%, 29.7% and 12% in individuals affected by haemophilia A, haemophilia B and VWD, respectively [23]. In this group, a history of sexually transmitted disease and transfusion of blood and/or plasma were associated with high risk of HCV transmission ($p < 0.05$), which reinforced the view that coagulopathy patients who received multiple blood transfusions or blood products [39] prior to 1994 were most affected by HCV due to the lack of anti-HCV screening in blood banks before that date [35,36].

5. Conclusions

This study showed a high prevalence of HBV and HCV among the specific groups evaluated compared to the general population. Factors such as age, income, number of sexual partners, history of sexually transmitted disease, blood or plasma transfusion and transfusion before 1994 were associated with the higher prevalence of these infections. These data indicated the necessity of continuous diagnosis, follow-up and prevention of HBV and HCV infections in these groups to prevent clinical complications and the spread of these infections.

Acknowledgments: The authors would like to thank the health authorities from the recruitment centres health authorities from the recruitment centers for technical support, the Center for Integrated Medical Care of the University of Fortaleza, the PRONEFRON Group, the Outpatient clinic of Hereditary Coagulopathies of the Hematology and Hemotherapy Center of Ceará–Hemoce and, Juliana Custódio Miguel and Elisangela Ferreira da Silva from the Laboratory of Viral Hepatitis (LAHEP/FIOCRUZ) for technical assistance in laboratory testing. This research was supported by the Brazilian Ministry of Health, the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Brazilian National Council of Technological and Scientific Development (CNPq), and Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ).

Author Contributions: Jakeline R. Barbosa contributed to the study design, administered participant surveys, analysed and interpreted data, and drafted and revised the manuscript. Cristianne S. Bezerra and Filipe A. Carvalho-Costa assisted with the design of the study survey, data collection, data interpretation and manuscript revisions. Carolina Pimentel de Azevedo administered participant surveys, assisted with data collection and reviewed the manuscript. Geane L. Flores assisted with data interpretation and with writing and revising the manuscript. Jeová Keny Baima Colares, Danielle Malta Lima and Elisabeth Lampe participated conceptualization of the study, laboratory tests and manuscript reviews. Lívia Melo Villar conceived the study, managed data acquisition, participated in study design and coordination and reviewed and revised the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. McMahon, B.J. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Semin. Liver Dis.* **2004**, *24*, 17–21. [CrossRef] [PubMed]
2. Seeff, L.B. The history of the “natural history” of hepatitis C (1968–2009). *Liver Int.* **2009**, *29*, 89–99. [CrossRef] [PubMed]
3. World Health Organization—WHO. Hepatitis B and Hepatitis C. Updated April 2017. Available online: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/en/> (accessed on 5 May 2017).
4. Pereira, L.M.M.B.; Martelli, C.M.T.; Merchán-Hamann, E.; Montarroyos, U.R.; Braga, M.C.; Lima, M.L.C.; Cardoso, M.R.; Turchi, M.D.; Costa, M.A.; de Alencar, L.C.; et al. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2009**, *81*, 240–247. [PubMed]
5. Pereira, L.M.M.B.; Martelli, C.M.T.; Moreira, R.C.; Merchan-Hamman, E.; Stein, A.T.; Cardoso, M.R.A.; Figueiredo, G.M.; Montarroyos, U.R.; Braga, C.; Turchi, M.D.; et al. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: A cross-sectional study. *BMC Infect. Dis.* **2013**, *13*, 60. [CrossRef] [PubMed]
6. Franchini, M.; Mannucci, P.M. Co-morbidities and quality of life in elderly persons with haemophilia. *Br. J. Haematol.* **2009**, *148*, 522–533. [CrossRef] [PubMed]

7. Edey, M.; Barraclough, K.; Johnson, D.W. Review article: Hepatitis B and dialysis. *Nephrology* **2010**, *15*, 137–145. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Moreira, R.C.; Deguti, M.M.; Lemos, M.F.; Saraceni, C.P.; Oba, I.T.; Spina, A.M.M.; Nascimento-Lima, A.S.; Fares, J.; Azevedo, R.S.; Gomes-Gouvêa, M.S.; et al. HBV markers in haemodialysis Brazilian patients: A prospective 12-month follow-up. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2010**, *105*, 107–108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Leão, J.R.; Pace, F.H.L.; Chebli, J.M.F. Infecção pelo vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise: Prevalência e fatores de risco. *Arq. Gastroenterol.* **2010**, *47*, 28–34. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Joukar, F.; Besharati, S.; Mirpour, H.; Mansour-Ghanaei, F. Hepatitis C and hepatitis B seroprevalence and associated risk factors in hemodialysis patients in Guilan province, north of Iran. *Hepat. Mon.* **2011**, *11*, 178–181. [[PubMed](#)]
11. Kretzer, I.F.; Livramento, A.; Cunha, J.; Gonçalves, S.; Tosin, I.; Spada, C.; Treitinger, A. Hepatitis C worldwide and in Brazil: Silent epidemic—Data on disease including incidence, transmission, prevention, and treatment. *Sci. World J.* **2014**, *2014*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Ferreira, A.A.; Leite, I.C.G.; Bustamante-Teixeira, M.T.; Guerra, M.R. Hemophilia A in Brazil—Epidemiology and treatment developments. *J. Blood Med.* **2014**, *5*, 175–184. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Brandão, N.A.; Pfrimer, I.A.; Martelli, C.M.; Turchi, M.D. Prevalence of hepatitis B and C infection and associated factors in people living with HIV in midwestern Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* **2015**, *19*, 426–430. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Flores, G.L.; Almeida, A.J.; Miguel, J.C.; Cruz, H.M.; Portilho, M.M.; Scalioni, L.P.; Marques, V.A.; Lewis-Ximenez, L.L.; Lampe, E.; Villar, L.M. A cross section study to determine the prevalence of antibodies against HIV infection among hepatitis B and C infected individuals. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2016**, *13*, 314. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Lacombe, K.; Rockstroh, J. HIV and viral hepatitis coinfections: Advances and challenges. *Gut* **2012**, *61* (Suppl. 1), i47–i58. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Farias, N.S.I.; Coelho, D.M.; Oliveira, U.B.; Binelli, C.A. Coinfecção pelos vírus das hepatites B ou C e da imunodeficiência adquirida: Estudo exploratório no Estado de São Paulo, Brasil, 2007 a 2010. *Epidemiol. Serv. Saúde* **2012**, *21*, 475–486. [[CrossRef](#)]
17. Távora, L.G.F.; Hyppolito, E.B.; Cruz, J.N.M.; Portela, N.M.B.; Pereira, S.M.; Veras, C.M. Hepatitis B, C and HIV co-infections seroprevalence in a northeast Brazilian center. *Arq. Gastroenterol.* **2013**, *50*, 277–280. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Oliveira, S.B.; Merchán-Hamann, E.; Amorim, L.D.A.F. HIV/AIDS coinfection with the hepatitis B and C viruses in Brazil. *Cad. Saúde Pública* **2014**, *30*, 433–438. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Marquesini, G.; Gonçalves, N.S.L.; Gonçalves Júnior, F.L. Prevalência dos marcadores sorológicos dos vírus da hepatite B (VHB) e da hepatite C (VHC) em hemodialisados. *Rev. Panam. Infectol.* **2008**, *10*, 23–27.
20. Mannucci, P.M.; Tuddenham, E.G.D. The haemophiliac—From royal genes to gene therapy. *N. Engl. J. Med.* **2001**, *344*, 1773–1779. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Federici, A.B.; Santagostino, E.; Rumi, M.G.; Russo, A.; Mancuso, M.E.; Soffredini, R.; Mannucci, P.M.; Colombo, M. The natural history of hepatitis C virus infection in Italian patients with von Willebrand's disease: A cohort study. *Haematologica* **2006**, *91*, 503–508. [[PubMed](#)]
22. Brazilian Health Ministry. Secretary of Health Care. General Coordination of Blood and Hemoderivatives. In *Profile of Hereditary Coagulopathies in Brazil*; Brazilian Health Ministry: Brasília, Brazil, 2015; p. 62.
23. Rezende, S.M.; Pinheiro, K.; Caram, C.; Genovez, G.; Barca, D. Registry of inherited coagulopathies in Brazil: First report. *Haemophilia* **2009**, *15*, 142–149. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Kapembwa, K.C.; Goldman, J.D.; Lakhi, S.Y.; Bowa, K.; Vermund, S.H.; Mulenga, J.; Chama, D.; Chi, B.H. HIV, hepatitis B, and hepatitis C in Zambia. *J. Glob. Infect. Dis.* **2011**, *3*, 269–274. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Halle, M.P.; Choukem, S.P.; Kaze, F.F.; Ashuntantang, G.; Tchamago, V.; Mboué-Djieka, Y.; Temfack, E.; Luma, H.N. Hepatitis B, hepatitis C, and human immune deficiency virus seroconversion positivity rates and their potential risk factors among patients on maintenance hemodialysis in Cameroon. *Iran. J. Kidney Dis.* **2016**, *10*, 304–309. [[PubMed](#)]
26. Sesso, R.C.; Lopes, A.A.; Thomé, F.S.; Lugon, J.R.; Santos, D.R. Brazilian Chronic Dialysis Survey 2013—Trend analysis between 2011 and 2013. *J. Bras. Nefrol.* **2014**, *36*, 476–481. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

27. Carrilho, F.J.; Moraes, C.R.; Pinho, J.R.R.; Mello, I.M.V.G.C.; Bertolini, D.A.; Lemos, M.F.; Moreira, R.C.; Bassit, L.C.; Cardoso, R.A.; Ribeiro-dos-Santos, G.; et al. Hepatitis B virus infection in Haemodialysis Centres from Santa Catarina State, southern Brazil: Predictive risk factors for infection and molecular epidemiology. *BMC Public Health* 2004, 4, 13. [CrossRef] [PubMed]
28. Carneiro, M.A.S.; Martins, R.M.B.; Teles, A.S.; Silva, A.S.; Lopes, C.L.; Cardoso, D.D.P.; Vanderborght, B.O.; Yoshida, C.F. Hepatitis C prevalence and risk factors in hemodialysis patients in central Brazil: A survey by polymerase chain reaction and serological methods. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2001, 96, 765–769. [CrossRef]
29. 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* 2007, 7, 32. [CrossRef] [PubMed]
30. Chang, J.M.; Huang, C.F.; Chen, S.C.; Daí, C.Y.; Yeh, M.L.; Huang, J.F.; Kuo, H.T.; Chuang, W.L.; Yu, M.L.; Hwang, S.J.; et al. Discrepancy between serological and virological analysis of viral hepatitis in hemodialysis patients. *Int. J. Med. Sci.* 2014, 11, 436–441. [CrossRef] [PubMed]
31. Zambonato, T.K.; Thomé, F.S.; Gonçalves, L.F.S. Socioeconomic status of patients with end-stage renal disease on dialysis in northwestern Rio Grande do Sul—Brazil. *J. Bras. Nefrol.* 2008, 30, 192–199.
32. Carmo, R.A.; Oliveira, G.C.; Guimarães, M.D.C.; Oliveira, M.S.; Lima, A.A.; Buzek, S.C.; Corrêa-Oliveira, R.; Rocha, M.O.C. Hepatitis C virus infection among Brazilian hemophiliacs: A virological, clinical and epidemiological study. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2002, 35, 589–598. [CrossRef] [PubMed]
33. Fontes, E.M.; Amorim, L.; Carvalho, S.M.; Farah, M.B. Hemophilia care in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Panam. Salud Pública/Pan Am. J. Public Health* 2003, 13, 124–128. [CrossRef]
34. Hoepers, A.T.C. Hemofilia no estado de Santa Catarina: Estudo clínico. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2008, 30, 172. [CrossRef]
35. Ximenes, R.A.; Figueiredo, G.M.; Cardoso, M.R.; Stein, A.T.; Moreira, R.C.; Coral, G.; Crespo, D.; Santos, A.A.; Montarroyos, U.R.; Braga, M.C.; et al. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factors in the north, south, and southeast regions of Brazil, 10–20 years after the beginning of vaccination. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2015, 93, 1341–1348. [CrossRef] [PubMed]
36. Ziaee, M.; Namaei, M.H.; Azarkar, G. The prevalence of HTLV-1 and its co-infection with HCV, HBV and HIV in hemophilic patients. *Pak. J. Med. Sci.* 2015, 31, 1246–1249. [CrossRef] [PubMed]
37. Kucharska, M.; Ingłot, M.; Szymczak, A.; Rymer, W.; Zalewska, M.; Malyszczak, K.; Zaleska-Dorobisz, U.; Kuliszkiwicz-Janus, M. Co-infection of the hepatitis C virus with other blood-borne and hepatotropic viruses among hemophilia patients in Poland. *Hepat. Mon.* 2016, 16, e35658. [CrossRef] [PubMed]
38. Medeiros, M.T.G.; Lima, J.M.C.; Lima, J.W.O.; Medeiros, M.M.C.; Coelho-Filho, J.M.C. Prevalence and associated factors to hepatitis C in hemodialysis patients in Brazil. *Rev. Saúde Pública* 2004, 38, 187–193. [CrossRef] [PubMed]
39. Sasaki, L.; Bertolini, D.A.; Arraes, S.M.A.A. Soroprevalência da Hepatite C em pacientes sob tratamento de diálise da região de Toledo, Paraná. *Arq. Mudi* 2006, 10, 5–9.
40. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n 1.376 de 19 de Novembro de 1993. Available online: <http://portal.anvisa.gov.br/legislacao/#/> (accessed on 17 March 2017).
41. Silva, L.K.; Silva, M.B.S.; Lopes, G.B.; Rodart, I.F.; Costa, F.Q.; Santana, N.P.; Paraná, R.; Santana, A.; Reis, M.G. Prevalence of hepatitis C virus infection and HCV genotypes among hemophiliacs in the State of Bahia, northeastern Brazil: Analysis of serological and virological parameters. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2005, 38, 496–502. [CrossRef] [PubMed]



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Artigo 2: Performance of rapid diagnostic tests for detection of Hepatitis B and C markers in HIV infected patients

- **Objetivo:** Avaliar o desempenho de Testes de Diagnóstico Rápido (TDRs) para detecção de HBsAg e anti-HCV em indivíduos infectados pelo HIV.
- **Situação do Manuscrito:** Artigo publicado na revista *Journal of Virological Methods*.

Classificação Qualis: Área de Medicina II – B2, Fator de Impacto: 1.693 (2016)

Autores: Jakeline Ribeiro Barbosa, Jeová Keny Baima Colares, Geane Lopes Flores, Vanessa Faria Cortes, Juliana Custódio Miguel, Moyra Machado Portilho, Vanessa Alves Marques, Denise Vigo Potsch, Carlos Eduardo Brandão-Mello, Marcia Amendola-Pires, José Henrique Pilotto, Danielle Malta Lima, Elisabeth Lampe, Livia Melo Villar.

Resumo: Há pouca informação que descreve a influência da infecção pelo HIV no desempenho de testes de diagnóstico rápido (TDRs) para a detecção do vírus da hepatite B e C. Este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho de TDRs para detecção de HBsAg e anti-HCV em indivíduos infectados pelo HIV. Um total de 362 indivíduos infectados pelo HIV foi recrutado em ambulatórios de HIV/Aids do sudeste e nordeste do Brasil, no período de janeiro de 2013 a novembro de 2014. HBsAg e anti-HCV foram detectados usando EIA comercial e quatro TDRs: HBV (Vikia HBsAg[®] e Wama Imuno-Rapido HBV[®]) e HCV (Bioeasy Teste Rápido HCV[®] e Wama Imuno-Rapido HCV[®]). amostras de soro com HBsAg e anti-HCV reagentes foram testados para HBV DNA e HCV RNA. Sensibilidade, especificidade e índice kappa foram determinados. Utilizando EIA, HBsAg e anti-HCV foram detectados em 14 (3,9%) e 37 (10,2%) amostras de soro, respectivamente. Considerando apenas soro, TDRs HBsAg demonstrou sensibilidades e especificidades acima de 92,0% e valores de Kappa acima de 89,0%. Os TDR anti-HCV demonstraram sensibilidade e especificidades acima de 82,0% e Kappa superior a 89,0%. Usando amostras de sangue total, Vikia HBsAg[®] e Wama Imuno-Rapido HCV[®] apresentaram sensibilidade e especificidade acima de 99,0% com Kappa de 66,4% e 100%, respectivamente. A carga viral do HIV foi maior entre os resultados discordantes do TDR anti-HCV. Os TDRs demonstraram um bom desempenho em indivíduos infectados pelo HIV mostrando a utilidade dos ensaios nessa população.

Palavras-chave: HBV; HCV; HIV-1; Teste de diagnóstico rápido; Diagnóstico.



Performance of rapid diagnostic tests for detection of Hepatitis B and C markers in HIV infected patients



Jakeline Ribeiro Barbosa^{a,b}, Jeová Keny Baima Colares^{b,c}, Geane Lopes Flores^a, Vanessa Faria Cortes^d, Juliana Custódio Miguel^a, Moyra Machado Portilho^a, Vanessa Alves Marques^a, Denise Vigo Potech^e, Carlos Eduardo Brandão-Mello^f, Marcia Amendola-Pires^f, José Henrique Pilotto^g, Danielle Malta Lima^{b,c}, Elisabeth Lampe^a, Livia Melo Villar^{a,*}

^a Laboratory of Viral Hepatitis, Oswaldo Cruz Institute, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil

^b Postgraduate Program in Pathology, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará State, Brazil

^c Postgraduate Program in Medical Sciences, University of Fortaleza, Fortaleza, Ceará State, Brazil

^d Federal University of São João Del Rey, Campus Divinópolis, Minas Gerais State, Brazil

^e University Hospital Clementino Fraga Filho, Federal University of Rio de Janeiro State, Brazil

^f Gaffree and Guinle University Hospital, Federal University of Rio de Janeiro State, Rio de Janeiro, Brazil

^g Nova Iguaçu General Hospital & AIDS and Molecular Immunology Laboratory, Oswaldo Cruz Institute, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

HBV

HCV

HIV-1

Rapid diagnostic test

Diagnosis

ABSTRACT

There is little information describing the influence of HIV infection upon the performance of rapid diagnostic tests (RDTs) for hepatitis B and C virus diagnosis. This study aims to evaluate the performance of RDTs for HBsAg and anti-HCV detection among HIV-infected individuals. A total of 362 HIV infected individuals were recruited from clinics between January 2013 to November 2014 in the southeast and northeast of Brazil. HBsAg and anti-HCV were detected using commercial EIAs and four RDTs: HBV (Vikia HBsAg* and Wama Imuno-Rapido HBV*) and HCV (Bioeasy Teste Rápido HCV* and Wama Imuno-Rapido HCV*). Reactive HBsAg and anti-HCV serum samples were tested for HBV DNA and HCV RNA. Sensitivity, specificity and kappa statistic were determined. Using EIA, HBsAg and anti-HCV were detected in 14 (3.9%) and 37 (10.2%) serum samples respectively. Using serum only, HBsAg RDTs demonstrated sensitivities and specificities above 92.0% and Kappa values above 89.0%. Anti-HCV RDTs demonstrated sensitivity and specificities above 82.0% and Kappa higher than 89.0%. Using whole blood samples, Vikia HBsAg* and Wama Imuno-Rapido HCV* showed sensitivity and specificity above 99.0% with Kappa of 66.4% and 100%, respectively. HIV viral load was higher among discordant results for anti-HCV RDT. RDTs demonstrated good performance in HIV infected individuals showing the usefulness of assays in this population.

1. Introduction

Hepatitis B and C viruses (HBV and HCV) are important causes of chronic liver disease worldwide. The prevalence of HBV and HCV infection is higher among individuals infected with Human Immunodeficiency Virus (HIV) compared to the general population (Pereira et al., 2009; Pereira et al., 2013; Kretzer et al., 2014; Brandão et al., 2015; Flores et al., 2016). Worldwide, it is estimated that 36.9 million people are living with HIV, 2–15% of whom are coinfecting with HCV and 5–20% chronic carriers of HBV (World Health Organization-WHO, 2016a; World Health Organization-WHO, 2016b).

HBV transmission occurs parenterally and, especially sexually. Vertical transmission is also a frequent cause of HBV spread in highly endemic regions. While the transmission of HCV occurs mainly parenterally, by sharing needles, syringes or contaminated objects, sexual and vertical transmission is uncommon (Kretzer et al., 2014; World Health Organization-WHO, 2016a).

Early diagnosis of HBV and HCV infection is especially important among HIV infected individuals as coinfection may affect the prognosis of disease, definition of treatment and, consequently, the outcome of therapy (Lacombe and Rockstroh, 2012; Távora et al., 2013). Identification of HBsAg and anti-HCV markers is commonly done using enzyme

* Corresponding author at: Viral Hepatitis Laboratory, Hélio and Peggy Pereira Pavillion, Ground Floor, Office B09, FIOCRUZ Av. Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, Postal Code: 210360-040, Brazil.

E-mail addresses: lvillar@ioc.fiocruz.br, liviafiocruz@gmail.com (L.M. Villar).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.08.001>

Received 25 February 2017; Received in revised form 30 July 2017; Accepted 3 August 2017

Available online 04 August 2017

0166-0934/ © 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

immunoassay (EIA) (Villar et al., 2015). However, these assays require specialized technicians and infrastructure. Rapid diagnostic tests (RDT) could be useful tools for HBV and HCV diagnosis as their simplicity makes them suitable for emergency situations and remote areas without infrastructure (Randrianirina et al., 2008; Silva et al., 2011; Smith et al., 2011; Franzeck et al., 2013; Scalioni et al., 2014; Cruz et al., 2015).

Some studies have shown good performance of RDTs for HBsAg and anti-HCV detection in the general population (Randrianirina et al., 2008; Kim et al., 2013; Firdaus et al., 2013; Bottero et al., 2013). However, there is little data regarding the performance of RDTs for HBsAg and anti-HCV detection among HIV-infected individuals (Franzeck et al., 2013; Scalioni et al., 2014; Cruz et al., 2015). In these studies, only a few participants were included or the influence of HIV viral load, treatment and CD4 cell count were not included in the performance of these assays.

This study aims to evaluate the performance of rapid tests for HBsAg and anti-HCV detection in HIV-infected individuals using serum and whole blood samples to determine the applicability of these tests. In addition, the influence of HIV viral load, antiretroviral treatment, and CD4+ cell count were also evaluated.

2. Materials and methods

2.1. Studied population

This study comprised 362 HIV-infected individuals of both genders, aged 18 years or over, referred from infectious disease clinics located in southeast and northeast regions of Brazil. The HIV positive status of each patient was predicated upon the presentation of a positive diagnostic serology test for HIV (The Vitros Anti-HIV 1 + 2 assay (a registered trademark of Ortho-Clinical Diagnostics, Rochester, NY)

HIV viral load, CD4+ cell count, antiretroviral treatment and time of HIV diagnosis were obtained from each individual in medical records. Blood samples were collected from January 2013 to November 2014.

2.2. Serological and molecular assays

Blood samples were collected by venipuncture to obtain whole blood and serum samples. Serum samples were tested for HBsAg, anti-HBc total, anti-HBs, and anti-HCV using commercial EIAs according to the manufacturer's instructions (Bioelisa[®] HBsAg assay, Bioelisa[®] anti-HBc, Biokit and Bioelisa[®] anti-HBs, Biokit, Spain and Murex Anti-HCV Version 4.0[®], DiaSorin, Italy). Reactive and indeterminate samples were retested in duplicate and indeterminate results were excluded.

HBsAg and anti-HCV reactive samples were submitted to HBV DNA and HCV RNA molecular assays (Abbott[®] RealTime HBV, Abbott Molecular Inc., EUA and Abbott[®] RealTime HCV, Abbott Molecular Inc., EUA). HBV DNA and HCV RNA reactive samples were genotyped using INNO-LIPA[®] Genotyping HBV test (Innogenetics N.V., Belgium) and Versant[®] HCV Genotype 2.0 (LIPA, Siemens, Germany) HCV II, respectively.

2.3. HBsAg and anti-HCV rapid diagnostic tests

Two rapid diagnostic tests were evaluated for HBsAg detection (Vikia[®] HBsAg, BioMérieux, France and Wama Imuno-Rápido HBV[®], Wama Diagnostica, Brazil) and two RDTs were used for anti-HCV detection (Bioeasy Teste Rápido HCV[®], Bioeasy Diagnostica Ltda, Brazil and Wama Imuno-Rápido HCV[®], Wama Diagnostica, Brazil). Tests were conducted according to the manufacturer's instructions.

Manufacturer's instructions describe an analytical sensitivity of RDTs is ≤ 2 IU/mL for Vikia[®] HBsAg and ≥ 10 IU/mL for Wama Imuno-Rápido HBsAg[®]. Suppliers did not describe the limit of detection of RDTs for anti-HCV detection.

All RDTs are qualitative tests based on the lateral immunochromatographic technique. RDTs for HBV surface antigen (HBsAg) use a combination of monoclonal and polyclonal antibodies specific for HBsAg. For the execution of RDT Vikia HBsAg[®], 75 μ L serum or whole blood was added to the sample region on the test plate ("S" area), migrating by capillarity along the membrane. Capillary blood by fingerstick can also be used in this test. In the case of the whole blood sample, it is necessary to add 75 μ L of diluent immediately after the blood. The test reading should be taken between 15 and 30 min thereafter. For the execution of RDT Wama Imuno-rápido HBsAg[®], 100 μ L serum was added to the test plate and the reading taken between 10 and 20 min later. This version of RDT Wama Imuno-rápido HBsAg[®] can be processed only with a serum sample.

The RDTs for HCV antibody (anti-HCV) use a mixture of recombinant and synthetic proteins of HCV (Core, NS3, NS4 and NS5) on the test plate as detection and capture agents. For the implementation of RDT Wama Imuno-rápido anti-HCV[®], 10 μ L of serum or whole blood sample with 3 drops of diluent buffer were added into the sample area on the test plate. The results were interpreted after 15–20 min. For RDT Bioeasy HCV Rapid Test[®], 10 μ L of the sample and 4 drops of the diluent buffer were added to the sample area on the test plate, and a reading taken 5–20 min thereafter. Capillary blood by fingerstick can also be used in both tests.

The RDTs were read by two researchers to avoid interpretation error and positive test samples were retested. For negative samples it was necessary to wait 30 min to confirm the result.

2.4. Data analysis

Data analysis comprised samples with well-defined serology. Samples exhibiting indeterminate EIA results were excluded. Socio-demographic, epidemiological, clinical, EIA and RDT results were entered into an Access[®] database. Statistical analyses were performed using Epi Info[™] 7 (Epi Info Software, CDC, Atlanta, USA). Parameters associated with test performance were evaluated using GraphPad InStat Programs, version 3.01 (GraphPad Software, San Diego, USA) and MedCalc, version 9.2.1.0 (MedCalc Software, Mari-akerke, Belgium).

The clinical sensitivity (Cs), specificity (S), positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) for each rapid test was evaluated, and their respective 95% confidence intervals (95% CI) calculated. Concordance between the results of rapid tests and the results of the EIA was evaluated by kappa statistics. P-values (two-tailed) < 0.05 were considered statistically significant.

3. Results

3.1. Studied population

A total of 362 HIV-infected individuals were recruited; most of them male (67.7%). Median age of the general population was 41 (18–80) years and HIV/HCV coinfecting individuals showed a higher median age 53 (31–72) years (Table 1).

Using EIA, HBsAg, anti-HBs and anti-HBc were detected in 14 (3.8%), 217 (59.8%), and 132 (36.4%) serum samples respectively. Simultaneous detection of anti-HBc and anti-HBs was observed in 77 samples (21.2%). HBV DNA was detected in 5 (38.5%) HBsAg reactive serum samples with a mean viral load of 2.1 ± 0.7 log IU/mL.

Anti-HCV was detected in 37 (10.2%) serum samples using EIA, 30 of which also tested positive for the presence of HCV RNA (81.1%) with a mean viral load of 5.5 ± 1.2 log IU/mL and an undetectable viral load of HCV RNA in 7 (18.9%) samples. Genotype 1 (92.3%) was the most prevalent followed by genotype 3 (7.7%).

The HIV viral load was greater in 87 (32.3%) monoinfected samples than in 2/8 (25.0%) HIV/HBV and 2/16 (12.5%) HIV/HCV coinfecting samples. Antiretroviral treatment of HIV was more common in HIV monoinfected 242/311 (77.8%) and HIV/HBV coinfecting 11/14

Table 1
Clinical and laboratory data of HIV infection and co-infection HIV/HBV or HIV/HCV in the study population (n = 362).

Variable	HIV	HIV/HBV	HIV/HCV	Total
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Gender	N = 311	N = 14	N = 37	N = 362
Male	208 (66.9)	13 (92.9)	24 (64.9)	245 (67.7)
Female	103 (33.1)	1 (7.1)	13 (35.1)	117 (32.3)
Median Age (years)	39 (18–80)	47 (34–65)	53 (31–72)	41 (18–80)
HIV				
Anti-HIV-1 absorbance (OD) Mean (± SD)	2.98 (± 0.12)	2.45 (± 0.965)	2.90 (± 0.389)	2.95 (± 0.293)
HIV Viral Load (%)^a				
Detected	87/269 (32.3)	2/8 (25.0)	2/16 (12.5)	91/293 (31.1)
Undetected (%)	182/269 (67.7)	6/8 (75.0)	14/16 (87.5)	202/293 (68.9)
Log (UI/mL) mean (± SD)	2.5 (± 1.3)	1.7 (± 0.2)	1.9 (± 0.6)	2.5 (± 1.3)
CD4 Count (cells/mL) mean (± SD)^b	623.8 (± 617.02)	689.1 (± 297.6)	726.8 (± 258.9)	631.0 (± 597.2)
CD4 + > 350 cells/mm ³	56/261 (21.5%)	2/8 (25.0%)	2/17 (11.8%)	60/286 (21.0%)
CD4 + < 350 cells/mm ³	205/261 (78.5%)	6/8 (75.0%)	15/17 (88.2%)	226/286 (79.0%)
CD8 Count (cells/mL) mean (± SD)	1028.1 (± 524.8)	836.8 (± 244.4)	1318.3 (± 611.1)	1037.2 (± 528.9)
Diagnostic time HIV Mean (± DP) year	7.9 (± 6.2)	9.9 (± 8.7)	13.4 (± 5.9)	8.17 (± 6.5)
Antiretroviral Treatment (%)				
Yes	242/311 (77.8)	11/14 (78.6)	26/37 (70.3)	279/362 (77.1)
No	35/311 (11.3)	0/14 (0.0)	4/37 (10.8)	39/362 (10.8)
Unknown	34/311 (10.9)	3/14 (21.4)	7/37 (18.9)	44/362 (12.1)
Serology for Hepatitis B				n = 362
HBsAg	0	14 (3.9)	0	14/362 (3.9)
Anti-HBc total	101 (32.5)	13 (92.8)	18 (48.6)	132/362 (36.4)
Anti-HBs	197 (63.3)	0	20 (54.0)	217/362 (59.8)
Anti-HBc and anti-HBs	66 (21.2)	0	11 (29.7)	77/362 (21.2)
Serology for Hepatitis C				n = 37
Anti-HCV	0	0	37 (10.2)	37/362 (10.2)

^aSome participants did not respond.

^a some samples were not the result of HIV RNA.

^b not all samples had exhibited CD4.

(78.6%) participants than in HIV/HCV coinfecting 26/37 (70.3%) participants. Of the 11 (78.6%) HIV/HBV coinfecting participants receiving antiretrovirals, 10 (90.9%) used lamivudine (3TC) and tenofovir (TDF). Of the 26 HIV/HCV coinfecting participants receiving antiretroviral treatment, 10 (38.5%) used a 3TC + TDF regimen and 16 (61.5%) received other combination treatments with or without 3TC.

Overall, participants showed good condition of the immune system, where 226 (79%) samples had CD4 cell counts above 350 cells/mm³. In mono-infected (HIV) individuals, the mean CD4 cell count was 623.8 ± 617.0 cells/mm³ and mean CD8 count was 1028.1 ± 524.8 cells/mm³. While in cases of coinfection with HIV/HBV, mean CD4 count was 689.1 ± 297.6 cells/mm³ and mean CD8 count was 836.8 ± 244.4 cells/mm³. Among coinfecting HIV/HCV samples, of mean CD4 count was 726.8 ± 258.9 cells/mm³ and mean CD8 count was 1318.3 ± 611.1 cells/mm³.

The participants co-infected with HIV/HCV (13.4 ± 5.9 years) and HIV/HBV (9.9 ± 8.7 years) showed an average time of diagnosis of HIV infection higher than those mono-infected HIV samples (7.9 ± 6.2).

3.2. Evaluation of sensitivity and specificity of RDTs for HBsAg detection

When only HBsAg reactive results by EIA were considered as true positives, sensitivity of RDT varies from 92.9% to 100% depending on the RDT and specimen evaluated (serum or whole blood) and specificities were above 99% for all RDTs (Table 2). When HBsAg/HBV DNA reactive samples were considered as true positives, sensitivity of RDT WAMA Imuno-Rápido HBsAg decreased to 80% and sensitivity of RDT VIKIA HBsAg remained at 100% (Table 3).

The RDT VIKIA HBsAg evaluated with whole blood also performed well, with sensitivity and specificity above 99% (Table 2). When the EIA-derived for HBsAg-reactive samples were verified by HBV DNA assay (Table 3), performance was undiminished, though with increased confidence intervals.

True positive samples for RDTs for HBsAg detection showed high mean optical-density-to-cut-off ratio (OD/CO) values compared to false negative samples. However, it was not possible to calculate the p value or to compare the mean HBsAg OD/CO for two RDTs evaluated (Table 4).

3.3. Evaluation of sensitivity and specificity of RDTs for anti-HCV detection

When EIA-derived anti-HCV reactive results were considered as true positives, sensitivities of RDT varied from 82.3% to 100% depending on the RDT and specimen evaluated, while specificities were above 99% (Table 2). When anti-HCV/HCV RNA reactive samples were considered as true positives, sensitivities increased from 95.8% to 100% and specificities remained above 99% (Table 3).

The RDT WAMA Immuno-rápido anti-HCV evaluated with whole blood also performed well, with sensitivity and specificity above 99% (Table 2). When EIA-derived anti-HCV reactive samples were also verified by the HCV RNA assay (Table 3), performance was improved as the PPV increased from 50% to 100% and agreement (Kappa) increased from 66.4% to 100%.

The viral load of HIV and HCV seems to have influenced the performance of anti-HCV RDTs in relation to the EIA and consequently produced statistically significant differences between discordant and concordant results of the anti-HCV RDT (p < 0.05) (Table 5). CD4 cell count and antiretroviral treatment for HIV was not significant.

True positive samples for anti-HCV detection showed high mean optical-density-to-cut-off ratio (OD/CO) values compared to false negative samples. This difference was significant (p < 0.05) for RDT anti-HCV detection (Table 4).

4. Discussion

The present study demonstrated good performance of rapid tests for HBsAg and anti-HCV detection in HIV infected individuals compared to

Table 2
Rapid test assessment for HBsAg and anti-HCV detection in samples of HIV-positive patients compared to EIA. Brazil.

Rapid Tests	Total (N)	TP	FP	TN	FN	% Sensitivity (IC 95%)	% Specificity (IC 95%)	% PPV (IC95%)	% NPV (IC95%)	% Kappa (IC95%)
		a	b	D	c					
1- HBsAg marker										
WAMA Imuno-Rápido HBsAg – Serum	362	13	2	346	1	92.9 (66.1–99.8)	99.4 (97.9–9.9)	86.7 (59.5–98.3)	99.7 (98.4–100)	89.2 (77.1–100)
VIKIA HBsAg – Serum	362	13	0	348	1	100.0 (75.3–100)	99.7 (98.4–100)	92.8 (66.1–99.8)	100.0 (98.9–100)	96.02 (88.6–100)
VIKIA HBsAg – whole blood	228	6	0	222	0	100.0 (54.1–100)	100.0 (98.3–100)	100.0 (54.1–100)	100.0 (98.3–100)	100.0 (100–100)
2- Anti-HCV marker										
BIOEASY HCV Rapid Test – Serum	355	30	0	321	4	88.8 (72.5–96.7)	100 (98.8–100)	100 (88.4–100)	98.8 (96.9–99.6)	93.1 (86.5–99.8)
WAMA Imuno-Rápido anti-HCV – Serum	355	28	0	321	6	82.3 (65.5–93.2)	100 (98.8–100)	100.0 (87.6–100)	98.7 (95–99.3)	89.4 (81–97.7)
WAMA Imuno-Rápido anti-HCV – whole blood	154	1	0	152	1	100.0 (2.5–100)	99.3 (96.4–100)	50.0 (1.3–98.7)	100.0 (97.6–100)	66.04 (4.5–100)

Rapid Tests evaluated: VIKIA[®] HBsAg, WAMA[®] HBsAg, BIOEASY[®] anti-HCV e WAMA[®] anti-HCV .TP- True Positive. FP-False positive. TN-True negative. FN-false negative. PPV- Positive Predictive Value and NPV-Negative Predictive Value.

EIA results. The RDTs Vikia HBsAg and Wama Immuno-Rapid HBsAg showed high sensitivity (> 92%) and specificity (> 99%) using both serum and whole blood specimens. This has previously been observed in healthy and HBV monoinfected individuals (Franzeck et al., 2013; Cruz et al., 2015). Franzeck et al. (2013) found sensitivity and specificity of 96% and 100%, respectively for RDT Determine HBsAg using serum and whole blood from HIV-1 positive patients in recent anti-retroviral treatment in Tanzania demonstrating a similar result to the present work.

In the present study, low sensitivity and agreement of Wama Immuno-Rapid HBsAg compared to EIA was found when true positive samples were those presenting HBsAg and HBV DNA in serum. These findings could have been attributed to the small number of HBV DNA reactive samples included in the study due to antiviral treatment (Brandão et al., 2015; Raboni et al., 2014). Indeed, approximately 60% of HBsAg reactive samples did not have HBV DNA in serum. Almost 80% (11/14) of the HIV/HBV coinfecting individuals were on anti-retroviral treatment and the majority (90%) had a combination regimen consisting of lamivudine (3TC) and tenofovir (TDF), which are used to treat HBV and HIV (Raboni et al., 2014; Phung et al., 2014).

Great variation of limit of detection of HBsAg RDT and enzyme immunoassays is found among different assays. Scheiblaue et al. (2010) reported range of sensitivity between HBsAg EIAs of 0.021 IU/

mL to > 2.33 IU/mL with the PEI ad standard and 0.013 IU/mL to > 4 IU/mL with the International Consortium for Blood Safety (ICBS) Quantitative Panel. They also evaluated 19 HBsAg rapid assays, one was able to detect 1.5 IU/mL, two rapid assays had sensitivities of 1.7–4 IU/mL, three rapid assays barely detected 4 IU/mL, and 13 rapid assays failed to detect any of the ICBS standard dilutions as positive, i.e., these tests can only detect undiluted specimens with HBsAg levels of over 4 IU/mL. These assays were not evaluated in the present work, but these findings demonstrate great divergence in different assays of different regions of the world.

In the present study, RDTs for anti-HCV detection (Wama Immuno-rapid anti-HCV[®] and Bioeasy HCV Rapid Test[®]) revealed sensitivities greater than 80%. This is lower than demonstrated in studies conducted among non-HIV infected individuals (Scalioni et al., 2014; Rosa et al., 2013). However this could indicate the interference of HIV in assay performance due to suppression of the humoral immune system of the HIV infected individual. Such an effect would decrease their ability to produce antibodies, and by extension the concentration of anti- HCV (Ross et al., 2015; Chonwattana et al., 2016). On the other hand, sensitivity of anti-HCV RDT increased when anti-HCV/HCV RNA positive samples were considered as true-positive samples, showing the efficiency of RDT in identifying cases of active Hepatitis C viremia.

Performance of RDTs for detection of HBsAg and anti-HCV appears

Table 3
Performance of rapid tests for HBsAg and anti-HCV detection in comparison to EIA (Bioelisa[®] HBsAg assay, Biokit and Murex HCV Ab Version 4.0[®], DiaSorin) using HBV DNA and HCV RNA status in serum. (1) Performance of HBV RT when HBsAg/HBV DNA reactive samples were considered true positives. (2) Performance of HCV RT when HCV Ab/HCV RNA reactive samples were considered true positives.

Rapid Tests	Total (N)	TP	FP	TN	FN	% Sensitivity (IC 95%)	% Specificity (IC 95%)	% PPV (IC95%)	% NPV (IC95%)	% Kappa (IC95%)
		a	b	d	c					
1- HBsAg and HBV DNA reactive										
WAMA Imuno-Rápido HBsAg – Serum	353	4	2	346	1	80 (28.3–99.5)	99.4 (97.9–99.9)	66.7 (22.3–95.7)	99.7 (98.4–100)	72.3 (42.2–100)
VIKIA HBsAg – Serum	353	5	0	348	0	100 (47.8–100)	100 (98.9–100)	100 (47.8–100)	100 (98.9–100)	100 (100–100)
VIKIA HBsAg – whole blood	225	3	0	222	0	100 (29.2–100)	100 (98.3–100)	100 (29.2–100)	100 (98.3–100)	100 (100–100)
2- Anti-HCV and HCV RNA reactive										
BIOEASY HCV Rapid Test – Serum	339	23	1	314	1	95.8 (78.9–99.9)	99.7 (98.2–100)	95.8 (78.9–99.9)	99.7 (98.2–100)	95.5 (89.3–100)
WAMA Imuno-Rápido anti-HCV – Serum	339	22	0	315	2	100 (84.5–100)	99.4 (97.7–99.2)	91.7 (73–98.9)	100 (98.8–100)	95.3 (88.9–100)
WAMA Imuno-Rápido anti-HCV – whole blood	153	1	0	152	0	100 (2.5–100)	100 (97.6–100)	100 (2.5–100)	100 (97.6–100)	100 (100–100)

Table 4

OD/CO value for HBsAg and anti-HCV obtained using EIA according to false negative and true positive results by rapid tests.

Enzyme immunoassay (EIA)	Rapid Tests			
	WAMA Imuno-rápido HBsAg*		Vikia HBsAg*	
HBsAg marker	False negative DO/CO mean ± SD	True positive DO/CO mean ± SD	False negative DO/CO mean ± SD	True positive DO/CO mean ± SD
Bioelisa [®] HBsAg assay (Biokit) p value	ND –	39.12 (± 10.16)	ND –	39.89 (± 10.12)
Anti-HCV marker	WAMA Imuno-rápido Anti-HCV*		BIOEASY HCV Rapid Test*	
	False negative DO/CO mean ± SD	True positive DO/CO mean ± SD	False negative DO/CO mean ± SD	True positive DO/CO mean ± SD
Murex Anti-HCV Version 4.0 [®] (Diasorin) p value	3.01 (± 1.56) 0.0007	4.13 (± 0.34)	2.08 (± 1.49) < 0.0001	4.12 (± 0.34)

OD/CO: Optical Density/Cut Off.

ND: not done since just one false negative result by RTs HBsAg was detected.

to be influenced by antigen and antibody concentration since false-negative results in RDTs had lower mean OD/CO values in EIA compared to true-positive samples. Bottero et al. (2013)) also found that samples showing false-negative HBsAg results by RDTs Vikia HBsAg[®], Determine[™] HBsAg and Quick Profile[®] demonstrated lower HBsAg antigen levels than true-positive samples.

HIV and HCV viral load appears to have influenced the performance of anti-HCV RDTs compared to EIA since samples with discordant results from anti-HCV RDTs had a higher mean HIV viral load than concordant results, thus showing a negative impact of HIV viral load on the efficiency of RDTs. In this respect high HIV viral load causes dysfunction in the patient's immune system, especially in the humoral response, causing a lower production of antibodies and consequently interference in the amount of anti-HCV available in the blood of the coinfecting patient (Ross et al., 2015; Chonwattana et al., 2016).

Firdaus et al. (2013) recommended that anti-HCV RDTs should not be used as the only diagnostic tool in a high-risk group, such as HIV-positive individuals. Hoffmann et al. (Hoffmann et al., 2012) have hypothesized that interaction with HIV infection itself could affect the performance of RDTs. Despite this, it is not clear how the sensitivity of RDTs to HBsAg and anti-HCV are affected by the concomitant presence of HIV.

In the present study, CD4 cell count and antiretroviral treatment for HIV did not interfere in HBsAg and anti-HCV RDT performance, something that could be due to a lack of representation of immunosuppressed individuals, since nearly 80% of patients had CD4 cell count above 350 cells/mm. Hoffmann et al. (Hoffmann et al., 2012) found high rates of HBsAg positivity in RDTs among individuals presenting low CD4 count.

Table 5

Analysis of discordant and concordant results obtained by Bioeasy HCV Rapid Test and Wama Imuno-Rápido anti-HCV in relation to EIA and the clinical and laboratory variables selected.

Variable	rapid test result anti-HCV		p value
	discordant N (%)	concordant N (%)	
HIV Viral Load (copies/mL) mean (± SD)	2518 ± 2468	45 (± 5)	0.0238
Log (IU/mL) (± SD)	2.65 (± 1.0)	1.65 (± 0.05)	0.0295
CD4 mean (± SD)	774.2 (± 294.5)	741.8 (± 290.9)	0.8586
CD4 > 350 cells/mm ³	0/4 (0.0)	1/10 (10.0)	1
CD4 < 350 cells/mm ³	4/4 (100.0)	9/10 (90.0)	1
unknown	2	20	
CD8 mean (± SD)	1,566.2 (± 559.8)	1241 (± 482.3)	0.3194
CD4/CD8 mean (± SD)	0.65 (± 0.3)	0.74 (± 0.4)	0.7017
Treatment for HIV	6/6 (100)	19/23 (82.6)	0.5530
HCV viral load mean (± SD)	4,547,426 (± 1,492,156)	1,265,434 (± 1,759,165)	0.0172
Log HCV mean (± SD)	6.6 (± 0.1)	5.6 (± 0.9)	0.1354

This study presented some limitations, such as: the low number of HBV and HCV individuals coinfecting by HIV that may have interfered in the evaluation of the sensitivity and predictive value of the RDTs, generating broad confidence intervals; lack of data for some parameters as showed in tables; absence of HIV RNA data in all samples and the rate of undetectable HBV infection which may lead to false negative results (Brandão et al., 2015; Raboni et al., 2014). Despite these limitations, RDTs represent a useful tool for HBV and HCV detection in HIV infected individuals in areas without laboratorial infrastructure and limited resources.

Funding

This research was supported by the Support Foundation to Research of the State of Rio de Janeiro (FAPERJ), the Brazilian National Council of Technological and Scientific Development (CNPq), Brazilian Ministry of Health, the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES-DINTER Tropical Medicine Pos graduation program and Federal University of Ceará – 309/2013) and the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ).

Competing interests

The authors disclose no actual or potential conflicts of interest, including any financial, personal or other relationships with people or organizations within two years of the beginning of this study that could inappropriately influence the study.

Ethical approval

This study was approved by Ethics Committee of FIOCRUZ under the numbers 34049514.7.3006.5258 and 34049514.7.3009.5051. All participants included in the study provided the informed consent and the study protocol was followed according to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki.

Acknowledgments

Authors would thank to Elisângela Ferreira da Silva, Carolina Pimentel de Azevedo, Nathalia Souza, Camila de Lizier Mesquita, Geysa Maria Nogueira Farias, Antonia Barbosa de Oliveira, Maria Marion Borges Ático for technical assistance in blood sampling and medical staff of HIV/AIDS Medical Integrated Care Center (NAMI) of the University of Fortaleza (UNIFOR), Clementino Fraga Filho University Hospital (UFRJ) and Gaffrée Guinle University Hospital (UNIRIO) for helping to conduct the study.

References

- Bottero, J., Boyd, A., Gozlan, J., Lemoine, M., Carrat, F., Collignon, A., et al., 2013. Performance of rapid tests for detection of HBsAg and anti-HBsAg in a large cohort France. *J. Hepatol.* 58 (3), 473–478. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2012.11.016>.
- Brandão, N.A., Primer, I.A., Martelli, C.M., Turchi, M.D., 2015. Prevalence of hepatitis B and C infection and associated factors in people living with HIV in Midwestern Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* 19 (4), 426–430. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2015.02.001>.
- Chonwattana, W., Raengsakulrach, B., Holtz, T.H., Wasinrapee, P., Tongtoyai, J., Chaikummao, S., et al., 2016. Hepatitis B vaccination uptake and correlates of serologic response among HIV-infected and uninfected men who have sex with men (MSM) in Bangkok, Thailand. *Vaccine* 12 (17), 2044–2050. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.11.071> (34).
- Cruz, H.M., Scalioni, L.P., Paula, V.S., Silva, E.F., do Ó, K.M.R., Milagres, F.A.P., et al., 2015. Evaluating HBsAg rapid test performance for different biological samples from low and high infection rate settings & populations. *BMC Infect. Dis.* 15, 548. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-015-1249-5>.
- Firdaus, R., Saha, K., Sadhukhan, P.C., 2013. Rapid immunoassay alone is insufficient for the detection of hepatitis C virus infection among high-risk population. *J. Viral Hepat.* 20 (4), 290–293. <http://dx.doi.org/10.1111/jvh.12002>.
- Flores, G.L., Almeida, A.J., Miguel, J.C., Cruz, H.M., Portilho, M.M., Scalioni, L.P., et al., 2016. A cross section study to determine the prevalence of antibodies against HIV infection among hepatitis B and C infected individuals. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 13, 314. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph13030314>.
- Franzeck, F.C., Ngwale, R., Msongole, B., Hamisi, M., Abdul, O., Henning, L., et al., 2013. Viral hepatitis and rapid diagnostic test based screening for HBsAg in HIV-infected patients in rural Tanzania. *PLoS One* 8 (3), e58468. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0058468>.
- Hoffmann, C.J., Dayal, D., Cheyip, M., McIntyre, J.A., Gray, G.E., Conway, S., et al., 2012. Prevalence and associations with hepatitis B and hepatitis C infection among HIV-infected adults in South Africa. *Int. J. STD AIDS* 23, 10. <http://dx.doi.org/10.1258/ijsa.2009.009340>.
- Kim, M.H., Kang, S.Y., Lee, W.I., 2013. Evaluation of a new rapid test kit to detect hepatitis C virus infection. *J. Virol. Methods* 193 (2), 379–382. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.07.005>.
- Kretzer, I.F., Livramento, A., Cunha, J., Gonçalves, S., Tosin, I., Spada, C., et al., 2014. Hepatitis C worldwide and in Brazil: silent Epidemic? Data on disease including incidence, transmission, prevention, and treatment. *Sci. World J.* 10. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/827849>.
- Pereira, L.M.M.B., Martelli, C.M.T., Moreira, R.C., Merchan-Hamman, E., Stein, A.T., Cardoso, M.R.A., et al., 2013. Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil. 2005 through 2009: a cross-sectional study. *BMC Infect. Dis.* 13, 60. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-13-60>.
- Lacombe, K., Rockstroh, J., 2012. HIV and viral hepatitis coinfections: advances and challenges. *Gut* 61, i47–58.4. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302062>.
- Pereira, L.M.M.B., Martelli, C.M.T., Merchan-Hamann, E., Montarroyos, U.R., Braga, M.C., Lima, M.L.C., et al., 2009. Population-Based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 81 (2), 240–247.
- Phung, B.-C., Sogni, P., Launay, O., 2014. Hepatitis B and human immunodeficiency virus co-infection. *World J. Gastroenterol.* 20 (46), 17360–17367. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v20.i46.17360>.
- Raboni, S.M., Tuon, F.F., Beloto, N.C.P., Demeneck, H., Oliveira, A., Largura, D., et al., 2014. Human immunodeficiency virus and hepatitis C virus/hepatitis B virus co-infection in Southern Brazil: clinical and epidemiological evaluation. *Braz. J. Infect. Dis.* 18 (6), 664–668. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2014.05.011>.
- Randrianirina, F., Carod, J.F., Ratsima, E., Chrétien, J.B., Richard, V., Talarmin, A., 2008. Evaluation of the performance of four rapid tests for detection of hepatitis B surface antigen in Antananarivo Madagascar. *J. Virol. Methods* 151 (2), 294–297. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.03.019>.
- Rosa, L., Dantas-Corrêa, E.B., Narciso-Schiavon, J.L., Schiavon, L.D., 2013. Diagnostic performance of two point-of-care tests for anti-HCV detection. *Hepat. Mon.* 13, 9. <http://dx.doi.org/10.5812/hepatmon.12274>.
- Ross, R.S., Stambouli, O., Gruner, N., Marcus, U., Cai, W., Zhang, W., et al., 2015. Detection of infections with hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus by analyses of dried blood spots—performance characteristics of the ARCHITECT system and two commercial assays for nucleic acid amplification. *J. Virol. J.* 10, 1. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-10-72>.
- Scalioni, L.P., Cruz, H.M., Paula, V.S., Miguel, J.C., Marques, V.A., Villela-Nogueira, C.A., et al., 2014. Performance of rapid hepatitis C virus antibody assays among high- and low-risk populations. *J. Clin. Virol.* 60 (3), 200–205. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2014.04.001>.
- Scheiblaue, H., El-Nageh, M., Diaz, S., Nick, S., Zeichhardt, H., Grunert, H.-P., Prince, A., 2010. Performance evaluation of 70 hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HBsAg) assays from around the world by a geographically diverse panel with an array of HBV genotypes and HBsAg subtypes. *Vox Sang.* 98 (3p2), 403–414. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1423-0410.2009.01272.x>.
- Silva, C.R.N., Santos, E.L., Souza, L.A., 2011. Manual De Treinamento Para Teste rápido Hepatites B (HBsAg) E C (anti-HCV). Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde (Available in: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/page/2012/50770/manual_para_capacitacao_de_tr_para_as_hepatites_b_17745.%20pdf).
- Smith, B.D., Drobeniuc, J., Jewett, A., Branson, B.M., Garfein, R.S., Teshale, E., et al., 2011. Evaluation of three rapid screening assays for detection of antibodies to hepatitis C virus. *J. Infect. Dis.* 204, 825–831. <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jir422>.
- Távora, L.G.F., Hyppolito, E.B., Cruz, J.N.M., Portela, N.M.B., Pereira, S.M., Veras, C.M., 2013. Hepatitis B. C and HIV co-infections seroprevalence in a northeast Brazilian center. *Arq. Gastroenterol.* 50 (4), 277–280. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-28032013000400007>.
- Villar, L.M., Cruz, H.M., Barbosa, J.R., Bezerra, C.S., Portilho, M.M., Scalioni, L.P., 2015. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World J. Virol.* 4 (4), 323–342. <http://dx.doi.org/10.5501/wjv.v4.i4.323>.
- World Health Organization-WHO, 2016a. Hepatitis B and C. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/> (Accessed on January 31, 2016).
- World Health Organization-WHO, 2016b. HIV and Hepatitis Coinfections. <http://www.who.int/hiv/topics/hepatitis/hepatitisinfo/en/> (Accessed on March 21, 2016).

Artigo 3: Performance of point of care assays for hepatitis B and C viruses in chronic Kidney Disease patients

- **Objetivo:** avaliar o desempenho de testes rápidos para detecção de HBsAg e anti-HCV em pacientes com doença renal crônica
- **Situação do Manuscrito:** Artigo publicado na revista *Journal of Clinical Pathology*
- **Classificação Qualis:** Área de Medicina II – A2, Fator de Impacto: 2.687 (2016)

Autores: Jakeline Ribeiro Barbosa, Vanessa Faria Cortes, Moyra Machado Portilho, Juliana Custódio Miguel, Vanessa Alves Marques, Cristianne Sousa Bezerra, Natália Vasconcelos de Souza, Danielle Malta Lima, Jeová Keny Baima Colares, Lia Laura Lewis-Ximenez, Elisabeth Lampe, Livia Melo Villar.

Resumo: O Teste Rápido (TR) foi usado para o diagnóstico de hepatite B e C na população em geral, mas pouco se sabe sobre a influência das condições clínicas na precisão desses ensaios. Este estudo tem como objetivo avaliar o desempenho de TRs para a detecção de antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) e anticorpos contra o vírus da hepatite C (anti-HCV) em pacientes com doença renal crônica (DRC). Foram incluídos neste estudo 286 indivíduos em hemodiálise, recrutados em clínicas de diálise do Rio de Janeiro-RJ, Queimados-RJ e Fortaleza-CE, no período de dezembro de 2013 a fevereiro de 2015. HBsAg e anti-HCV foram detectados usando EIA comercial e quatro TRs: HBsAg (WAMA ImunoRápido HBsAg e VIKIA HBsAg) e anti-HCV (DOLES HCV teste rápido e WAMA ImunoRápido anti-HCV) em soro e sangue total. Usando o EIA, a prevalência de HBsAg e anti-HCV foi de 4,5% e 16,1% em pacientes com DRC. Os TRs HBsAg e anti-HCV tiveram sensibilidades de 92,3% a 100% e 84,8% a 89,1%, enquanto as especificidades foram de 99,3% a 100% e 99,2% a 99,6%, respectivamente. Os TRs, que utilizaram amostras de soro, tiveram melhor desempenho em comparação com amostras de sangue total. Enquanto, as amostras verdadeiramente positivas pelos TRs apresentaram valores de densidade óptica elevada para valores de corte (DO/CO) em comparação com o EIA. Este estudo demonstra o bom desempenho de TRs HBsAg e anti-HCV em pacientes com DRC, especialmente em amostras de soro, indicando baixa interferência clínica das doenças no desempenho desses ensaios. Os TRs podem ser uma ferramenta importante para o rastreamento de HBV e HCV em populações de alto risco.

Palavras-chave: Vírus da hepatite B; Vírus da hepatite C; Teste rápido; Diagnóstico; doença renal crônica

Performance of point of care assays for hepatitis B and C viruses in chronic kidney disease patients

Jakeline Ribeiro Barbosa,^{1,2} Vanessa Faria Cortes,^{1,3} Moyra Machado Portilho,¹ Juliana Custódio Miguel,¹ Vanessa Alves Marques,¹ Cristianne Sousa Bezerra,^{1,4} Natalia Vasconcelos de Souza,⁵ Danielle Malta Lima,^{2,6} Jeová Keny Baima Colares,^{2,6} Lia Laura Lewis-Ximenez,¹ Elisabeth Lampe,¹ Livia Melo Villar¹

¹Viral Hepatitis Laboratory, Oswaldo Cruz Institute, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil

²Postgraduate Program in Pathology, Federal University of Ceará, Ceará, Brazil

³Campus Divinópolis, Federal University of São João Del Rey, Minas Gerais, Brazil

⁴Federal Institute of Science, Education and Technology of Ceará, Ceará, Brazil

⁵Postgraduate Program of the Northeast Network of Biotechnology -RENORBIO, State University of Ceará and University of Fortaleza, Ceará, Brazil

⁶Postgraduate Program in Medical Sciences, University of Fortaleza, Ceará, Brazil

Correspondence to

Dr Livia Melo Villar, Viral Hepatitis Laboratory, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro 210360-040, Brazil; liviafiocruz@gmail.com

Received 14 January 2018

Revised 11 April 2018

Accepted 13 April 2018



To cite: Barbosa JR, Cortes VF, Portilho MM, et al. *J Clin Pathol* Epub ahead of print: [please include Day Month Year]. doi:10.1136/jclinpath-2018-205024

ABSTRACT

Aims Point of care testing (POCT) has been used for hepatitis B and C diagnosis in general population, but little is known about the influence of clinical conditions in the accuracy of these assays. This study aims to evaluate the performance of POCTs for detection of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and antibodies to Hepatitis C Virus (anti-HCV) in Chronic Kidney Disease (CKD) patients.

Methods A total of 286 subjects were included in this study. HBsAg and anti-HCV were detected using commercial EIAs and four POCTs: HBsAg (WAMA Imuno-Rápido HBsAg and VIKIA HBsAg) and anti-HCV (DOLES HCV teste rápido and WAMA Imuno-Rápido anti-HCV) in serum and whole blood.

Results Using EIA, HBsAg and anti-HCV prevalence was 4.5% and 16.1% in CKD patients. HBsAg and anti-HCV POCTs had sensitivities from 92.3% to 100% and 84.8% to 89.1% while specificities were 99.3% to 100% and 99.2% to 99.6%, respectively. POCT using serum samples performed well compared with whole blood samples and true positive samples of POCTs had high optical density to cut-off (OD/CO) values compared with EIA.

Conclusions This study demonstrates good performance of HBsAg and anti-HCV POCTs in CKD patients, especially in serum samples indicating low interference of this disease in the performance of these assays. POCTs could be an important tool for HBV and HCV screening in high-risk populations.

INTRODUCTION

Hepatitis B and C viruses (HBV and HCV) are important causes of chronic liver disease worldwide. HBV and HCV prevalence are higher in patients with frequent parenteral exposure than the general population, such as Chronic Kidney Disease (CKD) patients on dialysis.^{1–3}

In Brazil, population-based studies have shown HBsAg prevalence is less than 1% (ranging from 0.19% in the northeast and 0.60% in the Federal District)⁴ and 1.38% anti-HCV prevalence in the general population.⁵ HBsAg prevalence of 1% and 1.4% and anti-HCV prevalence of 4.2% and 4.7% were found in hemodialysis.⁶ These individuals have an increased risk of infection by HBV and HCV due to the nosocomial nature of infection in hemodialysis rooms and repeated blood transfusions.^{1,2}

It is estimated that there were approximately 112 000 people on dialysis in Brazil in 2014, and the prevalence of serological tests positive for HBsAg and anti-HCV have been stable in recent years, at 1.4% and 4.2%, respectively.⁶

Dialysis therapy have increased the survival of patients with CKD in recent decades. However, transmission of infectious agents, such as hepatitis viruses, may occur during these procedures.⁷

Viral hepatitis diagnosis in CKD patients on hemodialysis is difficult due to non-specific symptoms such as lower levels of alanine aminotransferase (ALT), serology with false negative results and low viremia, probably due to the loss of antibodies and changes in the immune system the over time.^{8,9}

Currently several point-of-care testing (POCT) for hepatitis B and C are commercially available, but the sensitivity of HBsAg POCTs showed substantial variance and heterogeneity (43.5%–99.8%) while their specificity was closer to 100% (range of 90% to 100%).⁹ Khuroo *et al*¹⁰ also demonstrated substantial variability in sensitivity (range: 16.0%–99.9%) and specificity (range: 77.8%–99.7%) of anti-HCV POCTs. Several studies have found POCTs perform well for HBsAg and anti-HCV detection in several groups,^{11–15} but little data is available describing the performance of those assays for HBsAg and anti-HCV detection in CKD. Therefore, the objective of this study was to evaluate the performance of POCTs for detection of HBsAg and anti-HCV in CKD patients under hemodialysis.

METHODS

Population study

CKD individuals were recruited from three private hemodialysis clinics that receive individuals from the public and private health system located in Southeast and Northeast region of Brazil. The clinics run from Monday to Saturday, performing 3 rounds of dialysis a day.

Individuals from both genders over 18 years of age were included. Demographic and risk factor characteristics such as age, sex, marital status, education, monthly income, number of sexual partners and history of the sexually transmitted infection were obtained using a questionnaire. In addition, clinical data such as period of dialysis, received blood transfusions and renal transplantation were also asked.

FIOCRUZ ethics committee approved this study (CAAE n.º 34049514.7.3006.5258 and 34049514.7.3009.5051) and informed consent was obtained from each individual before inclusion in the study. The study protocol was followed according to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki.

Biochemical, serological and molecular assays

Blood samples were collected and processed to obtain serum. HBsAg, anti-HBc total, anti-HBs and anti-HCV were detected using commercial EIAs according to manufacturer's instructions (Bioelisa HBsAg assay, Bioelisa anti-HBc, Biokit and Bioelisa anti-HBs, Biokit, Spain and Murex Anti-HCV Version 4.0, DiaSorin, Italy). Reactive and indeterminate samples were retested in duplicate and indeterminate results were excluded.

HBsAg and anti-HCV reactive samples were submitted to HBV DNA and HCV RNA molecular assays (Abbott RealTime HBV, Abbott Molecular Inc., EUA and Abbott RealTime HCV, Abbott Molecular Inc., EUA).

Serum samples were also tested for aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyltransferase (GGT) using kinetic assay and, creatinine, urea, alkaline phosphatase (ALP) and iron using colorimetric methodology in an automatic analyser LabMax 560 (Labtest Diagnóstica S.A., Minas Gerais, Brazil).

HBsAg and anti-HCV POCTs

Two POCTs were evaluated for HBsAg detection (Vikia HBsAg, BioMérieux, France and Wama Imuno-Rápido HBV, Wama Diagnostica, Brazil) and two POCTs were used for anti-HCV detection (Doles HCV Teste Rápido, Doles reagents, Brazil and Wama Imuno-Rápido HCV, Wama Diagnostica, Brazil). The tests were performed using serum and whole blood samples where indicated by supplier and according to manufacturer's instructions. All POCTs are qualitative tests based on immunochromatographic techniques using lateral association of specific monoclonal and polyclonal antibodies for HBsAg and anti-HCV.

Data analysis

Statistical analyses were performed using Epi Info 7 (Epi Info Software, CDC, Atlanta, USA). The clinical sensitivity (Cs), specificity (S), positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) for each POCT were evaluated, and their respective 95% confidence intervals (95% CI) were calculated. Agreement between the results of point-of-care tests and the results of the EIA was evaluated by kappa statistics. P-values (two-tailed) <0.05 were considered statistically significant. These analyses were conducted using GraphPad InStat software, version 3.01 (GraphPad Software, San Diego, USA) and MedCalc software, version 9.2.1.0 (MedCalc Software, Mari-akerke, Belgium).

RESULTS

Population studied

A total of 286 CKD individuals on hemodialysis were included in this study, mean age of 51.3 ± 13.8 years (ranging from 18 to 90 years), most participants were male (64%), married (51%), over 41 years of age (76%), had more than 8 years of education (48.9%) and received a monthly family income of US\$ 100 to US\$ 400 (58.9%).

HBsAg prevalence was 4.5% (13/286) and anti-HCV was 16.1% (46/286), with a median time of hemodialysis of 48 months (range of 3–384) for HBsAg positive and 108 months (range of 7–468) for anti-HCV positive subjects. HBV DNA was

detected in 7/13 HBsAg positive samples (53.8%), with mean viral load equal to $3.38 \log^{10} (\pm 2.21)$ UI/mL. While HCV RNA was detected in 34/46 anti-HCV positive samples (73.9%), of which the mean viral load was equal to $4.92 \log^{10} (\pm 1.44)$ UI/mL.

Most HBsAg and anti-HCV positive subjects had normal values of ALT and GGT and statistical significance was found for GGT in HCV positive subjects. AST values were normal in most of HBsAg positive individuals and higher among anti-HCV positive subjects. Most HBsAg and anti-HCV positive individuals had high values of urea, alkaline phosphatase and iron (table 1).

Performance of HBV and HCV POCTs in sample of CKD

Vikia HBsAg and Wama Imuno-Rápido HBsAg demonstrated more than 90% agreement with EIA results for HBsAg detection. The former showed agreement and sensitivity equal to 100% when tested with serum. However, using whole blood and Vikia HBsAg test, results presented agreement and sensitivity greater than 90% compared with EIA results in serum (table 2).

Anti-HCV POCTs showed about 90% agreement compared with EIA results. While the sensitivity of the Wama Imuno-Rápido HCV and Doles HCV teste rápido showed higher sensitivity (89.1%) when tested with serum samples than with whole blood samples (84.8% and 86.9%, respectively). The specificity of these two POCTs was greater than 99% both when tested with serum and whole blood samples (table 2).

False positive HBsAg POCT results were found in individuals who did not report kidney transplantation, but time on hemodialysis was 24 months for Vikia HBsAg and 120 to 156 months for Wama HBsAg. These samples were not tested for HBV DNA due to lack of sample. False negative HBsAg sample for Vikia HBsAg using whole blood was observed in one individual that had previous history of transplantation, about 384 months of hemodialysis, but HBV DNA was not detected in serum sample.

Five to seven false-negative anti-HCV POCTs results were found using serum and whole blood. All of them were HCV RNA negative in serum except for one sample (880 IU/ml/2.98 \log^{10}). In those presenting false negative results, two reported kidney transplantation and time of hemodialysis varies from 48 to 468 months. False positive results for HCV POCTs did not report kidney transplantation and time of hemodialysis varies from 96 to 144 months.

When the performance of anti-HCV POCTs was evaluated considering true-positive samples those anti-HCV reactive by EIA and HCV RNA, both Wama Imuno-Rápido HCV test and the Doles HCV rapid test increased sensitivity to 97% and 100%, with concordance greater than 96% (table 3).

Mean optical-density-to-cut-off (OD/CO) ratio values produced by EIA were lower in false-negative anti-HCV POCT results when compared with true positive anti-HCV samples for both anti-HCV POCTs ($P < 0.0001$). Patients with false negative results produced by anti-HCV POCTs had a higher mean time of hemodialysis compared with individuals from which true positive results were obtained. In addition, true positive anti-HCV POCTs presented a higher number of altered ALT, AST and GGT values compared with false-negative results (table 4).

DISCUSSION

The main objective of this study was to evaluate POCTs for HBsAg and anti-HCV detection in CKD patients where good agreement was observed according EIA results. High prevalence of HBsAg (4.5%) and anti-HCV (16.1%) was found in this group in comparison to similar studies.¹²

Table 1 Demographics and clinical parameters of patients with Chronic Kidney Disease on hemodialysis in relation to the results of HBsAg and anti-HCV by EIA

Variable	HBsAg		P values	Anti-HCV		P values
	HBsAg- (n=273)	HBsAg+ (n=13)		Anti-HCV- (n=240)	Anti-HCV+ (n=46)	
Gender						
Male, n (%)	173 (94.5%)	10 (5.5%)	0.389	149 (81.4%)	34 (18.6%)	0.135
Female, n (%)	100 (97.1%)	3 (2.9%)		91 (88.3%)	12 (11.7%)	
Age (years)						
≤40 anos	66 (97.1%)	2 (2.9%)	0.740	60 (88.2%)	8 (11.8%)	0.345
≥41 anos	204 (94.9%)	11 (5.1%)		177 (82.3%)	38 (17.7%)	
Marital status						
married/stable union	134 (97.2%)	4 (2.9%)	0.161	119 (86.2%)	19 (13.8%)	0.732
not married	123 (93.2%)	9 (6.8%)		111 (84.1%)	21 (15.9%)	
Schooling*						
Illiterate	19 (90.5%)	2 (9.5%)	0.189	18 (85.7%)	3 (14.3%)	0.572
one to 8 years	110 (94.8%)	6 (5.2%)		101 (87.1%)	15 (12.9%)	
>8 years	126 (96.2%)	5 (3.8%)		109 (83.2%)	22 (16.8%)	
Monthly family income per capita*						
zero	9 (90.0%)	1 (10.0%)	0.016	9 (90.0%)	1 (10.0%)	0.175
<100 dollars	33 (91.7%)	3 (8.3%)		30 (83.3%)	6 (16.7%)	
100 to 400 dollars	140 (94.6%)	8 (5.4%)		127 (85.8%)	21 (14.2%)	
>400 dollars	67 (100%)	0 (0.0%)		58 (86.5%)	9 (13.4%)	
Time on hemodialysis (mo), median	48 (1–468)	48 (3–384)		42 (1–444)	108 (7–468)	
Blood transfusion						
Yes	197 (95.6%)	9 (4.4%)	1	152 (73.8%)	54 (26.2%)	0.000
No	106 (95.5%)	5 (4.5%)		103 (92.8%)	8 (7.2%)	
Kidney transplantation	24 (85.7%)	4 (14.3%)		16 (57.1%)	12 (42.8%)	
History of sexually transmitted infection						
Yes	59 (96.7%)	2 (3.3%)	0.738	51 (83.6%)	10 (16.4%)	0.682
No	194 (94.6%)	11 (5.4%)		176 (85.9%)	29 (14.1%)	
Sexual partner - last year*						
just one	140 (95.9%)	6 (4.1%)	0.989	127 (87.0%)	19 (13.0%)	0.139
<5	54 (93.1%)	4 (6.9%)		49 (84.5%)	9 (15.5%)	
6 to 10	2 (100%)	0 (0.0%)		0 (0.0%)	2 (100%)	
>10	4 (100%)	0 (0.0%)		3 (75.0%)	1 (25.0%)	
ALT – alanine aminotransferase						
normal values	196 (94.7%)	11 (5.3%)	0.525	173 (83.6%)	34 (16.4%)	0.859
high values	77 (97.5%)	2 (2.5%)		67 (84.8%)	12 (15.2%)	
AST - aspartate aminotransferase						
normal values	149 (94.3%)	9 (5.7%)	0.396	138 (87.3%)	20 (12.7%)	0.105
high values	124 (96.9%)	4 (3.1%)		102 (79.7%)	26 (20.3%)	
GGT - Gamma glutamyltransferase						
normal values	198 (96.6%)	7 (3.4%)	0.203	180 (87.8%)	25 (12.2%)	0.006
high values	75 (92.6%)	6 (7.4%)		60 (74.1%)	21 (25.9%)	
Urea						
normal values	1 (100%)	0 (0.0%)	1	0 (0.0%)	1 (100%)	0.160
high values	272 (95.4%)	13 (4.6%)		240 (84.2%)	45 (15.8%)	
ALP - Alkaline Phosphatase						
normal values	21 (95.5%)	1 (4.5%)	1	17 (77.3%)	5 (22.7%)	0.349
high values	249 (95.4%)	12 (4.6%)		223 (85.4%)	38 (14.6%)	
Iron						
normal values	133 (93.0%)	10 (7.0%)	0.092	129 (90.2%)	14 (9.8%)	0.074
high values	123 (97.6%)	3 (2.4%)		104 (82.5%)	22 (17.5%)	

* χ^2 for Trend.**AST altered (U/L) ≥ 38 for females and ≥ 40 for males; ∞ ALT altered (U/L) ≥ 38 for females and ≥ 46 for males; GGT altered (U/L) ≥ 40 for females and ≥ 59 for males; Urea (mg/dL) ≥ 46 for males and females; ALP (U/L) ≥ 44 for males and females; Iron ($\mu\text{g/dL}$) > 170 for males and females.

ALP, Alkaline Phosphatase; ALT, Alanina aminotransferase; AST, Aspartato aminotransferase; GGT, Gama glutamiltransferase.

ND, not done.

Table 2 Point-of-care tests (POCT) assessment for HBsAg and anti-HCV detection in samples of Chronic Kidney Disease patients on hemodialysis compared with EIA

POCT	Total (N)	TP	FP	TN	FN	% Sensitivity (IC 95%)	% Specificity (IC 95%)	% PPV (IC 95%)	% NPV (IC 95%)	% Kappa (IC 95%)
HBsAg marker										
WAMA Imuno – Rápido HBsAg – Serum	286	13	2	271	0	100 (75.3–100)	99.3 (97.4–99.9)	86.7 (62.0–96.3)	100 (100–100)	92.5 (82.1–100)
VIKIA HBsAg –Serum	286	13	0	273	0	100 (75.3–100)	100 (98.7–100)	100 (100–100)	100 (100–100)	100 (100–100)
VIKIA HBsAg – Sanguine	286	12	1	272	1	92.3 (63.9–99.8)	99.6 (97.9–99.9)	92.3 (62.7–98.8)	99.6 (97.6–99.9)	91.9 (80.8–100)
Anti-HCV marker										
DOLES HCV teste rápido – Serum	286	41	1	239	5	89.1 (76.4–96.4)	99.6 (97.7–99.9)	97.6 (85.2–99.6)	97.9 (95.4–99.1)	91.9 (85.6–98.3)
DOLES HCV teste rápido – whole blood	286	39	1	239	7	84.8 (71.1–93.7)	99.6 (97.7–99.9)	97.5 (84.6–99.6)	97.1 (94.5–98.5)	89.1 (81.6–96.5)
WAMA Imuno-Rápido anti-HCV – Serum	286	41	1	239	5	89.1 (76.4–96.4)	99.6 (97.7–99.9)	97.6 (85.2–99.6)	97.9 (95.4–99.1)	91.9 (85.6–98.3)
WAMA Imuno-Rápido anti-HCV - whole blood	286	40	2	238	6	86.9 (73.7–95.1)	99.2 (97.0–99.9)	95.2 (83.3–98.7)	97.5 (94.9–98.8)	89.3 (81.9–96.6)

Hemodialysis are considered risk factor for HCV and HBV infection due to numerous vascular access procedures, periodic blood transfusions and potential nosocomial transmission in which patients with CKD are submitted.¹⁶

Therefore, this population should be frequently tested to identify early infections to treat them and avoid the progression of liver damage, which can progress to cirrhosis, hepatic decompensation and liver cancer.¹⁶ The use of POCTs may improve the screening and diagnostic access of those infected with hepatitis B and C

A wide variety of point-of-care tests for the detection of Hepatitis B and C markers are available worldwide. Studies have been shown good performance of the point-of-care tests for the HBV surface antigen (HBsAg) and the HCV antibody (anti-HCV).^{11–15} However, studies evaluating the performance of these point-of-care tests for HBsAg and anti-HCV in individuals with CKD on hemodialysis are scarce.⁹

Therefore, when evaluating the POCTs Vikia HBsAg and Wama Imuno-Rápido HBsAg, both with serum and whole blood samples, we identified sensitivity and specificity above 90%, with agreement above 90% compared with EIA results. On the other hand, the confidence intervals we found for sensitivity and positive predictive value (PPV) varied widely. Similar data were found by Cruz *et al*¹⁴ in their study comparing groups of patients with low and high risk of HBV infection, without CKD.

The size of the CI may be influenced by sample size, HBsAg prevalence, confidence level and population variability, since a

larger sample will normally lead to a better estimate of the population parameter.¹⁷ In the present study, HBsAg POCT presented good performance, however false negative results were observed in subject without HBV DNA in serum and more than 380 months of hemodialysis. Hongo *et al*¹⁸ found that most of false negative HBsAg POCT result in immunosuppressed patients were in those presenting low HBsAg concentrations and HBV DNA viral load than the true positives.

HBsAg POCTs were more sensitive and concordant (>90%) than anti-HCV POCTs (>84%) when compared with EIA, either with serum or whole blood samples (table 2). Scalioni *et al*¹³ also found similar agreement (80.5%) when Wama Immuno-Rapid HCV was used in a population at high risk of HCV infection.

Similarly, Chevaliez *et al*¹⁹ evaluated the Toyo anti-HCV test (Türkclub Medical Devices, Izmir, Turkey) and OraQuick HCV Rapid Antibody Test (OraSure Technologies, Bethlehem, Pennsylvania) with total capillary blood and identified sensitivities of 95.8% and 99.4% and specificities of 98.8% and 100%, respectively. On the other hand, Firdaus *et al*²⁰ have demonstrated that anti-HCV POCTs cannot be used as an absolute and accurate diagnostic tool to track HCV infection, especially in patients with CKD on hemodialysis, since many of the samples declared negative by POCT anti-HCV had detectable HCV RNA.

These divergences may be due to differences in population characteristics or the point-of-care tests employed. The CKD patients have specific characteristics that may interfere with the diagnosis of HCV, as intermittent viremia and negative anti-HCV

Table 3 Point-of-care tests (POCT) assessment for anti-HCV detection in samples of Chronic Kidney Disease patients on hemodialysis when anti-HCV and HCV RNA reactive samples were considered true positive

Rapid Tests	Total (N)	TP	FP	TN	FN	% Sensitivity (IC 95%)	% Specificity (IC 95%)	% PPV (IC95%)	% NPV (IC95%)	% Kappa (IC95%)
Anti-HCV and HCV RNA reactive										
DOLES HCV teste rápido – Serum	274	34	1	239	0	100 (89.7–100)	99.6 (97.7–99.9)	97.1 (82.8–99.6)	100 (100–100)	98.3 (95.1–100)
DOLES HCV teste rápido – whole blood	274	33	1	239	1	97.0 (84.7–99.9)	99.6 (97.7–99.9)	97.0 (82.3–99.6)	99.6 (97.2–99.9)	96.6 (92.0–100)
WAMA Imuno –Rápido anti-HCV – Serum	274	34	1	239	0	100 (89.7–100)	99.6 (97.7–99.9)	97.1 (82.8–99.6)	100 (100–100)	98.3 (95.1–100)
WAMA Imuno-Rápido anti-HCV – whole blood	274	34	2	238	0	100 (89.7–100)	99.2 (97.0–99.9)	94.4 (81.0–98.5)	100 (100–100)	96.7 (92.2–100)

Table 4 False negative and true positive results obtained by anti-HCV point-of-care tests in samples from patients with Chronic Kidney Disease according to EIA results and laboratory variables

Variable	DOLES HCV teste rápido			WAMA Imuno-rápido Anti-HCV		
	point-of-care test result anti-HCV			point-of-care result anti-HCV		
	False negative N (%)	True positive N (%)	P values	False negative N (%)	True positive N (%)	P values
Haemodialysis patients						
DO/CO hemodialysis (mean±SD)	3.3±1.2	4.3±0.2	<0.0001	3.0±1.2	4.3±0.2	<0.0001
Log HCV (mean±SD)	not detected	4.9±1.5	NP	not detected	4.9±1.5	NP
ALT IU/ml (mean±SD)	37.3±2.9	46±19.7	0.467	37.3±2.9	46±19.7	0.467
Mean±SD time on hemodialysis (months)	231±210.2	144.2±111.06	0.186	240±217.5	143.2±108.9	0.139
AST - Altered values*	4/128 (3.1%)	22/128 (17.2%)	–	3/128 (2.3%)	23/128 (17.9%)	–
ALT - Altered values†	3/79 (3.8%)	9/79 (11.4%)	–	3/79 (3.8%)	9/79 (11.4%)	–
Gama GT - Altered values‡	1/81 (1.2%)	20/81 (24.7%)	–	1/81 (1.2%)	20/81 (24.7%)	–

OD/CO, Optical Density/Cut-off; AST, Aspartate aminotransferase; ALT, Alanine aminotransferase; GGT, Gamma glutamyltransferase.

*AST altered ≥ 38 for females and ≥ 40 for males.

†ALT altered ≥ 38 for females and ≥ 46 for males.

‡GGT altered ≥ 40 for females and ≥ 59 for males. NP: not possible.

serology are characteristics commonly found in this population for a long period after infection.²¹ On the other hand, Sharma *et al.*²² has shown that screening with POCT [Rapid anti-HCV Test (Health-Chem Diagnostics LLC, FL, USA)] may also be useful for high-risk individuals, such as CKD sufferers, with frequent percutaneous exposures, among others.

The interference of the clinical and laboratory data was evaluated in relation to false-negative and true-positive results obtained by anti-HCV POCTs compared with EIA. Most of false negative results by anti-HCV POCTs did not present HCV RNA in serum. We observed that sensitivity of anti-HCV POCTs increased in those presenting anti-HCV and HCV RNA in serum as the same as previously demonstrated.¹³ In addition, the mean OD/CO values were lower among the false negatives compared with true positive samples with the same assays as also observed in other studies.^{13 23 24} Thus, there is a possibility that low levels of antibodies are not detected by POCTs, regardless of the population studied.

In addition, these patients with false-negative results by POCT Wama Imuno-rápido anti-HCV and Doles HCV teste rápido exhibited longer mean hemodialysis time than true positive results (240±217.55 months vs 143.17±108.92 months and 231±210.23 months vs 144.20±111.06 months, respectively). A similar relationship was also observed in the EIA results found by Kalantar-Zadeh *et al.*,²⁴ suggesting the influence of hemodialysis in serological tests for antibody detection.

Although the conditions of the immune system of CKD patients were not evaluated, such as CD4 cell count, it is known that CKD causes dysfunction in the patient's immune system, causing less production of antibodies, which could interfere with the amount of anti-HCV available in the blood of patients on hemodialysis. Due to impaired glomerular filtration in CKD patients, there is accumulation of uremic toxins and, therefore, disturbed renal metabolic activities interfere with the immune defense of CKD individuals.²⁵

Most of the true-positive results for anti-HCV POCTs in patients with CKD had altered AST, ALT and GGT enzyme values, as evidenced in other studies.^{21 23} Thus, POCTs could detect viremia activity. While the reason for the low enzymatic activity in patients with CKD is not fully understood, there are some possible reasons; enzymatic inhibition of aminotransferases by uremic toxins, loss of enzymes in hemodialysis or interference of other dialyzable substances.^{23 24 26}

This study presented some limitations, such as: low number of HBsAg-positive samples, no molecular testing for all samples showing discordant results in POCT and absence of evaluation of reproducibility and repetitively of the POCTs due to lack of sufficient sample. However, previous studies demonstrated high reproducibility and repetitively of the same POCTs HBsAg (Vikia HBsAg and Wama Imuno-Rápido HBsAg) and anti-HCV POCTs (Wama Imuno-Rápido HCV and Bioeasy HCV Rapid Test).^{13 14}

In conclusion, the performance of point-of-care tests for HBV and HCV was good in CKD patients. Those assays had better performance in serum samples compared with whole blood samples and high performance of anti-HCV POCTs was demonstrated when HCV RNA/anti-HCV reactive samples were considered true positive samples. These demonstrated ability of the assay to identify individuals with active HCV infection which may help health authorities in the future to reduce the risk of transmission of the virus to uninfected individuals. However, due to suboptimal sensitivities and high rate of false negative results of the anti-HCV POCTs (10%–15%), these assays are not suitable to be used as the sole criterion for screening patients in this high-risk group.

Take home messages

- ▶ HBsAg and anti-HCV RTs demonstrated good performance using serum samples of CKD patients.
- ▶ Samples with false negative results by RTs had longer mean hemodialysis time and lower OD/CO values compared with the results of true positive samples.
- ▶ Anti-HCV RTs demonstrated the highest performance in those individuals presenting HCV RNA/anti-HCV in serum, showing the usefulness of these assays for identifying individuals with active HCV infection.

Handling editor Tony Mazzulli.

Acknowledgements The authors are grateful to Carolina Pimentel de Azevedo and technical staff of Viral Hepatitis Laboratory in the collection and processing of blood samples for helping to conduct the study.

Contributors JRB: Rapid tests performance, data collection, data analysis and interpretation and drafting the article. VFC, MMP, JCoM, VAM, CSB, NVdeS: Sample collection, execution of laboratory tests and manuscript revisions. DML, JáKBC,

LLL-X and EL: participate in the concept of the study and Sample collection. LMV: Conception or design of the work, critical revision of the article and final approval of the version to be published.

Funding This research was supported by the Research Support Foundation of the State of Rio de Janeiro (FAPERJ), Brazilian National Council of Technological and Scientific Development (CNPq), Brazilian Ministry of Health, the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) and Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ).

Competing interests None declared.

Patient consent Not required.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

© Article author(s) or their employer(s) unless otherwise stated in the text of the article) 2018. All rights reserved. No commercial use is permitted unless otherwise expressly granted.

REFERENCES

- Edey M, Barraclough K, Johnson DW. Review article: Hepatitis B and dialysis. *Nephrology* 2010;15:137–45.
- Carvalho-Filho RJ, Feldner AC, Silva AE, et al. Management of hepatitis C in patients with chronic kidney disease. *World J Gastroenterol* 2015;21:408–22.
- Ribeiro Barbosa J, Sousa Bezerra C, Carvalho-Costa FA, et al. Cross-Sectional Study to Determine the Prevalence of Hepatitis B and C Virus Infection in High Risk Groups in the Northeast Region of Brazil. *Int J Environ Res Public Health* 2017;14.
- Pereira LM, Martelli CM, Merchán-Hamann E, et al. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2009;81:240–7.
- Pereira LM, Martelli CM, Moreira RC, et al. Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 2013;13:60.
- Sesso RC, Lopes AA, Thomé FS, et al. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2014. *J Bras Nefrol* 2016;38:54–61.
- Fabrizi F, Martin P, Dixit V, et al. Biological dynamics of viral load in hemodialysis patients with hepatitis C virus. *Am J Kidney Dis* 2000;35:122–9.
- Sette LH, Almeida Lopes EP. Liver enzymes serum levels in patients with chronic kidney disease on hemodialysis: a comprehensive review. *Clinics* 2014;69:271–8.
- Khuroo MS, Khuroo NS, Khuroo MS. Accuracy of rapid point-of-care diagnostic tests for hepatitis b surface antigen—a systematic review and meta-analysis. *J Clin Exp Hepatol* 2014;4:226–40.
- Khuroo MS, Khuroo NS, Khuroo MS. Diagnostic accuracy of point-of-care tests for hepatitis C virus infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2015;10:e0121450.
- Bottero J, Boyd A, Gozlan J, et al. Performance of rapid tests for detection of HBsAg and anti-HBsAb in a large cohort, France. *J Hepatol* 2013;58:473–8.
- Kim MH, Kang SY, Lee WI. Evaluation of a new rapid test kit to detect hepatitis C virus infection. *J Virol Methods* 2013;193:379–82.
- Scallioni LP, Cruz HM, de Paula VS, et al. Performance of rapid hepatitis C virus antibody assays among high- and low-risk populations. *J Clin Virol* 2014;60:200–5.
- Cruz HM, Scallioni LP, de Paula VS, et al. Evaluating HBsAg rapid test performance for different biological samples from low and high infection rate settings & populations. *BMC Infect Dis* 2015;15:548.
- Barbosa JR, Colares JKB, Flores GL, et al. Performance of rapid diagnostic tests for detection of Hepatitis B and C markers in HIV infected patients. *J Virol Methods* 2017;248:244–9.
- Lee JH, Kim HY, Kim YJ, et al. Barcelona Clinic Liver Cancer staging system and survival of untreated hepatocellular carcinoma in a hepatitis B virus endemic area. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30:696–705.
- Kalinowski P. Understanding Confidence Intervals (CIs) and effect size estimation. *APS* 2010. <http://www.psychologicalscience.org/observer/understanding-confidence-intervals-cis-and-effect-size-estimation#.WWd96ITyIV> (accessed Jul 2017).
- Hønge B, Jespersen S, Medina C, et al. Hepatitis B virus surface antigen and anti-hepatitis C virus rapid tests underestimate hepatitis prevalence among HIV-infected patients. *HIV Med* 2014;15:571–6.
- Chevaliez S, Poiteau L, Rosa I, et al. Prospective assessment of rapid diagnostic tests for the detection of antibodies to hepatitis C virus, a tool for improving access to care. *Clin Microbiol Infect* 2016;22:459.e1–6.
- Firdaus R, Saha K, Sadhukhan PC. Rapid immunoassay alone is insufficient for the detection of hepatitis C virus infection among high-risk population. *J Viral Hepat* 2013;20:290–3.
- da Silva NM, Germano FN, Mendoza-Sassi RA, et al. Evidence of association between hepatitis C virus genotype 2b and nosocomial transmissions in hemodialysis centers from southern Brazil. *Viral J* 2013;10:167.
- Sharma M, Al Kaabi S, John AK, et al. Screening for hepatitis C in average and high-risk populations of Qatar using rapid point-of-care testing. *United European Gastroenterol J* 2015;3:364–70.
- Halle MP, Choukem SP, Kaze FF, et al. Hepatitis B, Hepatitis C, and Human Immune deficiency Virus Seroconversion Positivity Rates and Their Potential Risk Factors Among Patients on Maintenance Hemodialysis in Cameroon. *Iran J Kidney Dis* 2016;10:304–9.
- Kalantar-Zadeh K, Miller LG, Daar ES. Diagnostic discordance for hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005;46:290–300.
- Cohen G, Hörl W. Immune Dysfunction in Uremia—an update. *Toxins* 2012;4:962–90.
- Marinaki S, Boletis JN, Sakellariou S, et al. Hepatitis C in hemodialysis patients. *World J Hepatol* 2015;7:548–58.

5 DISCUSSÃO

5.1 Prevalência de infecção do vírus da hepatite B e C em grupos de alto risco em Fortaleza-CE

Apesar dos avanços na melhoria das condições de saúde da população, as infecções por HBV e HCV são um importante problema de saúde pública em todo o mundo, especialmente nas populações mais vulneráveis, como indivíduos infectados com vírus da imunodeficiência humana (HIV), com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise, e com coagulopatia em relação à população geral. Portanto, a identificação do perfil sociodemográfico, comportamental e epidemiológico dessas infecções é útil para o planejamento de ações de prevenção e controle, tratamento e assistência a esses grupos populacionais.

Estudos brasileiros para determinar a prevalência de infecção por HBV e HCV são comuns na população em geral, principalmente no sudeste do país (Pereira et al., 2009; Marques et al., 2011; Melo et al., 2015; Villar et al., 2015b; Ximenes et al., 2015), mas apesar disso, ainda faltam informações sobre populações específicas, como indivíduos HIV positivos, pacientes com DRC em hemodiálise e pacientes com coagulopatia, especialmente na região Nordeste do Brasil. A fim de identificar a prevalência dessas infecções nesses grupos mais vulneráveis na cidade de Fortaleza, região nordeste do país, visando diagnosticar, tratar e prevenir a propagação dessas infecções.

O Artigo 1 teve como objetivo principal determinar a prevalência de infecção por HBV e HCV em pacientes de Fortaleza-CE: HIV positivos (GI), com DRC em hemodiálise (GII) e com distúrbios de coagulação (GIII), bem como fatores sociodemográficos e comportamentais associados a essas infecções nos grupos populacionais selecionados. Encontramos altas prevalências de HBV e HCV nos três grupos analisados, em comparação com a população em geral, destacando a prevalência em GI, GII e GIII, respectivamente, de: HBsAg de 3,9%, 7% e 3,9%; anti-HBc de 28,6%, 55,9% e 31,4%; e anti-HCV de 1,3%, 12,6% e 47%.

Os estudos de Pereira e colaboradores (2009, 2013) mostraram que a prevalência de HBsAg variou de 0,19% a 0,60%, a prevalência total de anti-HBc variou de 8,1% a 10,3% e a prevalência anti-HCV foi de 1,38% (variando de 0,68%

a 2,60%) na população em geral, de acordo com a região geográfica. O “Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais” (Brasil, 2017a), elaborado a partir dos casos de hepatites virais registrados no Sinan, identificou um total de 196.701 casos confirmados de hepatite B no país até 2015, distribuídos nas regiões Sudeste (35,5%), Sul (31,4%), Norte (14,3%), Nordeste (9,4%) e Centro-Oeste (9,3%). Os casos de hepatite C detectados no mesmo período foram de 289.459, com resultado anti-HCV ou HCV RNA reagentes. Destes, 144.024 casos tiveram ambos os marcadores detectados, sendo distribuídos respectivamente nas regiões Sudeste (64,2%), Sul (24,2%), Nordeste (5,6%), Centro-Oeste (3,2%) e Norte (2,7%) (Brasil, 2016). Estes diferentes valores de prevalência encontrados no Brasil refletem os distintos padrões de comportamento de risco da população.

Quanto à infecção por HBV nos três grupos estudados, foi possível observar que no GI (indivíduos infectados pelo HIV), a prevalência de HBsAg e anti-HBc total foi de 3,9% e 28,6%, sendo semelhante a estudos anteriores, em que a coinfeção HIV/HBV variou de 2,8% a 10,3% na literatura (Farias et al., 2012; Távora et al., 2013; Flores et al., 2016).

Foram encontradas altas prevalências de HBV entre indivíduos coinfectados com HIV e esses valores variaram de acordo com a região do Brasil considerada no estudo (Oliveira et al., 2014). Na região Nordeste, Távora e colaboradores (2013) encontraram uma prevalência de HIV/HBV (3,7%) semelhante ao nosso estudo, apesar dos diferentes perfis dos serviços de saúde a que os indivíduos têm acesso. Os que participaram do nosso estudo vêm do ambulatório de HIV/Aids, enquanto os do estudo anterior foram recrutados em um hospital de doenças infecciosas no Estado do Ceará, que recebe casos mais graves da doença.

A prevalência de anti-HBc total na Tabela 3 (artigo1) revelou que as variáveis “idade, mais de cinco parceiros sexuais por ano e história de infecções sexualmente transmissíveis” estavam relacionadas aos fatores de risco para a exposição ao HBV nessa população ($p>0,05$). Provavelmente, tal fato tenha ocorrido devido ao HIV e ao HBV compartilharem rotas comuns de transmissão, especialmente a via sexual (Kapembwa et al., 2011; Távora et al., 2013), destacando a importância da educação para a saúde e programas de vacinação para esta população, a fim de prevenir a transmissão do HBV.

No GII (pacientes com DRC em hemodiálise), a prevalência de HBsAg (7%) e anti-HBc (55,9%) foi maior do que no GI. Provavelmente influenciado pela terapia

de manutenção da DRC, que tem um ambiente de alto risco para infecção por vírus transmitidos pelo sangue, como HBV e HCV, por exemplo, e cuja exposição parenteral é frequente e a transfusão de sangue é a terapia primária para a anemia renal (Halle et al., 2016).

Quando comparado com outros estudos, observamos que as prevalências que encontramos foram maiores do que nos estudos de Marquesini e colaboradores (2008), realizado em Campinas-SP, com 5,5% de HBsAg e 4% de anti-HBc. Sesso e colaboradores (2014) também identificaram uma baixa prevalência de HBV (1,4%) em um inquérito nacional com DRC em diálise no Brasil. No entanto, nosso estudo pode ter uma baixa prevalência de HBsAg em relação ao encontrado em Santa Catarina, com 10% (Carrilho et al., 2004) e em Goiânia-GO, com 46,7% (Carneiro et al., 2001).

Esses estudos mostraram as diferentes taxas de prevalência de HBV na população de DRC no Brasil, que pode ter sido influenciada por vários fatores relacionados à estrutura organizacional ou ao processo de trabalho dos centros de hemodiálise dos diferentes estudos citados, bem como a frequência de higiene e esterilização de equipamentos na sala de diálise, reutilização de capilares e distribuição de pacientes de acordo com o número de profissionais de saúde, como já mencionado por outros autores (Carrilho et al., 2004; Santos; Souto, 2007; Moreira et al., 2010; Chang et al., 2014).

Além disso, as variáveis “idade e renda” foram associadas ao risco de infecção pelo HBV, em que os indivíduos mais velhos e aqueles com renda familiar mensal *per capita* de até dois salários mínimos (100 a 400 dólares) apresentaram maior positividade para o anticorpo anti-HBc total. A associação da variável “idade” com o HBV pode ser justificada pelo fato da doença afetar pessoas mais velhas com maior frequência e com mais tempo de hemodiálise, aumentando, dessa forma, o risco de exposição ao HBV (Zambonato et al., 2008). A associação da variável “renda” pode ser explicada pela dificuldade desses indivíduos em manter uma relação de trabalho, devido ao tempo gasto no tratamento de hemodiálise e suas condições clínicas. Por isso, esses pacientes têm direito a receber um benefício social (benefício de doença) de um salário mínimo como fonte de renda para sua subsistência (Carmo et al., 2002; Zambonato et al., 2008).

No GIII, composto por 47 indivíduos com hemofilia (A e B) e 4 indivíduos com Doença de Von Willebrand (DVW), a prevalência de HBsAg e anti-HBc total foi

de 3,9% e 31,4%, respectivamente. Esses resultados foram semelhantes aos achados por Carmo e colaboradores (2002) em Minas Gerais, que identificaram 3,7% de HBsAg entre os hemofílicos, mas o anticorpo de exposição prévia ao HBV (anti-HBc total) apresentou maior prevalência (67,9%) do que no nosso estudo. No entanto, em relação a outros estudos, nossas taxas de prevalência foram superiores às encontradas por Fontes e colaboradores (2003), que identificaram 2,9% de HBsAg em hemofílicos na cidade do Rio de Janeiro, e por Hoepers (2008) que encontrou uma prevalência de anti-HBc total de 28,5% em Santa Catarina.

Essas diferenças podem ser justificadas pelo tipo de coagulopatia considerada para cada estudo. No estudo apresentado no Artigo 1, não foi possível avaliar cada tipo de coagulopatia separadamente (hemofilia A, hemofilia B e DVW, devido ao pequeno tamanho da amostra ($n = 51$)). Ao mesmo tempo, Rezende e colaboradores (2009) avaliaram dados do Ministério da Saúde sobre coagulopatias no Brasil e encontraram prevalências diferentes quando avaliaram separadamente cada tipo de coagulopatia, sendo a prevalência de HBsAg de 3,8%, 2,6% e 1% de indivíduos com hemofilia A, hemofilia B e DVW, respectivamente.

Além disso, tanto a hemofilia quanto a DVW são classificadas de acordo com o nível de deficiência na produção plasmática dos respectivos fatores de coagulação, que podem apresentar uma forma grave, moderada e leve na incapacidade de produção. Esse fato influencia diretamente na exposição do indivíduo às infecções virais, uma vez que ele pode precisar de transfusão de sangue com mais frequência (Rezende et al., 2009; Ferreira et al., 2014; Brasil, 2015b).

Além dessas características clínicas, as variáveis “idade, história de doenças sexualmente transmissíveis e transfusão de sangue ou plasma” foram associadas ao risco de infecção por HBV ($p < 0,05$), corroborando com outros estudos (Medeiros et al., 2004; Ziaee et al., 2015; Kucharska et al., 2016).

Em relação à infecção por HCV nos diferentes grupos estudados, observou-se que no GI, a prevalência do anti-HCV foi de 1,3%. Enquanto isso, no Estado do Ceará, onde a cidade de Fortaleza está localizada, Távora e colaboradores (2013) encontraram maior prevalência de coinfeção HIV/HCV (5,4%). Talvez essa diferença seja justificada pelo perfil de maior gravidade dos pacientes atendidos no hospital de referência para doenças infecciosas do Estado do Ceará, onde os autores recrutaram sua amostra.

Por outro lado, a prevalência de coinfeção HIV/HCV (1,3%) que encontramos está abaixo da estimada por Farias e colaboradores (2012), que encontraram uma prevalência de 6,4% de anti-HCV entre indivíduos infectados por HIV em São Paulo; Oliveira e colaboradores (2014) identificaram 1,6% de anti-HCV entre os casos de Aids notificados no Brasil de 1999 a 2010; Flores e colaboradores (2016) observaram 4,6% de anti-HCV em pacientes HIV positivos do Rio de Janeiro.

Considerando esta variação de prevalências, é importante destacar os diferentes perfis dos indivíduos inseridos nesses estudos. Portanto, é possível que o baixo número de usuários de drogas intravenosas, que é um dos fatores de risco para coinfeção HIV/HCV, seja menor na região Nordeste do que em outros centros urbanos brasileiros (Távora et al., 2013). Quanto aos fatores de risco para o HCV, não foi possível fazer essa análise devido ao pequeno número de amostras positivas neste grupo.

No GII, a prevalência de anti-HCV foi de 12,6%. Embora o ambiente de diálise tenha sido considerado um risco elevado para a infecção por HCV, nosso resultado foi menor que a prevalência anti-HCV (14,8%) encontrada por Leão e colaboradores (2010) em Juiz de Fora-MG; menor do que os 52% de anti-HCV identificados por Medeiros e colaboradores (2004) em Fortaleza-CE e os 13,57% de anti-HCV identificados por Sasaki e colaboradores (2006) na cidade de Toledo-PR.

Por outro lado, nosso resultado foi maior do que a prevalência de anti-HCV (10,4%) encontrada no estudo de Marquesini e colaboradores (2008) em Campinas-SP e no estudo de Sesso e colaboradores (2014), com 4,2% de anti-HCV identificados pelo inquérito nacional com DRC em diálise no Brasil. Embora todos esses estudos tenham sido realizados com indivíduos DRC em diálise, foi possível observar diferentes taxas de infecção pelo HCV, o que pode ser justificado pelo diferente perfil epidemiológico do HCV nas regiões brasileiras. Além disso, algumas clínicas de diálise podem não ter cumprido adequadamente as normas de boas práticas estabelecidas para serviços de diálise (Sasaki et al., 2006; Santos e Solto, 2007; Halle et al., 2016).

No GII, a variável “transfusão de sangue antes de 1994” foi associada à infecção pelo HCV ($p = 0,004$), uma vez que apenas a partir de novembro de 1993, o HCV teve o diagnóstico obrigatório em bancos de sangue no Brasil, estabelecido

pela portaria nº 1.376, de 19 de novembro de 1993 (Brasil, 1993). Embora as variáveis “uso de preservativo e uso de drogas injetáveis” não tenham mostrado associação positiva com HCV, apresentaram valores importantes de p ($p = 0,062$ e $p = 0,064$, respectivamente). No estudo aqui apresentado, encontramos uma similaridade com os fatores de risco encontrados por outros autores (Santos; Solto, 2007; Moreira et al., 2010; Leão et al., 2010; Chang et al., 2014).

O GIII apresentou 47% da prevalência anti-HCV, uma taxa de infecção muito maior que a encontrada em GI e GII, devido ao fato da hepatite C ser a principal comorbidade que afeta indivíduos com coagulopatia, em quem essa infecção geralmente ocorreu através do tratamento com concentrados de fatores de coagulação, em vigor de 1970 a 1985 (Medeiros et al., 2004; Rezende et al., 2009; Brasil, 2015b; Kucharska et al., 2016).

No entanto, em relação a outros estudos, nossas amostras tiveram prevalência de anti-HCV semelhante aos 44,6% encontrados por Carmo et al. (2002) em Minas Gerais. Entretanto, outros autores identificaram prevalências mais baixas que as nossas, dos quais Fontes e colaboradores (2003) encontraram 39,4% de anti-HCV nos hemofílicos da cidade do Rio de Janeiro, Silva e colaboradores (2005) descobriram que 42,2% de anti-HCV na Bahia, e Hoepers (2008) diagnosticou 34,16% de anti-HCV em Santa Catarina.

O estudo de Ferreira e colaboradores (2014), realizado com hemofílicos de tipo A (deficiência de fator VIII) no Brasil, chama a atenção pela alta prevalência de anti-HCV (59,3%). É importante enfatizar as características do tipo de fator de coagulação que apresenta produção deficiente (hemofilia A – fator VIII, hemofilia B – fator IX e DVW – fator Von Willebrand) e o nível de deficiência (grave, moderada e leve). Essas características são inerentes às coagulopatias e podem interferir na manifestação clínica da própria doença e também influenciar a exposição desses indivíduos ao risco de infecção por HCV. Como mostrado no artigo de Rezende e colaboradores (2009), que avaliaram os registros do Ministério da Saúde sobre coagulopatias no Brasil e encontraram prevalências diferentes de HCV quando avaliado separadamente para cada tipo de coagulopatia, com prevalência anti-HCV em 34,9%, 29,7% e 12% entre os indivíduos com hemofílicos A, hemofílicos B e DVW, respectivamente. Diante disso, é importante ressaltar que, no estudo aqui apresentado, não foi possível avaliar separadamente cada tipo de coagulopatia (hemofilia A, hemofilia B e DVW), devido ao pequeno tamanho da amostra ($n = 51$).

Para o GIII, as variáveis “história de doenças sexualmente transmissíveis e transfusão de sangue e/ou plasma” foram associadas ao risco de transmissão do HCV ($p < 0,05$) entre os coagulopatas incluídos neste estudo. A literatura mostra que os pacientes com coagulopatia que receberam transfusões múltiplas de sangue ou produtos sanguíneos (Medeiros et al., 2004) antes de 1994 foram mais afetados pelo HCV porque não havia triagem nos bancos de sangue antes dessa data, visto que no Brasil a triagem para HCV só foi obrigatória no final de 1993 (Ximenes et al., 2015; Ziaee et al., 2015).

Nossos resultados mostraram uma alta prevalência de infecção por HBV e HCV entre os indivíduos com DRC em hemodiálise e com coagulopatia em relação à população em geral. Alguns fatores mostraram-se associados à maior prevalência dessas infecções, como renda, transfusão de sangue ou plasma, história de IST prévia, número de parceiro sexual e dosagem de marcadores bioquímicos (AST, GGT e ferro sérico).

Um fato importante foi a associação entre a renda e a prevalência de hepatite B na população DRC, demonstrando que as condições de pobreza e a falta de acesso aos serviços de saúde contribuem com a persistência da infecção neste grupo. Logo, ações de prevenção e diagnóstico rápido para infecções por HBV e HCV em grupos com maior risco (HIV, DRC, coagulopatas) são fundamentais para evitar a progressão da doença, complicações clínicas e disseminação dessas infecções.

5.2 Desempenho dos testes rápidos para detecção de HBsAg e anti-HCV em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)

O diagnóstico precoce de infecção pelo HBV e pelo HCV é de suma importância, principalmente entre indivíduos infectados pelo HIV, uma vez que a coinfeção pode afetar o prognóstico da doença, a definição e duração do tratamento e, conseqüentemente, o resultado do tratamento antirretroviral (Lacombe; Rockstroh, 2012; Távora et al., 2013; Coppola et al., 2015).

A detecção do HBV e do HCV é comumente feita pelo método sorológico ELISA para identificação do antígeno HBsAg e do anticorpo anti-HCV,

respectivamente, no soro do paciente (Villar et al., 2015b). No entanto, para a execução desses ensaios é necessário contar com profissional especializado e infraestrutura laboratorial. Por isso, testes rápidos (TRs) podem ser ferramentas úteis para o diagnóstico de HBV e HCV, uma vez que, possuem baixo custo, podem ser armazenados em temperatura ambiente, realizados por qualquer profissional minimamente treinado, são de execução rápida e simples, o que os tornam adequados para situações de emergência e áreas remotas e sem infraestrutura (Randrianirina et al., 2008; Silva et al., 2011; Smith et al., 2011; Franzeck et al., 2013; Scalioni et al., 2014; Cruz et al., 2015; WHO, 2017c).

Alguns estudos mostraram um bom desempenho de TRs para detecção de HBsAg e anti-HCV na população em geral (Randrianirina et al., 2008; Firdaus et al., 2013; Bottero et al., 2013; Kim et al., 2013). No entanto, existem poucos dados sobre o desempenho de TRs para HBsAg e anti-HCV em indivíduos infectados pelo HIV, como os de Franzeck et al. (2013), Scalioni et al. (2014) e Cruz et al. (2015), mas nesses estudos foram incluídos poucos indivíduos HIV positivos ou não foi avaliada a influência da carga viral do HIV, do tratamento antirretroviral ou da contagem de células CD4 no desempenho desses ensaios.

Por isso, nosso segundo artigo (Artigo 2) teve como objetivo principal avaliar o desempenho de TRs para detecção de HBsAg e anti-HCV entre indivíduos infectados pelo HIV, usando amostras de soro e sangue total para determinar a aplicabilidade desses testes nesse grupo. Além disso, a influência da carga viral do HIV, tratamento antirretroviral, contagem de células CD4 também foram avaliados. Observamos um bom desempenho dos TRs HBsAg e anti-HCV, avaliados em indivíduos infectados pelo HIV em relação ao ELISA.

Os TRs Vikia HBsAg e Wama Immuno-Rapid HBsAg mostraram altas sensibilidade (> 92%) e especificidade (> 99%) com soro e sangue total, conforme foi observado também em outros estudos, com indivíduos saudáveis e monoinfectados com HBV, sensibilidade e especificidade acima que 90% (Bottero et al., 2013; Cruz et al., 2015).

Cruz e colaboradores (2015) avaliaram as mesmas marcas de TRs (Wama Immuno-Rapid HBsAg e Vikia HBsAg) para três grupos populacionais e encontraram desempenhos diferentes entre os grupos. O grupo 1 (casos suspeitos de infecção por HBV) apresentou resultados similares aos nossos: sensibilidade de 93,40% e especificidade de 99,50%.

No entanto, encontramos uma menor sensibilidade e concordância do TR Wama Imuno-Rápido HBsAg quando as amostras com HBV DNA detectadas foram consideradas como verdadeiro-positivas, o que poderia ter sido provocado pelo pequeno número de amostras com presença de HBV DNA incluídas no estudo, ou carga viral de HBV DNA indetectável ou temporariamente suprimida pelos medicamentos antirretrovirais (Raboni et al., 2014; Brandão et al., 2015).

A menor sensibilidade e concordância do TR em relação ao HBV DNA detectado pode ser atribuída também à baixa carga viral do HBV, visto que cerca de 60% das amostras com sorologia HBsAg reagente apresentaram HBV DNA não detectado, sendo que destes, quase 80% (11/14) dos indivíduos coinfectados HIV/HBV estavam em TARV e a maioria deles (90%) tinha o esquema terapêutico composto por lamivudina (3TC) e tenofovir (TDF), que são usados para tratar ambas as infecções (Phung et al., 2014; Raboni et al., 2014).

Franzeck e colaboradores (2013) avaliaram um TR de outro fabricante (TR Determine HBsAg) no soro e sangue total de pacientes HIV-1 positivos em TARV recente na Tanzânia e também identificaram um bom desempenho, com sensibilidade e especificidade de 96% e 100%, respectivamente. Embora este estudo tenha avaliado um fabricante diferente, os resultados do teste foram semelhantes aos nossos achados.

No nosso estudo, os TRs para detecção de anti-HCV (Wama Immuno-Rapid Anti-HCV[®] e Bioeasy HCV Rapid Test[®]) revelaram sensibilidades superiores a 80%. Mesmo assim, foi considerado menor do que o evidenciado anteriormente em outros estudos, com indivíduos não infectados pelo HIV (Rosa et al., 2013; Scalioni et al., 2014). Tal fato poderia indicar a interferência do HIV no desempenho desses ensaios, pois o HIV provoca uma supressão do sistema imunológico humoral do indivíduo infectado, o qual diminuirá sua capacidade de produção de anticorpos e, conseqüentemente, apresentará também uma baixa concentração de anticorpos anti-HCV (Ross et al., 2015; Chonwattana et al., 2016). Como foi observado anteriormente, a sensibilidade do TR anti-HCV aumentou quando as amostras positivas para HCV RNA foram consideradas como amostras verdadeiro-positivas, ressaltando a eficiência do TR para identificar casos de hepatite C com viremia ativa.

O desempenho dos TRs para detecção de HBsAg e anti-HCV parece ser influenciado pela concentração de antígenos e anticorpos. Por isso, amostras com

resultados falso-negativos apresentaram valores médios de DO/CO (\pm DP) menores ($2,08 \pm 1,49$) do que as amostras verdadeiro-positivas ($4,12 \pm 0,34$). Bottero e colaboradores (2013) também observaram que amostras com HBsAg falso-negativo pelo TRs Vikia HBsAg[®], Determine[™] HBsAg e Quick Profile[®] apresentaram níveis médios de antígeno HBsAg inferior às amostras com resultados verdadeiro-positivos.

A carga viral do HIV e HCV parece ter influenciado o desempenho dos TRs anti-HCV em relação ao ELISA, pois apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando os resultados discordantes e concordantes dos TRs anti-HCV foram comparados ($p < 0,05$). Uma vez que as amostras com resultado discordante pelos TRs anti-HCV apresentaram maior carga viral média de HIV do que os resultados concordantes (2.518 ± 2.468 vs 45 ± 5 cópias/ml), evidenciando assim um impacto negativo da carga viral do HIV na eficiência do TR. Vale ressaltar que alta carga viral do HIV causa disfunção no sistema imunológico do paciente, especialmente na resposta humoral, causando uma menor produção de anticorpos que interfere indiretamente na quantidade de anti-HCV disponível no sangue do paciente coinfestado (Ross et al., 2015; Chonwattana et al., 2016).

Tal justificativa também foi abordada por Firdaus e colaboradores (2013) ao recomendarem que os TRs anti-HCV não devem ser utilizados como única ferramenta diagnóstica em grupo de alto risco, como em indivíduos HIV positivos, entre outros. Já Hoffmann e colaboradores (2012) levantaram a hipótese de que a interação com a própria infecção do HIV poderia afetar o desempenho do TR. Apesar disso, não está claro como a sensibilidade dos TRs para HBsAg e anti-HCV são afetados pela presença concomitante do HIV.

Embora a contagem de células CD4 e o tratamento antirretroviral para o HIV não tenham apresentado relação estatisticamente significativa com resultados discordantes e concordantes pelos TRs, esse dado nos chama a atenção pelo fato de não ter evidenciado na análise estatística a existência de influência do estado imunológico dos pacientes no desempenho dos TRs. Talvez isso tenha ocorrido devido à falta de representação de indivíduos imunossuprimidos, visto que quase 80% dos pacientes tinham contagem de células CD4 acima de 350 células/mm. Em um estudo realizado na África, Hoffmann e colaboradores (2012) encontraram resultados diferentes do nosso, pois encontraram influência da infecção pelo HBV na menor contagem de CD4.

O presente estudo apresentou algumas limitações, como: o baixo número de amostras positivas para HBV e HCV pode ter interferido na avaliação da sensibilidade e do valor preditivo dos TRs, gerando amplos intervalos de confiança; falta de dados para alguns parâmetros; o HIV RNA não foi testado em todas as amostras e a taxa de infecção HBV oculta não foi detectada, o que pode causar resultados falso-negativos (Raboni et al., 2014; Brandão et al., 2015). Apesar das limitações, os TRs podem ser uma ferramenta útil em áreas sem infraestrutura laboratorial e de recursos limitados para a detecção de infecção pelo HBV e HCV em pacientes infectados pelo HIV.

5.3 Desempenho dos testes rápidos para detecção do HBsAg e anti-HCV em indivíduos doentes renais crônicos

O Brasil, por meio do Ministério da Saúde, tem desenvolvido um amplo trabalho de educação e sensibilização da população para a realização de testes diagnósticos, estimulando o diagnóstico precoce e, conseqüentemente, o tratamento, de modo a interromper a cadeia de transmissão e a progressão da doença. Diante disso, os TRs para detecção de antígeno HBsAg e anticorpos anti-HCV vêm sendo introduzidos nos serviços de saúde como uma promissora ferramenta prática para o diagnóstico da hepatite B e C (Brasil, 2015a; Teles, 2017).

Os TRs para hepatite B e C são produzidos e comercializados por diferentes fabricantes em todo o mundo. Estudos têm demonstrado um bom desempenho desses TRs para a detecção de HBsAg e de anti-HCV (Rosa et al., 2013; Bottero et al., 2013; Kim et al., 2013; Scalioni et al., 2014; Cruz et al., 2015). No entanto, ainda são escassos estudos que avaliam o desempenho de testes rápidos em pessoas com DRC em hemodiálise (Firdaus et al., 2013).

O **Artigo 3** teve como objetivo principal avaliar os TRs para detecção de HBsAg e anti-HCV em pacientes com DRC em comparação com o ELISA. Nesse grupo populacional, identificamos altas prevalências de HBsAg (4,5%) e anti-HCV (16,1%), conforme foi observado também em outros estudos, os quais encontraram altas prevalências dessas infecções, que variaram em relação às regiões ou

idades brasileiras onde foram realizados (Marquesini et al., 2008; Rezende et al., 2009; Moreira et al., 2010; Da Silva et al., 2013; Ferreira et al., 2014; Brasil, 2015b).

A hemodiálise é considerada fator de risco para a infecção pelo HCV e HBV, devido a numerosos procedimentos de acesso venoso, transfusões periódicas de sangue e potencial transmissão nosocomial, em que pacientes com DRC são submetidos (Da Silva et al., 2013; Jang et al., 2017).

Por isso, essa população deve ser frequentemente testada a fim de identificar precocemente as infecções para tratá-las e evitar a progressão do dano hepático que pode evoluir para cirrose, descompensação hepática e câncer de fígado (Lee et al., 2015; Makris; Konkle, 2017). Portanto, o emprego de TRs poderia ser mais um instrumento para triagem, a favor de ampliar o acesso ao diagnóstico das pessoas infectadas com HBV e HCV. Mas é necessário comprovar antes disso o desempenho dos TRs também para esse grupo populacional.

Uma ampla variedade de testes no local de atendimento para a detecção de marcadores de Hepatite B e C está disponível em todo o mundo. Estudos demonstraram bom desempenho nos testes de point-of-care para o antígeno de superfície do HBV (HBsAg) e o anticorpo do HCV (anti-HCV) (Bottero et al., 2013; Kim et al., 2013; Scalioni et al., 2014; Cruz et al., 2015; Barbosa et al., 2017). No entanto, estudos avaliando o desempenho desses testes no local de atendimento para HBsAg e anti-HCV em indivíduos com DRC em hemodiálise são escassos (Khuroo et al., 2014).

Logo, ao avaliar os TRs Vikia HBsAg[®] e Wama Immuno-Rapid HBsAg[®] com amostras de indivíduos DRC, tanto com amostra de soro quanto de sangue total, identificamos sensibilidade e especificidade acima de 90%, com concordância acima de 90% desses testes em relação ao ELISA. Por outro lado, os intervalos de confiança que encontramos para a sensibilidade e valor preditivo positivo (VPP) apresentaram ampla variação. Dados semelhantes foram encontrados por Cruz e colaboradores (2015) ao compararem grupos de pacientes com baixo e alto risco de infecção pelo HBV, sem DRC.

O tamanho do intervalo de confiança pode ser influenciado pelo tamanho da amostra, prevalência de HBsAg, o nível de confiança e a variabilidade da população, visto que uma amostra maior normalmente levará a uma estimativa melhor do parâmetro populacional (Kalinowski, 2010). Apesar disso, o desempenho dos TRs que identificamos demonstram baixa interferência da condição clínica

desses pacientes nos resultados dos TRs para HBsAg e habilidade destes para detectar amostras verdadeiro-negativas (Bottero et al., 2013; Cruz et al., 2015). Mas esse desempenho pode ter sido superestimado devido ao pequeno tamanho da amostra utilizada para o estudo.

Por outro lado, apesar da condição imunossupressora sofrida pelos pacientes submetidos ao tratamento dialítico, o desempenho dos TRs HBsAg parece não ter sofrido tal interferência. Contrário aos achados de Honge e colaboradores (2014), que identificaram menor desempenho do POCT HBsAg em pacientes imunossuprimidos, dos quais a maioria dos resultados falso-negativos apresentou menores concentrações de HBsAg e, geralmente, menor carga viral (DNA-VHB) do que os verdadeiros positivos.

Os TRs HBsAg foram mais sensíveis e concordantes (> 90%) do que os TRs anti-HCV (> 84%) quando comparados ao ELISA, com amostras de soro ou sangue total (Artigo 3). Scalioni e colaboradores (2014) também encontraram concordância semelhante (80,5%) quando o Wama Immune-Rapid HCV[®] foi usado em uma população com alto risco de infecção pelo HCV.

De mesma forma, Chevaliez e colaboradores (2016) avaliaram o teste anti-HCV Toyo[®] (Türklab Medical Devices, Izmir, Turquia) e OraQuick[®] HCV Rapid Antibody Test (OraSure Technologies, Bethlehem, Pensilvânia) com sangue capilar total e identificaram sensibilidades de 95,8% e 99,4% e especificidades de 98,8% e 100%, respectivamente. Por outro lado, Firdaus et al. (2013) demonstraram que os TRs para anti-HCV não podem ser usados como uma ferramenta diagnóstica absoluta e acurada para rastrear a infecção por HCV, especialmente em pacientes com DRC em hemodiálise, uma vez que muitas das amostras declaradas como negativas pelo TR anti-HCV tiveram, de fato, o HCV RNA detectado.

Essas divergências podem ser resultantes de diferentes características da população ou dos testes rápidos utilizados. Os pacientes renais crônicos apresentam características específicas que podem interferir no diagnóstico de HCV, uma vez que a viremia intermitente e a sorologia anti-HCV negativa durante um longo período após a infecção são características comumente encontradas nessa população (Da Silva et al., 2013). Mas um estudo de Sharma e colaboradores (2015) mostrou que a triagem com TRs (Rapid Anti-HCV Test[®] - Health-Chem Diagnostics LLC, FL, USA) também pode ser útil para indivíduos de

alto risco, como os DRC e hemofílicos, com exposições percutâneas frequentes, entre outros.

A interferência dos dados clínicos e laboratoriais foi avaliada em relação aos resultados falso-negativos e verdadeiros positivos obtidos pelos TRs anti-HCV em comparação com o ELISA. Mas essa mesma análise comparativa não foi possível para os TRs HBsAg devido ao baixo número de resultados falso-negativos (apenas 1 amostra).

Portanto, observamos que as amostras que apresentaram resultados falso-negativos pelos TRs Doles HCV Teste Rápido[®] e Wama Imuno-Rápido Anti-HCV[®] em pacientes com DRC não tiveram carga viral (HCV RNA) detectada, exceto para uma amostra (880 UI/ml ou $2,98 \log^{10}$). Provavelmente devido ao fato de que essas pessoas já eliminaram o vírus através do tratamento de hemodiálise e, portanto, apenas o anticorpo (anti-HCV) foi detectado pelo ELISA. Além disso, os valores médios de DO/CO foram menores entre os falsos negativos em comparação com amostras verdadeiras positivas com os mesmos testes (Artigo 3), como também observado em outros estudos (Kalantar-Zadeh et al., 2005; Cohen & Hörl, 2012; Scalioni et al., 2014). Assim, existe a possibilidade de baixos níveis de anticorpos não serem detectados por TRs, independentemente da população estudada.

Além disso, esses pacientes com resultados falso-negativos pelo POCT Wama Imuno-rápido anti-HCV[®] e Doles HCV teste rápido[®] apresentaram tempo médio de hemodiálise mais longo que os resultados verdadeiro-positivos ($240 \pm 217,55$ meses vs $143,17 \pm 108,92$ meses e $231 \pm 210,23$ meses vs $144,20 \pm 111,06$ meses, respectivamente). Relação semelhante também foi observada nos resultados de ELISA encontrados por Kalantar-Zadeh e colaboradores (2005), sugerindo a influência da hemodiálise nos testes sorológicos para detecção de anticorpos.

Embora não tenhamos avaliado as condições do sistema imune dos pacientes, como a contagem de CD4, por exemplo, sabe-se que a DRC causa disfunção no sistema imunológico do paciente, causando menor produção de anticorpos, o que interfere indiretamente na quantidade de anti-HCV disponível no sangue de pacientes em hemodiálise. Devido ao comprometimento da filtração glomerular em pacientes com DRC, há acúmulo de toxinas urêmicas e, portanto, atividades metabólicas renais que interferem na defesa imunológica de indivíduos com DRC (Halle et al., 2016).

A maioria dos resultados verdadeiro-positivo pelos TRs anti-HCV em pacientes com DRC tinha os valores alterados das enzimas AST, ALT e GGT, como evidenciado também em outros estudos (Kalantar-Zadeh et al., 2005; Da Silva et al., 2013). Isso mostra que os TRs poderiam detectar indivíduos com enzimas hepáticas anormais. Embora a razão para a baixa atividade enzimática em pacientes com DRC não seja totalmente compreendida, existem algumas questões possíveis: inibição enzimática das aminotransferases por toxinas urêmicas, perda de enzimas em hemodiálise, interferência de outras substâncias dialisáveis, entre outras (Marinaki et al., 2015; Halle et al., 2016).

Este estudo apresentou algumas limitações, tais como: baixo número de amostras positivas para HBsAg e a não realização de testes moleculares para todas as amostras com resultados discordantes em relação ao teste padrão. Além disso, os parâmetros de precisão (reprodutibilidade e repetitividade) dos TRs não foram analisados por falta de amostra suficiente.

No entanto, outros estudos realizados por nosso grupo de pesquisa, do laboratório de hepatites virais, avaliaram a reprodutibilidade e repetitivamente dos mesmos TRs HBsAg (Vikia HBsAg[®] e Wama Immuno-Rapid HBsAg[®]) em relação ao ELISA, encontrando 100% de valor kappa (Cruz et al., 2015). Assim como Scalioni e colaboradores (2014), que avaliaram a reprodutibilidade e a repetibilidade de TRs anti-HCV (Wama Immuno-Rapid HCV[®] e Bioeasy HCV Rapid Test[®]) também identificaram 100% do valor de kappa para esses testes em comparação ao ELISA. Mostrando em ambos os estudos a concordância dos resultados obtidos por esses dois métodos.

Diante dos resultados encontrados, é possível concluir que a DRC parece não interferir no desempenho de TRs para detecção do HBV e HCV. Além disso, esses ensaios tiveram melhor desempenho em amostras de soro em comparação com amostras de sangue total. O alto desempenho de TRs anti-HCV foi demonstrado quando amostras positivas de HCV RNA e anti-HCV foram consideradas amostras verdadeiro-positivas. A capacidade demonstrada do ensaio para identificar indivíduos com infecção ativa pelo HCV pode ajudar as autoridades de saúde a reduzir no futuro o risco de transmissão do vírus a indivíduos não infectados. No entanto, o uso de um teste confirmatório pode ser recomendado para confirmar o diagnóstico de HCV.

6 CONCLUSÕES

- Observamos altas prevalências de HBV e HCV em indivíduos HIV positivos, doentes renais crônicos em hemodiálise ou com coagulopatia residentes na cidade de Fortaleza-CE, indicando a necessidade de ações de prevenção e controle dessas infecções nos grupos estudados.
- A prevalência de hepatite B foi associada às variáveis: idade (GII e GIII), número de parceiros sexuais no último ano (GI), história de IST prévia (GI e GIII) e transfusão de sangue ou plasma (GIII), demonstrando que medidas educativas voltadas ao comportamento sexual e triagem sorológica da hepatite B seriam importantes para diminuição da prevalência dessa doença nesses grupos.
- A prevalência de hepatite C foi associada à transfusão de sangue antes de 1994 (GII), à história de IST prévia e à transfusão de sangue/plasma (GIII), demonstrando a necessidade de medidas educativas para redução da transmissão do HCV na população estudada.
- Foi possível observar um bom desempenho dos TRs para HBsAg (Wama Imuno-Rápido HBsAg[®] e Vikia HBsAg[®]) e anti-HCV (Bioeasy HCV Rapid Test[®] e Wama Imuno-Rápido Anti-HCV[®]) em amostras de soro e sangue total de indivíduos infectados pelo HIV em comparação aos resultados obtidos no teste padrão ouro (ELISA), indicando que estes podem ser utilizados nessa população de alta vulnerabilidade.
- A avaliação de desempenho dos TRs para detecção de HBsAg e anti-HCV mostrou a influência da concentração de antígenos e anticorpos, pois amostras com resultados falso-negativos apresentaram valores médios da razão de DO/CO menores do que o observado em amostras verdadeiro-positivas na população com HIV.
- Amostras com resultado discordante pelos TRs anti-HCV em relação ao ELISA, apresentaram maior carga viral média de HIV, sugerindo um impacto negativo da carga viral do HIV na eficiência desses TRs.

- Os TRs anti-HCV (Doles HCV Teste Rápido® e Wama Imuno-Rápido Anti-HCV®) apresentaram maior sensibilidade e concordância (> 89%) em relação ao ELISA, quando testado com soro e sangue total de indivíduos com DRC,.
- Verificamos que amostras com resultados falso-negativos pelos TRs em pacientes com DRC apresentaram maior tempo médio de hemodiálise e valores mais baixos de DO/CO em comparação aos resultados de amostras verdadeiramente positivas, demonstrando assim, possível interferência do tempo de diálise no desempenho dos TRs para detecção de anti-HCV.
- Os TRs para detecção de HBsAg e anti-HCV podem ser uma importante ferramenta para ampliar o acesso ao diagnóstico das hepatites B e C nos grupos estudados, principalmente em áreas sem infraestrutura laboratorial e de recursos limitados.

7 RECOMENDAÇÕES

Com base nos resultados obtidos neste estudo, recomendamos as seguintes estratégias de prevenção, diagnóstico e avaliação de desempenho de testes rápidos para as hepatites virais B e C.

❖ **Recomendação 1**

No **Artigo 1**, o perfil epidemiológico identificado nos três grupos populacionais de Fortaleza-CE, compostos por indivíduos HIV positivos, DRC em hemodiálise e com coagulopatia, reforça a necessidade de recomendarmos ações de saúde voltadas para promoção em saúde, ampliação da oferta e acesso aos testes diagnóstico para HBV e HCV direcionados para essas populações, principalmente para as camadas mais pobres da sociedade, a fim de identificar os casos assintomáticos e subnotificados da doença e, conseqüentemente, evitar a progressão clínica da hepatite B e C.

❖ **Recomendação 2**

A partir dos resultados obtidos no **Artigo 2**, em que avaliamos o desempenho dos testes rápidos para HBsAg (Wama Imuno-Rápido HBsAg[®] e Vikia HBsAg[®]) e anti-HCV (Bioeasy HCV Rapid Test[®] e Wama Imuno-Rápido Anti-HCV[®]) em amostras de soro e sangue total de indivíduos infectados pelo HIV, recomendamos o uso desses testes rápidos em indivíduos mono infectados pelo HIV e co infectados HIV/HBV ou HIV/HCV. A sensibilidade dos TRs foi maior em indivíduos com infecção ativa (HBV DNA e HCV RNA detectado), exceto o teste Wama Imuno-Rápido HBsAg[®], processado com amostras de soro. Isso demonstra a capacidade dos TRs de identificar aqueles indivíduos com possibilidade de transmitirem a infecção e que devem ser encaminhados ao tratamento.

❖ **Recomendação 3**

Com base nos resultados do **Artigo 3**, recomendamos o uso de testes rápidos para detecção de HBsAg e anti-HCV em pacientes com DRC em áreas

remotas ou sem infraestrutura, apesar de ser recomendado a confirmação de resultados reagentes com outro método diagnóstico.

8 PERSPECTIVAS

- Avaliar o limite de detecção de HBsAg e anti-HCV pelos testes rápidos em amostras de soro e sangue total de indivíduos HIV positivos, DRC e coagulopatas.
- Avaliar a repetibilidade e reprodutibilidade dos testes rápidos para detecção de HBsAg e anti-HCV nos grupos estudados.
- Realizar um estudo de custo-efetividade dos testes rápidos para detecção do HBsAg e anti-HCV em comparação a técnicas convencionais de diagnóstico em população de risco para hepatite B e C.

9 LIMITAÇÕES

Este estudo apresentou algumas limitações, como:

- Baixo número de indivíduos HBV e HCV co-infectados pelo HIV que pode ter interferido na avaliação da sensibilidade e valor preditivo dos testes rápidos;
- Falta de resultados da carga viral do HIV (HIV RNA) para todas as amostras da população HIV (GI), não apenas para as amostras coinfectedas pelo HBV ou HCV (HBsAg ou anti-HCV reagentes);
- Não foi calculada a taxa de infecção oculta por HBV que podem provocar resultados falso-negativos;
- Não realização de teste molecular para HBV e HCV em todas as amostras das três populações (GI, GII e GIII), apenas para as amostras positivas pelo EIA (HBsAg e anti-HCV), de modo que fosse possível avaliar os resultados discordantes pelos testes rápidos;
- Ausência de avaliação da reprodutibilidade e repetitivamente dos Testes Rápidos, por falta de amostra suficiente.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis: an analysis with first and second-generation assays. *N. Engl. J. Med.*, v.325, p.1325-1329, 1991.

Agyeman AA, Ofori-Asenso R. Prevalence of HIV and hepatitis B coinfection in Ghana: a systematic review and meta-analysis. *AIDS Research and Therapy*. 2016;13:23.

Albeldawi M, Ruiz-Rodriguez E, Carey WD. Hepatitis C virus: prevention, screening, and interpretation of assays. *Cleveland Clin J Med* 77:616–626, 2010.

Alberti A, Tremolada F, Fattovich G, Bortolotti F, Realdi G. Virus replication and liver disease in chronic hepatitis B virus infection. *Dig Dis Sci*. 1983; 28:962-966.

Albuquerque ACC, Coêlho RCD, Lemos MF, Cruz AMR, Braz SCM, Moreira, RC. Hepatitis B virus infections profile in different hemodialysis units in Recife, Pernambuco, Brazil. *Virus Rev Res* 2009, 14:1-18.

Albuquerque IC, Sousa MT, Santos MDC, Nunes C, Moraes MJD, Gomes-Gouvêa MS, et al. Mutation in the A-Determinant of the S gene of the hepatitis B virus associated with concomitant HBsAg and anti-HBs in a population in Northeastern Brazil. *J Med Virol*. 2017 Mar;89(3):458-62

Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, Popper H. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet*. 1978, 1:459-63.

Alter HJ. New kit on the block: evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. *Hepatology*.1992, v.15: 350-353.

Alter MJ, Coleman PJ, Alexander, W.J, Kramer E, Miller JK, Mandel E, Hadler SC, Margolis HS. Importance of heterosexual activity in the transmission of hepatitis B and non-A, non-B hepatitis. *JAMA*. 1989, 262:1201-5.

Alter MJ, Kuhnert W L, Finelli L. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep: Recommendations and Reports*, v.52, RR03. p. 1-16. Feb. 2003.

Alter MJ. Epidemiology and prevention of hepatitis B. *Semin Liver Dis.* 2003 Feb;23(1):39-46.

Alvarado-Mora MV; Moura IM; Botelho-Lima LS; Azevedo RS; Lopes E; Carrilho FJ; Pinho JR. Distribution and molecular characterization of hepatitis C virus (HCV) genotypes in patients with chronic infection from Pernambuco State, Brazil. *Virus Res.* 2012, 169(1), 8-12.

Annesley TM. It's about the journey, Not the destination: The birth of radioimmunoassay. 1960. *Clin Chem* 2010; 56: 671-672

Ballardini G1, Manzin A, Giostra F, Francesconi R, Groff P, Grassi A, Solforosi L, Ghetti S, Zauli D, Clementi M, Bianchi FB. Quantitative liver parameters of HCV infection: relation to HCV genotypes, viremia and response to interferon treatment. *J Hepatol.* 1997, 26:779-786.

Bartenschlager R, Penin F, Lohmann V, André P. Assembly of infectious hepatitis C virus particles. *trends Microbiol.* 2011 Feb;19(2):95-103.

Bezerra CS, Lima J MC, Vilar JL, Moreira JLB, Frota, CC. Viral Hepatitis C in a leading Brazilian hospital: epidemiological factors and genotyping. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2007, 38(4): 656-661

Block TM, Alter HJ, London WT, Bray M. A historical perspective on the discovery and elucidation of the hepatitis B virus. *Antiviral Res.* 2016 Jul;131:109-23.

Blumberg BS, Alter HJ, Visnich A. A "new" antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965; 191: 541-546.

Bottero J, Boyd A, Gozlan J, Lemoine M, Carrat F, Collignon A, et al. Performance of rapid tests for detection of HBsAg and anti-HBsAg in a large cohort. France. *J Hepatol.* 2013;58(3):473-8.

Bradley DW, Maynard JE, Popper H, Ebert JW, Cook EH, Fields HA, Kemler BJ. Persistent non-A, non-B hepatitis in experimentally infected chimpanzees. *J Infect Dis* 1981, 143:210-7.

Bradley DW, McCaustland KA, Cook EH, Schable CA, Ebert JW, Maynard JE. Posttransfusion non-A, non-B hepatitis in chimpanzees. Physicochemical evidence that the tubule-forming agent is a small, enveloped virus. *Gastroenterol.* 1985, 88:773-9.

Brandão AB, Fuchs SC, Silva MA, Emer LF. Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão da literatura. *Rev Panam Salud Publica* 2001, 9:161-8.

Brandão NA, Pfrimer IA, Martelli CM, Turchi MD. Prevalence of hepatitis B and C infection and associated factors in people living with HIV in Midwestern Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2015;19(4):426-30.

Brasil. Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico: hepatites virais. Brasília, DF; 2017a, Ano V, nº 01.

Brasil. Ministério da Saúde. Manual técnico para o diagnóstico das hepatites virais. Brasília, DF; 2015a.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados. Perfil das coagulopatias hereditárias no Brasil: 2014. Brasília: Ministério da Saúde; 2015b, 62 p.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.376, de 19 de novembro de 1993 [acesso em 17 mar 2017]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/legislacao/>.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. Manual de tratamento das coagulopatias hereditárias. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006. 76 p

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde. 1. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2016.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções. Brasília : Ministério da Saúde, 2015c. 101p.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria nº 25, de 1 de dezembro de 2015. Aprova o Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais em Adultos e Crianças e dá outras providências. 2015d. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/legislacao/portaria-no-25-de-01-de-dezembro-de-2015>.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite B e Coinfecções. Brasília : Ministério da Saúde, 2017b. 120p.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Parecer técnico 4/2010. Atualização da indicação da vacina hepatite B nos serviços de saúde do SUS. 2010.

Brasil. Portal Brasil. Saúde. Doença renal crônica atinge 10% da população mundial. 2015d. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2015/03/doenca-renal-cronica-atinge-10-da-populacao-mundial>. Acessado 10 junho 2017.

Bruggmann P, Berg T, Øvrehus AL, Moreno C, Brandão Mello CE, Roudot-Thoraval F, Marinho TR, Sherman M, Ryder SD, Sperl J, Akarca U, Balık I, Bihl F, Bilodeau M, Blasco AJ, Buti M, Calinas F, Calleja JL, Cheinquer H, Christensen PB, Clausen M, Coelho HS, Cornberg M, Cramp ME, Dore GJ, Doss W, Duberg AS, El-Sayed MH, Ergör G, Esmat G, Estes C, Falconer K, Félix J, Ferraz ML, Ferreira PR, Frankova S, García-Samaniego J, Gerstoft J, Giria JA, Gonçalves FL Jr, Gower E, Gschwantler M, Guimarães Pessoa M, Hézode C, Hofer H, Husa P, Idilman R, Kåberg M, Kaita KD, Kautz A, Kaymakoglu S, Krajden M, Krarup H, Laleman W, Lavanchy D, Lázaro P, Marotta P, Mauss S, Mendes Correa MC, Müllhaupt B, Myers RP, Negro F, Nemecek V, Örmeci N, Parkes J, Peltekian KM, Ramji A, Razavi H, Reis N, Roberts SK, Rosenberg WM, Sarmiento-Castro R, Sarrazin C, Semela D, Shiha GE, Sievert W, Stärkel P, Stauber RE, Thompson AJ, Urbanek P, van Thiel I, Van Vlierberghe H, Vandijck D, Vogel W, Waked I, Wedemeyer H, Weis N, Wiegand J, Yosry A, Zekry A, Van Damme P, Aleman S, Hindman SJ. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. *J Viral Hepat* 2014; 21 Suppl 1: 5-33

Burns GS, Thompson AJ. Viral hepatitis B: clinical and epidemiological characteristics. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014 Oct 30;4(12):a024935.

Busch K, Thimme R. Natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Med Microbiol Immunol*. 2015 Feb;204(1):5-10.

Cabezas-Fernandez MT, Cabeza-Barrera MI. Introduction of an Automated System for the Diagnosis and Quantification of Hepatitis B and Hepatitis C Viruses. *The Open Virology Journal*, 2012, 6, (Suppl 1: M4) 122-134.

Caliendo AM, Valsamakis A, Bremer JW, Ferreira-Gonzalez A, Granger S, Sabatini L, Tsongalis GJ, Wang YF, Yen-Lieberman B, Young S, Lurain NS. Multilaboratory evaluation of realtimePCR tests for hepatitis B virus DNA quantification. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 2854-2858

Caligiuri P, Cerruti R, Icardi G, Bruzzone B. Overview of hepatitis B virus mutations and their implications in the management of infection. *World J Gastroenterol*. 2016 Jan;22(1):145-54

Campiotto SPJ, Carrilho FJ, Da Silva LC SF, Spinelli V, Pereira LM, Coelho HS, Silva AO, Fonseca JC et al. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in

Carmo RA, Oliveira GC, Guimarães MDC, Oliveira MS, Lima AA, Buzek SC, et al. Hepatitis C virus infection among Brazilian hemophiliacs: a virological, clinical and epidemiological study. *Braz J Med Biol Res*. 2002;35(5):589-98.

Carneiro MAS, Martins RMB, Teles AS, Silva AS, Lopes CL, Cardoso DDP, et al. Hepatitis C prevalence and risk factors in hemodialysis patients in central Brazil: a survey by polymerase chain reaction and serological methods. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96(6):765-9.

Carrilho FJ, Moraes CR, Pinho JRR, Mello IMVGC, Bertolini DA, Lemos MF, et al. Hepatitis B virus infection in Haemodialysis Centres from Santa Catarina State, Southern Brazil. Predictive risk factors for infection and molecular epidemiology. *BMC Public Health* 2004;4:13.

Carvalho-Filho RJ, Feldner ACCA, Silva AEB, Ferraz MLG. Management of hepatitis C in patients with chronic kidney disease. *World J Gastroenterol*. 2015; 21(2): 408–422;

Casanova YS, Boeira Tda R, Sisti E, Celmer Á, Fonseca AS, Ikuta N, Simon D, Lunge VR. A complete molecular biology assay for hepatitis C virus detection, quantification and genotyping. *Rev Soc Bras Med Trop* 2014; 47: 287-294

Castro HE, Briceño MF, Casas CP, Rueda JD. The history and evolution of the clinical effectiveness of haemophilia type a treatment: a systematic review. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2014. Mar 30(1):1-11.

Chalupa P, Holub M, Davidová A, Arientová S, Beran O. Immune response in the pathogenesis of hepatitis C virus infection. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2015 Oct;64(4):198-203.

Chang JM, Huang CF, Chen SC, Daí CY, Yeh ML, et al. Discrepancy between serological and virological analysis of viral hepatitis in hemodialysis patients. *Int. J. Med. Sci.* 2014;11(5):436-41.

Chen Y, Wu W, Li LJ, Lou B, Zhang J, Fan J. Comparison of the results for three automated immunoassay systems in determining serum HBV markers. *Clin Chim Acta* 2006; 372:129-133.

Chevaliez S, Pawlotsky JM. Hepatitis C virus serologic and virologic tests and clinical diagnosis of HCV-related liver disease. *Int J Med Sci.* 2006; 3(2):35–40.

Chevaliez S, Rodriguez C, Pawlotsky JM. 2012. New virologic tools for management of chronic hepatitis B and C. *Gastroenterology*, v. 142, n. 6, p. 1303-1313.e1..

Chevaliez S, Poiteau L, Rosa I, Soulier A, Roudot-Thoraval F, et al. Prospective assessment of rapid diagnostic tests for the detection of antibodies to hepatitis C virus, a tool for improving access to care. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(5):459.e1-6.

Chonwattana W, Raengsakulrach B, Holtz TH, Wasinrapee P, Tongtoyai J, Chaikummao S, et al. Hepatitis B vaccination uptake and correlates of serologic response among HIV-infected and uninfected men who have sex with men (MSM) in Bangkok, Thailand. *Vaccine.* 2016;34(17):2044-50.

Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-362.

Choo Q-L, Richman KH, Han JH, Berger K, Lee C, Dong C 1991. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:2451-5.

Coffin C, Kung S, MA M. Management of chronic hepatitis B: Canadian Association for the Study of the Liver consensus guidelines. *Canadian Journal of Gastroenterology*. 2012 [S.I.], 26(12): 917-938.

Cohen G, Hörl W. Immune Dysfunction in Uremia—an update. *Toxins* 2012;4:962–90.

Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, Bailly F, Trepo C. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat*. 2001 Mar;8(2):87–95.

Collazos J, Cartón J, Asensi V. Gender differences in liver fibrosis and hepatitis C virus-related parameters in patients coinfecting with human immunodeficiency virus. *Current HIV Research*. 2011, 339-45.

Conceição JS, Diniz-Santos DRF, Ferreira CD, Paes F N, Melo CN, Silva L R. Knowledge of obstetricians about the vertical transmission of hepatitis B virus. *Arquivos de Gastroenterologia*, 2009, 46(1), 57-61

Coppola N, Martini S, Pisaturo M, Sagnelli C, Filippini P, Sagnelli E. Treatment of chronic hepatitis C in patients with HIV/ HCV coinfection. *World J Virol*. 2015; 4(1):1-12.

Corey, K., Mendez-Navarro, J., Gorospe, E., Zheng, H., & Chung, R. Early treatment improves outcomes in acute hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Journal of Viral Hepatitis* 2010, 17(3), 201-7.

Cruz HM, Scalioni LP, Paula VS, Silva EF, do Ó KMR, Milagres FAP, Cruz MS, Bastos FI, Pollo-Flores P, Leal E, Motta-Castro AR, Pilotto JH, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, Villar LM. Evaluating HBsAg rapid test performance for different biological

samples from low and high infection rate settings e populations. BMC Infect Dis. 2015;15:548.

Cruz, HM. 2015. Avaliação do desempenho de testes rápidos na detecção de marcadores do vírus da hepatite B. Dissertação de Mestrado, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 117pp.

Da Silva NMO, Germano FN, Mendoza-Sassi RA, Seuánez HN, Soares MA, Martinez AMB. Evidence of association between hepatitis C virus genotype 2b and nosocomial transmissions in hemodialysis centers from southern Brazil. Virol J. 2013;10:167.

Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particules in serum of patients with Australia antigen-associated hepatitis. Lancet 1970; 1:695-698.

Datta S, Chatterjee S, Veer V. Recent advances in molecular diagnostics of hepatitis B virus. World J Gastroenterol 2014; 20:

Dény P, Zoulim F. Hepatitis B virus: from diagnosis to treatment. Pathol Biol (Paris) 2010; 58: 245-253

De Paula et al., 2015. Manual de hepatites virais / Organização: Vanessa Salete de Paula, Marcelle Bottecchia, Livia Melo Villar, Vanessa Faria Cortes, Letícia de Paula Scalioni, Débora Lopes dos Santos, Marcia Terezinha Baroni, Rachid Saab Cunha, Tainá Pellegrino Martins. - 1. ed. - Rio de Janeiro: Rede Sirius; OUERJ, 2015. 215 p.

Drake A, Mijch A, Sasadeusz J. Immune reconstitution heepatitis in HIV and hepatitis B coinfection, despite lamivudine therapy as part of HAATR. Clinical Infectious Diseases, 2004 [S.I.], 62(10):129-132.

Dubuisson J, Cosset F-L. Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle – An update. Journal of Hepatology 2014 vol. 61 j S3–S13

Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. Clin Chem. 2000, 46: 2027-2049

Dufour DR, Talastas M, Fernandez MDA, Harris B. Chemiluminescence Assay Improves Specificity of Hepatitis C Antibody Detection. *Clinical Chemistry* 2003 49:6. 940–944.

Echeverría N, Moratorio G, Cristina J, Moreno P. Hepatitis C virus genetic variability and evolution. *World Journal of Hepatology*. 2015;7(6):831-845.

Edey M, Barraclough K, Johnson DW. Review article: Hepatitis B and dialysis. *Nephrology*. 2010; 15 (2): 137–145;

European Association for the Study of the Liver (EASL). EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2017a, 67(2):370-398

European Association for the Study of the Liver (EASL). EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2016. *Journal of Hepatology* 2017b, vol. 66:153–194

Fabrizi F, Dixit V, Messa P, Martin P. Transmission of hepatitis B virus in dialysis units: a systematic review of reports on outbreaks. *Int J Artif Organs* 2015; 38(1): 1-7

Fabrizi F, Messa P. Transmission of hepatitis C virus in dialysis units: a systematic review of reports on outbreaks. *Int J Artif Organs* 2015; 38(9): 471 - 480

Falson P, Bartosch B, Alsaleh K, Tews BA, Loquet A, Ciczora Y, Riva L, Montigny C, Montpellier C, Duverlie G, Pécheur EI, le Maire M, Cosset FL, Dubuisson J, Penin F. Hepatitis C Virus Envelope Glycoprotein E1 Forms trimers at the Surface of the Virion. *J Virol*. 2015 Oct; 89(20):10333-46. Epub 2015 Aug 5.

Farias NSI, Coelho DM, Oliveira UB, Binelli CA. Coinfecção pelos vírus das hepatites B ou C e da imunodeficiência adquirida: estudo exploratório no Estado de São Paulo, Brasil, 2007 a 2010. *Epidemiol Serv Saúde*. 2012;21(3): 475-486.

Fecury AA, Almeida MK, Santos KN, Freitas Ada S, Dantas Sde F, Costa CA, Crescente ÂB, Sousa RC, Brito EB, Nassiri R, Lampe E, Martins LC. Association between histological findings, aminotransferase levels and viral genotype in chronic hepatitis C infection. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014, 47:90-2.

Federici AB, Santagostino E, Rumi MG, Russo A, Mancuso ME, Soffredini R, Mannucci PM, Colombo M. The natural history of hepatitis C virus infection in Italian patients with Von Willebrand's disease: a cohort study. *Haematologica*. 2006, 91(4): 503-8.

Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV 1975. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 292:767-770.

Ferreira AA, Leite ICG, Bustamante-Teixeira MT, Guerra MR. Hemophilia A in Brazil: epidemiology and treatment developments. *J Blood Med*. 2014;5:175-84.

Ferreira MS. Diagnosis and treatment of hepatitis B. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000, vol.33 n.4.

Firdaus R, Saha K, Biswas A, Sadhukhan PC. Current molecular methods for the detection of hepatitis C virus in high risk group population: A systematic review. *World J Virol* 2015; 4(1): 25-32

Firdaus R, Saha K, Sadhukhan PC. Rapid immunoassay alone is insufficient for the detection of hepatitis C virus infection among high-risk population. *J Viral Hepat*. 2013;20(4):290-3.

Flores, G.L; Almeida, A.J; Miguel, J.C; Cruz, H.M; Portilho, M.M; Scalioni, L.P; Marques, V.A; Lewis-Ximenez, LL; Lampe, E; Villar, LM. A Cross Section Study to Determine the Prevalence of Antibodies against HIV Infection among Hepatitis B and C Infected Individuals. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2016; 13: 314.

Focaccia R. 2013. Tratado de hepatites virais e doenças associadas. 3. Ed. Editora Atheneu, São Paulo.

Focaccia R, da Conceição O, Sette H, Sabino E, Bassit L, Nitrini D, Lomar A, Lorenço R, Vieira de Souza F, Kiffer C, et al: Estimated Prevalence of Viral Hepatitis in the General Population of the Municipality of São Paulo, Measured by a Serologic Survey of a Stratified, Randomized and Residence-Based Population. *Braz J Infect Dis* 1998, 2(6):269–284.

Fonseca JCF. História natural da hepatite crônica B. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2007; 40(6):672-77.

Fonseca, JCF. Histórico das hepatites virais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2010, 43(3): 322-330.

Fontes EMA, Amorim L, Carvalho SM, Farah MB. Hemophilia care in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health. 2003;13(2/3).

Forster RJ, Bertoncillo P, Keyes TE. Electrogenated chemiluminescence. Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif) 2009; 2: 359-385

Franchini M, Nicolini N, Capra F. Treatment of Hepatitis C in Hemophiliacs. American Journal of Hematology 2006, 81:696–702

Franciscus A. Highleyman L. HCV Viral Load Tests. HCSP Fact Sheet, Sacramento, v. 5, p. 1-3, 2014.

Franco S, Tural C, Nevot M, Moltó J, Rockstroh JK, Clotet B, Martinez MA. Detection of a sexually transmitted hepatitis C virus protease inhibitor-resistance variant in a human immunodeficiency virus-infected homosexual man. Gastroenterology. 2014 Sep;147(3):599-601.e1.

Franzeck FC, Ngwale R, Msongole B, Hamisi M, Abdul O, Henning L, et al. Viral hepatitis and rapid diagnostic test based screening for HBsAg in HIV-infected patients in rural Tanzania. PLoS ONE. 2013;8(3):e58468.

Gadano A, Daruich J, Cheinquer H, et al. Latin American guideline for the management of chronic hepatitis B. Acta Gastroenterol Latinoam. 2011, 41, 340-50

Ganem D & Schneider RJ. 2001. Hepadnaviridae: the viruses and their replication, p. 2923-2969. In Knipe D M. & Howley PM. editores, Fields Virology, 4^a ed., v. 2. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.

Gardenal, R.V.C; Figueiró-Filho, E.A; Luft, J.L; de Paula, G,L.S.A; Vidal, F.G; Neto, P.T; Souza, R.A.A. Hepatite C e gestação: análise de fatores associados à

transmissão vertical. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 44(1):43-47, jan-fev, 2011

Geller R, Estada U, Peris JB, Andreu I, Bou J-V, Garijo R, Cuevas JM, Sabariegos R, Mas A, Sanjuán R. Highly heterogeneous mutation rates in the hepatitis C virus genome. *Nature Microbiology*. 2016, 1, 16045

Gentile I, Zappulo E, Buonomo AR, Borgia G. Prevention of mother-to-child transmission of hepatitis B virus and hepatitis C virus. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014 Jul; 12(7):775-82. Epub 2014 May 2

Gerlich, W.H. Medical Virology of Hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology Journal* 2013, 10:239.

Germer, J., Rys, P., Thorvilson, J., Persing, D. Determination of hepatitis C virus genotype by direct sequence analysis of products generated with the Amplicor HCV test. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, 37(8), 2625-2630.

Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. 2009. Diagnosis, Management and treatment of Hepatitis C: An Update. *Hepatology*. 1335-1374.

Gish RG, Locarnini SA. Chronic hepatitis B: current testing strategies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006 Jun;4(6):666-76.

Gorgos L. Sexual transmission of viral hepatitis. *Infect Dis Clin North Am*. 2013 Dec;27(4):811-36.

Gower, E.; Estes, C.; Blach, S.; Razavi-Shearer, K.; Razavi, H. (2014). Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*, 0168-8278(14)00526-1.

Grange RD, Thompson JP, Lambert DG. Radioimmunoassay, enzyme and non-enzyme-based immunoassays. *Br J Anaesth* 2014; 112: 213-216

Grassi G, Di Caprio G, Fimia GM, Ippolito G, Tripodi M, Alonzi T. Hepatitis C virus relies on lipoproteins for its life cycle. *World J Gastroenterol* 2016; 22(6): 1953-1965

Gretch DR. Use and interpretation of HCV diagnostic tests in the clinical setting. *Clin Liver Dis* 1997;1(3):543–557.

Hagan, L.M.; Schinazi, R.F. (2013). Best strategies for global HCV eradication. *Liver Int*, 33 Suppl 1:68-79.

Halle MP, Choukem SP, Kaze FF, Ashuntantang G, Tchamago V, Mboue-Djieka Y, et al. Hepatitis B, hepatitis C, and human immune deficiency virus seroconversion positivity rates and their potential risk factors among patients on maintenance hemodialysis in Cameroon. *Iran J Kidney Dis*. 2016;0(5):304-9.

Hoepers ATC. Hemofilia no estado de Santa Catarina: estudo clínico. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2008;30(2):172.

Hoffmann CJ, Dayal D, Cheyip M, McIntyre JA, Gray GE, Conway S, et al. Prevalence and associations with hepatitis B and hepatitis C infection among HIV-infected adults in South Africa. *Int J STD AIDS*. 2012;23(10):e10-e13.

Hollinger FB, Dolana G, Thomas W, Gyorkey F. Reduction in risk of hepatitis Transmission by heat-treatment of a human factor VIII concentrate. *J Infect Dis* 1984, 150:250-62.

Hollinger FB, Gitnick GL, Aach RD, Szmuness W, Mosley JW, Stevens CE, Peters RL, Weiner JM, Werch JB, Lander JJ. Non-A,non-B hepatitis transmission in chimpanzees: a project of the transfusion-transmitted viruses study group. *Intervirology* 1978,10:60-68.

Hollinger FB. The five viruses: a perspective. AASLD Postgraduate Course "Viral hepatitis A to F: An Update; 1994. p 2-20.

Hønge B, Jespersen S, Medina C, Té DS, da Silva ZJ, Østergaard L, Laursen AL, Wejse C, Krarup H and Erikstrup C for the Bissau HIV cohort study group. Hepatitis B virus surface antigen and antihepatitis C virus rapid tests underestimate hepatitis prevalence among HIV-infected patients. *HIV Med* 2014;15:571–6.

Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis. *Semin Liver Dis* 1991; 11: 73-83

Howard CR, Melnick JL. The classification and taxonomy of hepatitis viruses. *Rev Gastroenterol Peru.*, v.13, p.112-6, 1993.

Hu J, Liu K. Complete and incomplete hepatitis B virus particles: formation, function, and application. *Viruses*. 2017 Mar;9(3).pii: E56

Hussain Z. 2013. Genomic Heterogeneity of Hepatitis Viruses (A-E): Role in Clinical Implications and treatment, *Practical Management of Chronic Viral Hepatitis*, Prof. Gaetano Serviddio (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/55231.

Hwang E W; Cheung R. Global Epidemiology of Hepatitis B Virus (HBV) Infection. *North American Journal of Medicine and Science* 2011, 4 (1), 7-13.

ICTV - Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus. Flaviviridae, Flaviviridae Study Group, HCV Classification. Disponível em: https://talk.ictvonline.org/ictv_wikis/flaviviridae/w/sg_flavi/56/hcv-classification. Acessado em: 10/07/2017.

Ismail AM, Sivakumar J, Anantharam R, Dayalan S, Samuel P, Fletcher GJ, Gnanamony M, Abraham P. Performance characteristics and comparison of Abbott and artus real-time systems for hepatitis B virus DNA quantification. *Journal of clinical microbiology*, [S.l.], v. 49, n. 9, p. 3215-21, set. 2011.

Jang TY, Lin PC, Huang CI, Liao YM, Yeh ML, Zeng YS, et al. Seroprevalence and clinical characteristics of viral hepatitis in transfusion-dependent thalassemia and hemophilia patients. *PLoS ONE*. 2017 Jun;12(6):e0178883.

Joshi D, O'Grady J, Dieterich D, Gazzard B, Agarwal K. Increasing burden of liver disease in patients with HIV infection. *Lancet* 2011;377:1198e209.

Juszczyk J. 2000. Clinical course and consequences of hepatitis B infection. *Vaccine* 18(1): 23-25.

Kalantar-Zadeh K, Miller LG, Daar ES. Diagnostic discordance for hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2005;46(2):290-300.

Kalinowski P. Understanding confidence intervals (CIs) and effect size estimation. *Association for Psychological Science*; 2010[acesso em 10 jul 2017]. Disponível em: <http://www.psychologicalscience.org/observer/understanding-confidence-intervals-cis-and-effect-size-estimation#.WWd96ITyvIV>.

Kamal SM, Kassim SK, Ahmed AI, Mahmoud S, Bahnasy KA, Hafez TA, et al. Host and viral determinants of the outcome of exposure to HCV infection genotype 4: a large longitudinal study. *Am J Gastroenterol* 2014;109:199–211.

Kao JH. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 553-562

Kao JH. Molecular epidemiology of hepatitis B virus. *Korean J Intern Med.* 2011 Sep;26(3):255-61

Kapembwa KC, Goldman JD, Lakhi SY, Bowa K, Vermund SH, Mulenga J, et al. HIV, hepatitis B, and hepatitis C in Zambia. *J. Glob. Infect. Dis.* 2011;3:269-74.

Kay A, Zoulim F. Hepatitis B virus genetic variability and evolution. *Virus Res.* 2007, 127, 164-76.

Khan AG, Miller MT, Marcotrigiano J. HCV glycoprotein structures: what to expect from the unexpected. *Curr Opin Virol.* 2015 Jun; 12:53-8. Epub 2015 Mar 16.

Khuroo MS, Khuroo NS, Khuroo MS. Accuracy of Rapid Point-of-Care Diagnostic Tests for Hepatitis B Surface Antigen - A Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Exp Hepatol.* 2014; 4(3): 226–240.

Khuroo MS, Khuroo NS, Khuroo MS. Diagnostic Accuracy of Point-of-Care Tests for Hepatitis C Virus Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015; 10(3): e0121450.

Kim CW, Chang K-M. Hepatitis C virus: virology and life cycle. *Clin Mol Hepatol.* 2013 Mar; 19(1): 17–25.

Kim H, Lee SA, Kim BJ. X region mutations of hepatitis B virus related to clinical severity. *World J Gastroenterol.* 2016 Jun; 22(24): 5467-78

Kim JH, Park YK, Park ES, Kim KH. Molecular diagnosis and treatment of drug-resistant hepatitis B virus. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 5708-5720

Kim MH, Kang SY, Lee WI. Evaluation of a new rapid test kit to detect hepatitis C virus infection. *J Virol Methods.* 2013; 193(2):379-82

Kim MH, Kang SY, Lee WI. Evaluation of a new rapid test kit to detect hepatitis C virus infection. *J Virol Methods*. 2013;193(2):379-82.

Klebens, R.M.; HU, D.J.; Jiles, R.; Holmberg, S.D. (2012). Evolving epidemiology of hepatitis C virus in the United States. *Clin Infect Dis*, 55 Suppl 1:S3-9.

Konopnicki D, Mocroft A, de Wit S, et al. Hepatitis B and HIV: prevalence, AIDS progression, response to highly active antiretroviral therapy and increased mortality in the EuroSIDA cohort. *AIDS* 2005;19:593e601.

Kretzer IF, Livramento A, Cunha J, Gonçalves S, Tosin I, Spada C, Treitinger A. Hepatitis C Worldwide and in Brazil: Silent Epidemic—Data on Disease including Incidence. Transmission. Prevention. and treatment. *The Scientific World Journal*. 2014:10.

Kucharska M, Ingot M, Szymczak A, Rymer W, Zalewska M, Malyszczak K, et al. Co-infection of the hepatitis C virus with other blood-borne and hepatotropic viruses among hemophilia patients in Poland. *Hepat Mon*. 2016;16(9):e35658.

Kupek E, Oliveira JF. Transmissão vertical do HIV, da sífilis e da hepatite B no município de maior incidência de AIDS no Brasil: um estudo populacional no período de 2002 a 2007. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 2012,15(3): 478-487.

Lacombe K, Rockstroh J. HIV and viral hepatitis coinfections: advances and challenges. *Gut*. 2012;61(Suppl 1):i47-i58.

Lambert N. 2007. Value of HCV antigen-antibody combined HCV assay in hepatitis C diagnosis. *Dev Biol (Basel)* 127:113-21.

Lampe E, Lewis-Ximenez LL, Espírito-Santo MP, Ramos NMD, Pereira SA, Silva AP, Martins RM, Soares MA, Santos AF, Vidal LL, Germano FN, de Martinez AM, Basso R, Pinho JR, Malta FM, Gomes-Gouvêa M, Moliterno RA, Bertolini DA, Fujishima MA, Bello G. Genetic diversity of HCV in Brazil. *Antivir Ther*. 2013,18: 435-444.

Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat*. 2004, 11:97-107.

Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int* 2009; 29Suppl 1: 74-81

Lavie M, Sarrazin S, Montserret R, Descamps V, Baumert TF, Duverlie G, Séron K, Penin F, Dubuisson J. Identification of conserved residues in hepatitis C virus envelope glycoprotein E2 that modulate virus dependence on CD81 and SRB1 entry factors. *J Virol*. 2014 Sep; 88(18):10584-97. Epub 2014 Jul 2.

Leão JR, Pace FHL, Chebli JMF. Infecção pelo vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise: prevalência e fatores de risco. *Arq Gastroenterol*. 2010;47:28-34.

Lee J. A brief clinical update on hepatitis C – the essentials. *Wis Med J* 2015; 114: 263–9.

Lee J-H, Kim HY, Kim YJ, Yoon J-H, Chung JW. Barcelona Clinic Liver Cancer staging system and survival of untreated hepatocellular carcinoma in a hepatitis B virus endemic area. *J Gastroenterol Hepatol*. 2015;30(4):696-705.

Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011 Jan;26 Suppl 1:123-30

Lindenberg A de SC, Motta-Castro ARC, Puga MA, Tanaka TSO, Torres MS, Fernandes-Fitts SM, Cunha RV. 2013. Decrease in hepatitis B prevalence among blood donors in Central-West Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis*. 2013, vol.19:1-7.

Lins L, Almeida H, Vitvisk L, Carmo T, Paraná R, Reis MG. Detection of hepatitis C virus RNA in saliva is not related to oral health status or viral load. *J Med Virol*. 2005 Oct;77(2):216-20.

Littlejohn M, Locarnini S, Yuen L. Origins and evolution of hepatitis B virus and hepatitis D virus. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016 Jan;6(1):a021360

Locarnini S. Molecular virology of hepatitis B virus. *Semin Liver Dis*. 2004;24 Suppl

Lok ASF, Gunaratnam NT. Diagnosis of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26(3 Suppl 1): 48S–56S.

Lok ASF, McMahon BJ. AASLD practice guideline update: chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology*, 2009 [S.I.], 50(3): 661-662.

Lok ASF, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2001, 34(6):1225-41

Lok ASF. Hepatitis B: 50 years after the discovery of Australia antigen. *J Viral Hepat*. 2016 Aug;23:5-14

Lopez-Serrano, P. et al. Hepatitis B and immunosuppressive therapies for chronic inflammatory diseases: when and how to apply prophylaxis, with a special focus on corticosteroid therapy. *World Journal of Hepatology*, 2001, 7(3): 539-547.

Maccallum FO, Bauer DJ. 1944. Homologous serum jaundice transmission experiments with human volunteers. *The Lancet*. 243(6298):622 – 627.

Maccallum FO. Transmission of arsenotherapy jaundice by blood: failure with faeces and naso-pharyngeal washings. *The Lancet*. 1945: 342

Maia LPV, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, Speziali E, Vermhren R, Lira EF, Lima TA, Braga WS, Torres KL, Malheiro A.. Hepatitis C virus screening and clinical monitoring of biomarkers in patients undergoing hemodialysis. *Journal of Medical Virology*, 2009, v.81:1220-31.

Maylin S, Boyd A, Delaugerre C, Zoulim F, Lavocat F, Simon F, Girard PM, Lacombe K. Comparison between Elecsys HBsAg II and architect HBsAg QT assays for quantification of hepatitis B surface antigen among patients coinfecting with HIV and hepatitis B virus. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19: 242-248.

Makris M, Konkle BA. Hepatitis C in haemophilia: time for treatment for all. *Haemophilia*. 2017;23:180-1.

Mannucci PM, Tuddenham EGD. The hemophiliac – from royal genes to gene therapy. *N Engl J Med*. 2001, 344(23),1773-9.

Marinaki S, Boletis JN, Sakellariou S, Delladetsima IK. Hepatitis C in hemodialysis patients. *World Journal of Hepatology*. 2015;7(3):548-558.

Marinaki S, Boletis JN, Sakellariou S, Delladetsima IK. Hepatitis C in hemodialysis patients. *World J Hepatol*. 2015;7(3):548-58.

Marques JA, De Paula VS, Villar LM. Hepatite B em indivíduos da região norte do Estado do Rio de Janeiro. *Newslab*. 2011;106:170-5.

Marquesini G, Gonçalves NSL, Gonçalves Júnior FL. Prevalência dos marcadores sorológicos dos vírus da hepatite B (VHB) e da hepatite C (VHC) em hemodialisados. *Rev Panam Infectol.* 2008;10(2):23-7.

Martins, T.; Narciso-Schiavon, J.L.; Schiavon, L. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. *Rev Assoc Med Bras,* 2011, 57:107-112.

Matthews PC, Geretti AM, Goulder PJ, Klenerman P. Epidemiology and impact of HIV coinfection with hepatitis B and hepatitis C viruses in sub-Saharan Africa. *J Clin Virol.* 2014, 61(1):20–33

Mavilia MG, Wu GY. Mechanisms and Prevention of Vertical transmission in Chronic Viral Hepatitis. *J Clin transl Hepatol.* 2017 Jun 28;5(2):119-129.

Mcintyre N. (1990). Clinical presentation of acute viral hepatitis. *Br Med Bull* 46:535-547.

Medeiros MTG, Lima JMC, Lima JWO, Medeiros MMC, Coelho-Filho JMC. Prevalence and associated factors to hepatitis C in hemodialysis patients in Brazil. *Rev Saúde Pública.* 2004;38(2):187-93.

Mello FC, Souto FJ, Nabuco LC, Villela-Nogueira CA, Coelho HS, Franz HC, Saraiva JC, Virgolino HA, Motta-Castro AR, Melo MM, Martins RM, Gomes SA. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. *BMC Microbiol.* 2007, 7:103

Melo LV, Silva MA, Perdoná GS, Nascimento MM, Secaf M, Monteiro RA, et al. Epidemiological study of hepatitis B and C in a municipality with rural characteristics: Cássia dos Coqueiros, State of São Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2015 Nov-Dec;48(6):674-81.

Modi AA, Feld JJ. Viral hepatitis and HIV in Africa. *AIDS Rev* 2007;9:25e39.

Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology* 2013; 57:1333-1342

Moradpour D, Penin F. Hepatitis C virus proteins: From structure to function. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2013;369:113–142

Moreira RC, Deguti MM, Lemos MF, Saraceni CP, Oba IT, Spina AMM, et al. HBV markers in haemodialysis Brazilian patients: a prospective 12-month follow-up. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2010;105:107-8.

Morris CJ, Hill M, Medina M, Herman C, Cloherty GA, Martin P. Comparison of detection and quantification of HBV DNA in chronic HBeAg negative and positive patients by Abbott RealTime HBV and Roche Cobas TaqMan HBV assays. *J Virol Methods*. 2013 Nov;193(2):391-3.

Moscato GA, Giannelli G, Grandi B, Pieri D, Marsi O, Guarducci I, Batini I, Altomare E, Antonaci S, Capria A, Pellegrini G, Sacco R. Quantitative determination of hepatitis C core antigen in therapy monitoring for chronic hepatitis C. *Intervirology* 2011; 54: 61-65

Nassal M. HBV cccDNA: viral persistence reservoir and key obstacle for a cure of chronic hepatitis B. *Gut*. 2015 Dec;64(12):1972-84.

Oliveira SB, Merchán-Hamann E, Amorim LDAF. HIV/AIDS coinfection with the hepatitis B and C viruses in Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 2014;30:433-8.

PAHO. 28 de Julho - Dia Mundial das Hepatites Virais. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=4672:28-de-julho-dia-mundial-das-hepatites-virais&Itemid=812. Acessado em 30/04/2017.

Park Y, Lee JH, Kim BS, Kim do Y, Han KH, Kim HS. New automated hepatitis C virus (HCV) core antigen assay as an alternative to real-time PCR for HCV RNA quantification. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 2253-2256

Pawlotsky, J. M. Use and interpretation of virological testes for hepatitis C. *HEPATOLOGY*, Vol. 36, No. 5, Suppl. 1, 2002

Pereira LMMB, Martelli CMT, Merchán-Hamann E, Montarroyos UR, Braga MC, Lima MLC, Cardoso MR, Turchi MD, Costa MA, de Alencar LC, Moreira RC, Figueiredo GM, Ximenes RA; Hepatitis Study Group. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2009;81:240-7.

Pereira LMMB, Martelli CMT, Moreira RC, Merchán-Hamann E, Stein AT, Cardoso MRA, Figueiredo GM, Montarroyos UR, Braga C, Turchi MD, Coral G, Crespo D, Lima MLC, Alencar LCA, Costa M, Santos AA, Ximenes RAA. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in Brazil. 2005 through 2009: a cross-sectional study. *BMC Infect. Dis.* 2013;13:60.

Perkins JA. 2002. Medical and Scientific illustrations. Disponível em: <http://people.rit.edu/japfaa/infectious.html>.

Perone C; Del Castillo DM; Pereira GL; Carvalho NO; Januário JN; Teixeira R. High prevalence of genotype 1 in individuals with hepatitis C in Belo Horizonte, MG. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008, 41(3), 238-42.

Petruzziello A, Coppola N, Loquercio G, Marigliano S, Giordano M, Azzaro R, Diodato AM, Iervolino V, Di Costanzo G, Di Macchia CA, Di Meo T, Paradiso L, Ferro R, Giuliano P, Russo F, Pasquale G, Cacciapuoti C. Distribution pattern of hepatitis C virus genotypes and correlation with viral load and risk factors in chronic positive patients. *Intervirology* 2014; 57: 311-318

Petruzziello A, Marigliano S, Loquercio G, Cozzolino A, Cacciapuoti C. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. *World Journal of Gastroenterology.* 2016;22(34):7824-7840.

Petry A, Kupek EJ. Effectiveness of recombinant DNA vaccines against hepatitis B in blood donors in an endemic region of South Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 39: 462-466

Phung B-C, Sogni P, Launay O. Hepatitis B and human immunodeficiency virus co-infection. *World J Gastroenterol.* 2014;20(46):17360-7.

Pimentel JPD. 2009. Hepatite C em pacientes hemofílicos: perfil imunológico e caracterização dos diferentes genótipos virais. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM. 86p

Pinto FP, Ferreira OC Jr, Olmedo DB, Precioso PM, Barquette FR, Castilho MC, Silva SG, Pôrto LC. Prevalence of hepatitis B and C markers in a population of an urban university in Rio de Janeiro, Brazil: a cross-sectional study. *Ann Hepatol.* 2015 Nov-Dec;14(6):815-25.

Platt L, Easterbrook P, Gower E, McDonald B, Sabin K, McGowan C, Yanny I, Razavi H, Vickerman P. Prevalence and burden of HCV co-infection in people living with HIV: a global systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2016 Jul;16(7):797-808.

Plauzolles A, Lucas M, Gaudieri S. Hepatitis C Virus Adaptation to T-Cell Immune Pressure. *The Scientific World Journal.* 2013, Article ID 673240, 7 pages.

Pol, S., Vallet-Pichard, A., & Corouge, M. (2014, February). treatment of hepatitis C virus genotype 3-infection. *Liver International*, 34(Suppl. 1), 18-23.

Qurishi N, Kreuzberg C, Luchters G, Effenberger W, Kupfer B, Sauerbruch T, Rockstroh JK, Spengler U. Effect of antiretroviral therapy on liver-related mortality in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection. *Lancet* 2003, 362:1708e13.

Raboni SM, Tuon FF, Beloto NCP, Demeneck H, Oliveira A, Largura D, et al. Human immunodeficiency virus and hepatitis C virus/hepatitis B virus co-infection in Southern Brazil: clinical and epidemiological evaluation. *Braz J Infect Dis.* 2014;18(6):664-8.

Randrianirina F, Carod JF, Ratsima E, Chrétien JB, Richard V, Talarmin A. Evaluation of the performance of four rapid tests for detection of hepatitis B surface antigen in Antananarivo. Madagascar. *J Virol Methods.* 2008;151(2):294-7.

Rezende SM, Pinheiro K, Caram C, Genovez G, Barca D. Registry of inherited coagulopathies in Brazil: first report. *Haemophilia.* 2009;15(1):142-9.

Richter SS. Laboratory Assays for Diagnosis and Management of Hepatitis C

Rockstroh JK, Spengler U. HIV and hepatitis C virus coinfection. *Lancet Infect Dis* 2004;4:437e44.

Rosa L, Dantas-Corrêa EB, Narciso-Schiavon JL, Schiavon LD. Diagnostic performance of two point-of-care tests for anti-HCV detection. *Hepat Mon.* 2013;13:9.

Ross RS, Stambouli O, Gruner N, Marcus U, Cai W, Zhang W, et al. Detection of infections with hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus by analyses of dried blood spots-performance characteristics of the ARCHITECT system and two commercial assays for nucleic acid amplification. *Virology* 2015;10:1.

Safety and Efficacy of Sofosbuvir-Containing Regimens in Hepatitis C Infected Patients with Reduced Renal Function: Real-World Experience from HCV-Target. Retrieved June 11, 2015, from Conference Reports for NaTaP: http://www.natap.org/2015/EASL/EASL_115.htm

Santos MAM, Souto FJD. 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.* 2007;7:32.

Sasaki L, Bertolini DA, Arraes SMAA. Soroprevalência da hepatite C em pacientes sob tratamento de diálise da região de Toledo, Paraná. *Arq Mudi.* 2006;10(3):5-9.

Saxena V, Korashy F, Sise M, Lim J, Chung R, Liapakis A, Nelson DR, Schmidt M, Fried MW, Terrault N, HCV-TARGET. Safety and Efficacy of Sofosbuvir-Containing Regimens in Hepatitis C Infected Patients with Reduced Renal Function: Real-World Experience from HCV-Target. *Liver Int.* 2015, Volume 62, Supplement 2, Page S267.

Scalioni LP, Cruz HM, Paula VS, Miguel JC, Marques VA, Villela-Nogueira CA, Milagres FA, Cruz MS, Bastos FI, Andrade TM, Motta-Castro AR, Lewis-Ximenez LL, Lampe E, Villar LM. Performance of rapid hepatitis C virus antibody assays among high- and low-risk populations. *J Clin Virol.* 2014;60(3):200-5.

Schaefer EAK, Dienstag JL. Viral Hepatitis. *ACP Medicine.* 2012.

Sesso RC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Martins CT. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2014. J. Bras. Nefrol. 2016;

Sesso RC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Santos DR. Brazilian chronic dialysis survey 2013: trend analysis between 2011 and 2013. J Bras Nefrol. 2014;36(4):476-81.

Sharif MR, Chitsazian Z, Moosavian M, Raygan F, Nikoueinejad H, Sharif AR, Einollahi B. Immune Disorders in Hemodialysis Patients. IJKD 2015, 9:84-96

Sharma M, Al Kaabi S, John AK, Al Dweik N, Ullah Wani H, Babu Thandassary, et al. Screening for hepatitis C in average and high-risk populations of Qatar using rapid point-of-care testing. United European Gastroenterol J. 2015;3(4):364-70.

Shi W, Zhang Z, Ling C, Zheng W, Zhu C, Carr MJ, Higgins DG. Hepatitis B virus subgenotyping: history, effects of recombination, misclassifications, and corrections. Infect Genet Evol 2013; 16: 355-361

Shivkumar S, Peeling R, Jafari Y, Joseph L, Pant Pai N 2012. Accuracy of Rapid and Point-of-Care Screening Tests for Hepatitis C A Systematic Review and meta-analysis. Ann Intern Med. 157:558-566.

Silva CRN, Santos EL, Souza LA. Manual de treinamento para teste rápido hepatites B (HBsAg) e C (anti-HCV). Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2011 [acesso em 15 jul 2017]. Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/page/2012/50770/manual_para_capacitacao_de_tr_para_as_hepatites_b__17745.pdf.

Silva LK, Silva MBS, Lopes GB, Rodart IF, Costa FQ, Santana NP, et al. Prevalence of hepatitis C virus infection and HCV genotypes among hemophiliacs in the State of Bahia, Northeastern Brazil: analysis of serological and virological parameters. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2005;38(6):496-502.

Simmonds, P, Holmes, E. C, Cha, T. A, et al. (1993). Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. J Gen Virol 74, 2391-2399

Simmonds, P., Becher, P., Bukh, J., Gould, E.A., Meyers, G., Monath, T., Muerhoff, S., Pletnev, A., Rico-Hesse, R., Smith, D.B. and Stapleton, J.T., 2017. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Flaviviridae*. *Journal of General Virology*, 98(1), pp.2-3.

Singh KP, Crane M, Audsley J, Lewin SR. HIV-hepatitis B virus co-infection: epidemiology, pathogenesis, and Treatment. *AIDS*. 2017 Jul 7.

Smith BD, Drobeniuc J, Jewett A, Branson BM, Garfein RS, Teshale E, et al.. Evaluation of three rapid screening assays for detection of antibodies to hepatitis C virus. *J Infect Dis*. 2011;204(6):825-31.

Smith DB, Becher P, Bukh J, Gould EA, Meyers G, Monath T, Muerhoff AS, Pletnev A, Rico-Hesse R, Stapleton JT, Simmonds P. Proposed update to the taxonomy of the genera Hepacivirus and Pegivirus within the Flaviviridae family. *J Gen Virol*. 2016 Nov;97(11):2894-2907.

Soriano V, Mocroft A, Peters L, et al. Predictors of hepatitis B virus genotype and viraemia in HIV-infected patients with chronic hepatitis B in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:548e55.

Soriano V, Mocroft A, Rockstroh J, et al. Spontaneous viral clearance, viral load, and genotype distribution of hepatitis C virus (HCV) in HIV-infected patients with anti-HCV antibodies in Europe. *J Infect Dis* 2008;198:1337e44

Souto FJD, Ribeiro LC, Perazolo GF, Fortes HM, Saldanha AA. Imunoblot como teste suplementar para detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C em doadores de sangue. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 2002, vol.35, n.1, pp. 69-71. ISSN 0037-8682.

Souto, FJD. 1999. Distribuição da hepatite B no Brasil: atualização do mapa epidemiológico e proposições para seu controle. *GED gastroenterol. endosc. DIG* 18(4): 143-150.

Strauss E. Hepatite C. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001; Jan-Feb;34:69-82.

Stumpf MP, Pybus OG. Genetic diversity and models of viral evolution for the hepatitis C virus. *FEMS Microbiol Lett*. 2002, 214:143-52.

Sulkowski, M., Gardiner, D., Rodriguez-Torres, M., Reddy, K., Hassanein, T., Jacobson, I., et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *The New England Journal of Medicine*. 2014, 370(3), 211-21.

Sun HY; Sheng WH; Tsai MS; Lee KY; Chang SY; Hung CC. Hepatitis B virus coinfection in human immunodeficiency virus infected patients: a review. *World J Gastroenterol*. 2014, 28;20(40):14598-14614.

Sunbul M. Hepatitis B virus genotypes: Global distribution and clinical importance. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2014;20(18):5427-5434. doi:10.3748/wjg.v20.i18.5427.

Tabor E, Gerety RJ, Drucker JA, Seeff LB, Hoofnagle JH, Jackson DR, April M, Barker LF, Pineda-Tamondong G 1978. Transmission of non-A, non-B hepatitis from man to chimpanzee. *Lancet* 1:463-465.

Tagny CT, Mbanya D, Murphy EL, Lefrère JJ, Laperche S. Screening for hepatitis C virus infection in a high prevalence country by an antigen/antibody combination assay versus a rapid test. *J Virol Methods* 2014; 199: 119-123

Takahashi T, Nakagawa S, Hashimoto T, Takahashi K, Imai M. Large-scale isolation of Dane particles from plasma containing hepatitis B antigen and demonstration of circular double-stranded DNA molecule extruding directly from their core. *J Immunol* 1976; 117: 1392-1397.

Tan ZM, Sun BC. Effects of antiviral therapy on preventing liver tumorigenesis and hepatocellular carcinoma recurrence. *World Journal of Gastroenterology*, [S.I.], v. 19, n. 47, p. 8895-8901, 21 Dec. 2013.

Tauil MC et al. Mortalidade por Hepatite B no Brasil. *Cad Saúde Pública do Rio de Janeiro*. 2012; 28(3):472-78.

Távora LGF, Hyppolito EB, Cruz JNM, Portela NMB, Pereira SM, Veras CM. Hepatitis B, C and HIV co-infections seroprevalence in a Northeast Brazilian center. *Arq Gastroenterol*. 2013;50(4):277-80.

Teles SA. Viral hepatitis: a challenge for nursing. *Rev Bras Enferm*. 2017;70(2):231-2.

Tellinghusein TL, Evans MJ, Hahn T 2007. Studying hepatitis C virus: making the best of a bad virus. *J Virol* 81:8853-8867.

Tong S, Revill P. Overview of hepatitis B viral replication and genetic variability. *J Hepatol*. 2016 Apr;64(1 Suppl):S4-16.

Tong, X.; Bogen, S.; Chase, R.; et al. (2008). Characterization of resistance mutations against HCV ketoamide protease inhibitors. *Antiviral Research*, 77:177-185

Tovo PA, Calitri C, Scolfaro C, Gabiano C, Garazzino S. Vertically acquired hepatitis C virus infection: Correlates of transmission and disease progression. *World J Gastroenterol*. 2016 Jan 28;22(4):1382-92.

Trépo C, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection. *The Lancet* , 384 (9959): 2053 - 2063

Utsumi T, Lusida MI. Viral hepatitis and human immunodeficiency virus co-infections in Asia. *World J Virol* 2015; 4(2): 96-104

Uyttendaele S, Claeys H, Mertens W, Verhaert H, Vermeylen C. Evaluation of third-generation screening and confirmatory assays for HCV antibodies. *Vox Sang.*, v.66, p.122-129, 1994.

Viana S. 2005. High prevalence of hepatitis B virus and hepatitis D virus in the Western Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg* 73(4): 808-814.

Vieira DS; Alvarado-Mora MV; Botelho L; Carrilho FJ; Pinho JR; Salcedo JM. Distribution of hepatitis c virus (HCV) genotypes in patients with chronic infection from Rondônia, Brazil. *Virol J*. 2011, 12 (8), 165.

Villar LM, Amado LA, de Almeida AJ, de Paula VS, Lewis-Ximenez LL, Lampe E. Low prevalence of hepatitis B and C virus markers among children and adolescents. *Biomed Res Int*. 2014a: 324638.

Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, Bezerra CS, Portilho MM, Scalion LP. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World J Virol*. 2015a;4(4):323-42.

Villar LM, Souza NP, Moimaz SAS, Garbin AJI, Borges AS, Garbin CA. Epidemiological profile of Hepatitis C virus infection in patients from West Region of Minas Gerais State, Brazil. *Biosci J. (Online)* 2015b;31:643-7.

Villar LM; de Paula VS; Almeida AJ; do Ó KMR; Miguel JC; Lampe E. Knowledge and Prevalence of Viral Hepatitis Among Beauticians. *Journal of Medical Virology* 2014b, 86,1515–1521

Weber B. Recent developments in the diagnosis and monitoring of HBV infection and role of the genetic variability of the S gene. *Expert Rev Mol Diagn* 2005; 5: 75-91

Wei C, Ni C, Song T, Liu Y, Yang X, Zheng Z, Jia Y, Yuan Y, Guan K, Xu Y, Cheng X, Zhang Y, Yang X, Wang Y, Wen C, Wu Q, Shi W, Zhong H. The hepatitis B virus X protein disrupts innate immunity by downregulating mitochondrial antiviral signaling protein. *J Immunol.* 2010 Jul 15;185(2):1158-68.

Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *Journal of Hepatology* 2014 vol. 61 j S58–S68

Wong PN, Fung TT, Mak SK, Lo KY, Tong GM, Wong Y, Loo CK, Lam EK, Wong AK. Hepatitis B virus infection in dialysis patients. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005 Nov 20(11):1641-51.

World Health Organization - WHO. Media centre. Hepatitis B and C. Fact sheets. Updated July 2017a. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/en/>. Acessado em 23.07.2017.

World Health Organization - WHO. HIV and hepatitis coinfections. 2017b. Disponível em: <http://www.who.int/hiv/topics/hepatitis/hepatitisinfo/en/> Acessado em 21.06.2017.

World Health Organization (WHO). Guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017c.

World Health Organization (WHO). Global hepatitis report, 2017d.

World Health Organization - WHO. Prevention and control of viral hepatitis infection: framework for global action. Geneva, WHO, 2012. Disponível em: <http://www.who.int/hepatitis/publications/Framework/en/>. Acessado em: 10.10.2016.

Ximenes RA, Figueiredo GM, Cardoso MR, Stein AT, Moreira RC, Coral G, et al. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factors in the north, south, and southeast regions of Brazil – 10-20 years after the beginning of vaccination. *Am J Trop Med Hyg.* 2015;93:1341-8.

Xu W, Li Y, Wang M, Gu J. Comparison of two immunoassays for determining hepatitis B virus serum markers. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50: 153-157.

Yoshida CFT, Gaspar AMC, Lewis-Ximenes LL, Oliveira JM. Hepatites de transmissão parenteral B, Delta e C. In: Coura JR, organizador. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2005. p. 1725-34.

Zambonato TK, Thomé FS, Gonçalves LFS. Socioeconomic status of patients with end-stage renal disease on dialysis in northwestern Rio Grande do Sul-Brazil. *J Bras Nefrol.* 2008;30(3):192-9.

Zanetti AR, Romanò L, Brunetto M, Colombo M, Bellati G, Tackney C. Total HCV core antigen assay: a new marker of hepatitis C viremia for monitoring the progress of therapy. *J Med Virol* 2003; 70: 27-30

Zatti C A; Ascari R A; Brum M L B; Zanotelli S S. Hepatite B: conhecendo a realidade brasileira. *Braz. J. Surg. Clin. Res.* 2013, 4 (1), 05-11.

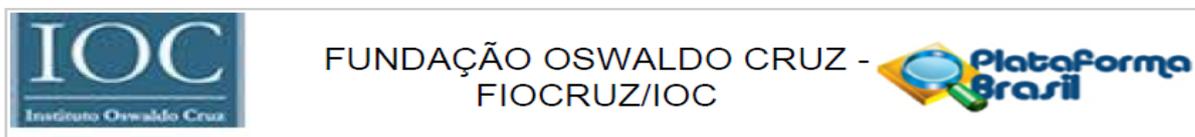
Zeisel MB, Fofana I, Fafi-Kremer S, Baumert TF. Hepatitis C virus entry into hepatocytes: molecular mechanisms and targets for antiviral therapies. *J Hepatol*, v. 54, n. 3, p. 566-76, Mar 2011.

Zhang, Q; Cao, G. Genotypes, mutations, and viral load of hepatitis B virus and the risk of hepatocellular carcinoma. *Hepat Mon.* 2011; 11(2):86-91

Ziaee M, Namaei MH, Azarkar G. The prevalence of HTLV-1 and its Co-Infection with HCV, HBV and HIV in Hemophilic patients. *Pak J Med Sci.* 2015;31(5):1246-9.

11 ANEXOS

11.1 Anexo1: Aprovação do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DE TESTES RÁPIDOS PARA O DIAGNÓSTICO DE MARCADORES DAS INFECÇÕES PELOS VÍRUS DAS HEPATITES B E C

Pesquisador: LIVIA MELO VILLAR

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 34049514.7.0000.5248

Instituição Proponente: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 889.606

Data da Relatoria: 17/11/2014

Apresentação do Projeto:

A pesquisadora principal apresenta as vantagens e a necessidade de se ter testes rápidos de diagnóstico para triagem de indivíduos infectados, principalmente em condições urgentes, tais como pacientes que necessitam de hemodiálise imediata e quando o status da infecção pelo HBV ou HCV é desconhecido ou para início de medidas pós exposição em profissionais de saúde envolvidos em acidentes biológicos com material desconhecido. Informa que antes de implementar um teste rápido como ferramenta de triagem, devem ser avaliados os valores de sensibilidade e especificidade do teste de acordo com o teste padrão para diminuir a possibilidade de resultados falso positivos ou falso negativos. Para Tanto, é proposto a validação de procedimentos diagnósticos envolvendo testes rápidos de diagnóstico das hepatites B e C para fins de estudos epidemiológicos de campo.

Neste estudo, os pesquisadores pretendem estabelecer os padrões necessários para a avaliação da performance dos testes rápidos, mediante a confecção de painéis de referência composta por amostras positivas e negativas para o HBsAg e HCV, caracterizadas frente a testes de diagnóstico disponíveis comercialmente (ELISA, MEIA e Quimioluminescencia); avaliar parâmetros relacionados com a acurácia do teste como a sensibilidade, especificidade, bem como os valores preditivo positivo e preditivo negativo de testes rápidos de diferentes fabricantes; avaliar o uso de fluidos

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 889.606

alternativos (saliva e sangue coletado em papel de filtro) em testes rápidos de diagnóstico para hepatite B e C; avaliar os parâmetros relacionados com a precisão do teste como a repetibilidade e reprodutibilidade intermediária; avaliar a reação cruzada dos testes rápidos para hepatite B e C em amostras de soro com outras infecções presentes; e avaliar a eficiência dos testes rápidos em diferentes populações.

Os voluntários dessa pesquisa serão recrutados nos seguintes locais: 300 indivíduos atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais; 300 indivíduos atendidos no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (UFRJ/RJ); 500 indivíduos atendidos no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA); 250 indivíduos atendidos no Hospital da Unimed (PETROPOLIS/RJ); 300 indivíduos residentes em Mato Grosso do Sul; 100 indivíduos residentes no Norte Fluminense do Rio de Janeiro; 300 profissionais de beleza do Rio de Janeiro; 200 pacientes do Instituto de Psiquiatria do Rio de Janeiro; 1500 Indivíduos residentes no Município de Tocantinópolis; 500 Indivíduos residentes no Município de Teresina (Piauí); 200 Indivíduos atendidos no HGNI (Nova Iguaçu, Rio de Janeiro); 200 Indivíduos atendidos no HGB (Bonsucesso, Rio de Janeiro); 200 Indivíduos atendidos no HUGG (UNIRIO); 200 Indivíduos atendidos no HUAP/UFF (UFF); 200 Indivíduos atendidos no Serviço de diálise/hemodiálise do Hospital Universitário Walter Cantídio; 200 Indivíduos atendidos no Ambulatório de hemofilia do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE); 200 Indivíduos atendidos no Núcleo de Atenção Médica Integrada NAMI UNIFOR; 200 Indivíduos atendidos no Instituto de Nefrologia de Queimados (INQUE); 200 Indivíduos atendidos no Centro de Doenças Renais (Rio de Janeiro). As amostras de sangue serão coletadas de cada participante e o soro obtido será acondicionado em um microtubo previamente identificado com o número de registro e armazenado à temperatura de -20.°C até a realização das análises. As amostras de saliva serão coletadas por quatro métodos e armazenadas a -20°C até a realização dos testes. As amostras de SSPF serão coletadas por punção digital com lanceta e aplicadas em papel de filtro Whatmann 903. As amostras de soro serão submetidas a detecção dos marcadores HBsAg, anti- HBc total, anti-HBc IgM, anti-HBs, HBeAg, anti- HBe e anti-HCV por ELISA comercial (Diasorin, Itália). As amostras de soro HBsAg e anti-HCV reagentes também serão submetidas a testes moleculares para detecção e quantificação do genoma viral, pelo teste comercial Cobas Taqman HBV test, v.2.0 (Roche Diagnostics) e Cobas Taqman HCV test, v.2.0 (Roche Diagnostics, França). As amostras HBV DNA e HCV RNA reagentes serão submetidas a genotipagem, utilizando os testes INNO-LIPA HBV Genotyping (Innogenetics) e Versant HCV Genotype 2.0 (LIPA, Siemens) HCV II, respectivamente. Amostras de soro, sangue total e saliva serão submetidas a testes rápidos (TR) para detecção do HBsAg de 3 fabricantes distintos serão avaliados: Vikia HBsAg (BioMérieux),

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 889.606

Wama Imuno-Rápido HBsAg (Wama Diagnóstica) e HBsAg teste rápido (Doles), anti-HBs (anti-HBs, Wama), anti-HBe (anti-HBe Wama) e anti-HCV: Wama Imuno-Rápido HCV (Wama Diagnóstica), Teste Rápido anti-HCV (Bioeasy) e HCV teste rápido (Doles). Todos os ensaios terão seus resultados interpretados de acordo com as recomendações e orientações do fabricante contidas nas respectivas embalagens. A sensibilidade e especificidade diagnóstica do teste serão avaliadas com a utilização das amostras coletadas neste estudo.

A cada kit avaliado serão testadas 30 replicadas do soro-controle por um mesmo indivíduo, visando avaliar a reprodutibilidade intra-teste (repetibilidade). A reprodutibilidade inter-teste (precisão intermediária) será verificada, computando-se os resultados entre dois operadores distintos. Os testes serão realizados em dias diferentes, por técnicos diferentes. Todos 6050 participantes devem ter mais de 18 de anos de idade e concordarem em participar do estudo. Nos hospitais, também serão selecionados indivíduos com os seguintes perfis sorológicos: casos agudos e crônicos para hepatite B e C; indivíduos suscetíveis a infecção pelos vírus das hepatites B e C; indivíduos com infecção prévia pelo HBV (anti-HBc/anti-HBs reagente) e indivíduos vacinados para hepatite B (anti-HBs reagente). Não participarão do estudo, mulheres com teste de gravidez beta-HCG positivo; ter taxa de hemoglobina abaixo de 13,3 g/dL ou acima de 18 g/dL para homens adultos, ou taxa de hemoglobina abaixo de 12,0 g/dL ou acima de 16 g/dL para mulheres adultas; uso abusivo de álcool nos últimos seis meses; uso regular de drogas ilícitas; doença hepática e/ou tireoidiana descompensada e não concordância com os termos do consentimento informado. Os prontuários dos pacientes serão consultados pelos pesquisadores do estudo em colaboração com os médicos das instituições coparticipantes mantendo a privacidade e sigilo dos participantes.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo geral do presente estudo consiste em avaliar a performance de testes rápidos para o diagnóstico das hepatites B e C.

Objetivos Secundários:

1-Estabelecer os padrões necessários para a avaliação da performance dos testes rápidos, mediante a confecção de painéis de referência composto por amostras positivas e negativas para o HBsAg e HCV, caracterizadas frente a ensaios imunoenzimáticos de diferentes fabricantes e uso corrente;

2-Determinar o desempenho dos testes rápidos para detecção do HBsAg, anti-HBs, anti-HBe e

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 889.606

anti-HCV em pacientes renais crônicos;

3-Determinar o desempenho dos testes rápidos para detecção do HBsAg, anti-HBs, anti-HBe e anti-HCV em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV);

4-Determinar o desempenho dos testes rápidos para detecção do HBsAg, anti-HBs, anti-HBe e anti-HCV em indivíduos hemofílicos;

5-Determinar o desempenho dos testes rápidos para detecção em indivíduos com e sem infecção pelo HBV e HCV;

6-Avaliar o desempenho dos testes rápidos para detecção do HBsAg, anti-HBs, anti-HBe e anti-HCV em relação a fatores clínicos (carga viral e genótipo infectante) e sócio-demográficos (renda mensal, escolaridade e local de moradia);

7-Determinar o custo minimização dos testes rápidos para detecção do HBsAg, anti-HBs, anti-HBe e anti-HCV em comparação ao padrão ouro (ELISA) nas diferentes populações estudadas;

8-Avaliar parâmetros relacionados com a acurácia do teste como a sensibilidade, especificidade, bem como os valores preditivo positivo e preditivo negativo do kit;

9- Avaliar parâmetros relacionados com a precisão do teste como a repetibilidade e reprodutibilidade intermediária.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os possíveis riscos e desconfortos são aqueles relacionados com a retirada rotineira de sangue, dor ou rouidão no local. Estes riscos serão minimizados pela coleta de sangue por profissionais treinados dentro das normas de biossegurança.

Benefícios:

Os benefícios associados ao projeto seria a identificação de indivíduos infectados pelos vírus das hepatites que poderão ser encaminhados para acompanhamento e tratamento antiviral, assim como identificação de indivíduos suscetíveis a infecção pelo HBV que podem ser encaminhados para vacinação.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está suficientemente claro, bem fundamentado, sem necessidade de ser encaminhado para a CONEP.

O estudo proposto é pertinente e possui valor científico.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 889.606

O projeto após os ajustes feitos pela pesquisadora principal está em conformidade com a Resolução CNS 466/2012.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram anexados:

1- Termo de anuência das Instituições coparticipantes; 2- CV dos membros da equipe; 3- Projeto Detalhado; 4- TCLE; 5- Parecer do CEP Fiocruz de 2009; 6-Regulamento do Biorrepositório LAHEP v2 16-12, 2014 e Termo de Compromisso e sigilo dos pesquisadores envolvidos na pesquisa

Recomendações:

Aprovar o projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Os ajustes solicitados foram realizados pela pesquisadora principal, estando citados ponto a ponto na carta de 24 de setembro de 2014 anexada à Plataforma Brasil. A saber:

1- Foi esclarecido que o Dr. Christian Niel não participa do projeto. A pesquisadora principal explicou que, por ter assinado a folha de rosto do projeto original como diretor do Instituto Oswaldo Cruz, as correspondências eram encaminhadas em nome da Dra Livia Villar e do Dr Niel.

2- Foram incluídos, na plataforma Brasil, os Termos de Compromisso e sigilo dos membros da equipe.

3- A pesquisadora principal esclareceu o porquê dos Termos de anuências das Instituições coparticipantes terem datas que variam de 2011 à 2014. Todos estão participando do estudo.

4- Esclareceu que o Departamento de Patologia pertence à Universidade Federal do Ceará, sendo a responsável pelo estudo, naquele estado, a Dra. Cristiane Frota.

5-TCLE:

a) Foi incluída a informação de que a participação do indivíduo é isenta de despesas e, sendo voluntária, não existirá remuneração ou vínculo empregatício.

b) Endereço e telefone dos pesquisadores responsáveis em cada unidade foram]
incluídos no documento.

6- Com relação aos prontuários a pesquisadora principal esclareceu que:

a) A consulta dos prontuários será realizada pelos membros do estudo sob

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Continuação do Parecer: 889.606

- supervisão do médico responsável de cada instituição coparticipante.
- b) Os membros do estudo que irão coletar os dados nos prontuários assinarão o termo de compromisso e sigilo.
 - c) Os dados serão armazenados em banco de dados do Microsoft Office e mantidos sob a guarda do coordenador do projeto.
 - d) Os dados serão codificados de modo a manter o sigilo e privacidade de cada participante.

7- Os responsáveis pelos hospitais forneceram os termos de anuência para participação do estudo que inclui a anuência para coleta destes dados.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP Fiocruz/IOC), de acordo com as atribuições definidas na Res.CNS 466/12, manifesta-se por APROVAR, ad referendum, o projeto da forma como foi apresentado.

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável do pesquisador principal.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deverá ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

O sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido- TCLE apondo sua assinatura na última página do referido

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 889.606

Termo.

RIO DE JANEIRO, 27 de Novembro de 2014

Assinado por:
Maria Regina Reis Amendoeira
(Coordenador)

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Página 07 de 07

12 APÊNDICES

12.1 Apêndice 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
INSTITUTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROJETO INTERINSTITUCIONAL / UFC - FIOCRUZ

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Instituições: Departamento de Patologia e Medicina Legal da UFC e Laboratório de Hepatites Virais do Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz

Projeto de Pesquisa: *Avaliação do desempenho de testes rápidos para detecção de marcadores da infecção pelos vírus da hepatite B e C em diferentes grupos populacionais.*

Pesquisadores responsáveis: Msc. Jakeline Ribeiro Barbosa e Dra. Lívia Melo Villar

Como voluntário, o (a) Sr. (a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa realizada pela Universidade Federal do Ceará, sob a coordenação da Msc. Jakeline Ribeiro Barbosa e Dra. Lívia Melo Villar. O objetivo da pesquisa é avaliar o desempenho dos testes rápidos para o diagnóstico de marcadores das infecções pelos vírus das hepatites B e C em diferentes grupos populacionais, como a população **em hemodiálise, HIV positivo e hemofílicos**.

Este documento pretende fornecer a (o) Sr. (a) informações sobre o problema de saúde em estudo, detalhando os procedimentos, exames, benefícios, inconvenientes e riscos potenciais. O (a) Sr.(a) possui a liberdade de recusar a participar da pesquisa ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização e sem prejuízo ao seu cuidado.

Os investigadores se obrigam a não revelar sua identidade em qualquer publicação resultante de informações obtidas durante o estudo. Os exames e procedimentos aplicados são gratuitos. O (a) Sr. (a) receberá todos os cuidados médicos adequados para o controle dos efeitos colaterais que possam ocorrer em consequência de sua participação na pesquisa.

Antes de assinar este termo, o Sr.(a) será informado plenamente sobre a pesquisa, não hesitando em formular perguntas sobre qualquer aspecto que julgar conveniente esclarecer. É importante estar ciente das seguintes condições:

1. **Entrevista, exames e procedimentos que serão realizados:** o voluntário será convidado a participar da pesquisa e receberá todas as informações pertinentes. Se ele aceitar participar desse estudo deverá assinar o Termo de Consentimento (TCLE). Então, o pesquisador entrevistará o voluntário e em seguida realizará a coleta de uma amostra de sangue, por punção venosa periférica (3 tubos de 5 ml de sangue) para a realização dos testes diagnóstico.
2. **Benefícios:** Obter resultado de exames laboratoriais para as Hepatites B e C que serão entregues acompanhados de esclarecimentos sobre o significado dos resultados de maneira confidencial. O (a) Sr. (a) também será encaminhado para unidades de saúde do Estado do Ceará, caso o tratamento da hepatite se fizer necessário.
3. **Inconvenientes:** Caso seja necessário, o (a) Sr. (a) será contatado por um dos membros da pesquisa que irá perguntar se o (a) Sr. (a) está disposto a doar nova amostra de sangue. O (a) Sr. (a) estará livre para recusar esta solicitação.
4. **Riscos potenciais conhecidos até o dia de hoje:** Os possíveis riscos e desconfortos são aqueles relacionados com a retirada rotineira de sangue, dor ou hematoma no local que serão controladas por uma coleta de sangue realizada dentro das normas de biossegurança.

5. **Garantia de esclarecimentos:** Todos os esclarecimentos sobre a metodologia da pesquisa antes e durante o desenvolvimento da mesma serão realizados pela equipe da Pesquisa.

Eu, _____ (nome do(a) participante), abaixo identificado(a) e firmado(a), declaro ter sido informado(a) claramente sobre todas as indicações e riscos relacionados à coleta de sangue.

Os termos médicos foram explicados e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas pelo pesquisador _____ (nome do pesquisador).

Expresso também minha concordância e espontânea vontade em submeter-me ao referido procedimento (coleta de sangue e responder o questionário da pesquisa).

Entendi que minhas informações pessoais poderão ser revistas por pessoas devidamente autorizadas para conduzir a pesquisa, porém serão estritamente **CONFIDENCIAIS** e, de forma alguma, poderão tornar-se públicas. E minha participação é isenta de despesas, sendo voluntária e sem remuneração ou vínculo empregatício. Assim, declaro que:

- Fui claramente informado a respeito dos benefícios que a pesquisa pode trazer na avaliação dos resultados dos exames usados no diagnóstico das hepatites virais.

- Fui também claramente informado a respeito dos potenciais riscos relacionados a coleta de sangue para a realização desses exames.

Participante: _____ RG do participante: _____

Sexo do participante: () Masculino () Feminino Idade: _____ Telefone: () _____

Endereço: _____ Cidade: _____ CEP: _____

Responsável legal (quando for o caso): _____

RG do responsável legal: _____

Assinatura do participante ou do responsável legal: _____

Pesquisadores Responsáveis: Jakeline Ribeiro Barbosa RG: 4390694 SSP/GO
Livia Melo Villar RG:11403613-0/IFP

Caso tenha alguma dúvida ou necessite de qualquer esclarecimento sobre o estudo você pode entrar em contato com o pesquisador ou instituições envolvidas abaixo:

Ms. Jakeline Ribeiro Barbosa, Departamento de patologia da UFC, Rua Monsenhor Furtado, S/N, Rodolfo Teófilo, Fortaleza – CE, fone (85) 3366 – 8304/ 9821-2020

Dra. Livia Melo Villar, Laboratório de Hepatites Virais, Pavilhão Hélio e Peggy Pereira- térreo- sala B09, Av. Brasil, 4365 – Mangueiras/ Rio de Janeiro – RJ, fone (21) 2562-1918/1898

NAMI/UNIFOR - Dr. Rodrigo Dornfeld Escalante, Rua Desembargador Floriano Benevides, 221, Edson Queiroz/ Fortaleza - CE, fone (85) 3477-3611

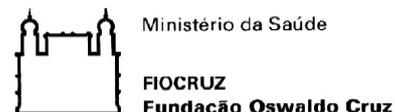
PRONEFRON – Dra. Alzenir Holanda Castelo, Rua José Vilar, 500, Aldeota / Fortaleza - CE, fone: (85) 3208-3101

HEMOCE – Dra. Luciana Maria de Barros Carlos, Rua José Bastos, 3390 - Rodolfo Teófilo, Fortaleza /CE, fone: (85) 3101-2296

Fortaleza, ___/___/20___

Assinatura do pesquisador responsável.

12.2 Apêndice 2: Questionário Sócio-comportamental



PESQUISA: AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE TESTES RÁPIDOS PARA O DIAGNÓSTICO DE MARCADORES DAS INFECÇÕES PELOS VÍRUS DAS HEPATITES B E C EM DIFERENTES GRUPOS POPULACIONAIS.

IDENTIFICAÇÃO

P1	População entrevistada: () 1. hemodialisados () 2. HIV positivo () 3. hemofílicos	
P2)	Data de Nascimento: ___/___/___ P3) Profissão: _____	
P4)	Idade: _____	
P5)	Sexo: () 1. Masculino () 2. Feminino	
P6)	Estado Civil: () 1. Casado () 2. Solteiro () 3. Separado () 4. Viúvo () 5. União estável/Amigado () 9. Não Informado	
P7)	Cor: () 1. Branco () 2. Negro () 3. Amarela () 4. Parda () 5. Indígena () 6. Asiático () 9. Ignorado	
P8)	Escolaridade () 1. Analfabeto () 2. Educação Infantil () 3. EF(1º grau) completo () 4. EF(1º grau) incompleto () 5. EM(2º grau) completo () 6. EM(2º grau) incompleto () 7. ES completo () 8. ES incompleto () 9. Curso de Pós-Graduação completo () 10. Curso de Pós-Graduação incompleto	
P9)	Quantas pessoas moram com você? _____	
P10)	Qual é a renda de sua família (que mora com vc)? _____	

P11)	Você alguma vez já ficou com a pele e os olhos amarelos e/ou urina muito escura (cor de “chá preto” ou “coca-cola” ou teve hepatite confirmada por exame de sangue? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não se lembra	
P12)	No caso de ter hepatite, já fez ou faz uso de algum medicamento para hepatite? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P13)	Você já foi vacinado contra Hepatite B ? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P14)	No caso de ter sido vacinado, quantas doses tomou? () 1. 3 doses () 2. 2 doses () 3. 1 dose () 4. Não quis responder () 5. Não sabe () 6. Não foi vacinado	
P15)	Você já foi submetido(a) a transfusão de sangue ou plasma? <i>Em caso negativo ir para P17</i> () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P16)	Foi transfundido antes de 1994? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P17)	Você tem alguma tatuagem no corpo? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P18)	Você tem algum piercing no corpo? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P19)	Você já furou a orelha para colocar brincos? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	

P20)	Você já fez acupuntura? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P21)	Você já cuidou das unhas na manicure? <i>Em caso negativo ir para P24</i> () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P22)	Usou o seu próprio alicate? () 1. Sim, usou () 2. Não, não usou () 3. Não frequenta manicure	
P23)	O alicate que usava era esterilizado? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P24)	Já fez depilação em salão de beleza? <i>Em negativo P26</i> () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P25)	Os materiais eram descartáveis ou esterilizados? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P26)	Você já compartilhou laminas ou gilete com outra pessoa? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P27)	Você já compartilhou escova de dentes com outra pessoa? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P28)	Você já fez algum tipo de tratamento dentário (extração, canal, cirurgia gengival, implante)? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P29)	Você já fez uso de algum tipo de droga ilícita injetável ou inalatória? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder <i>Em caso negativo P33</i>	
P30)	Se sim, com que frequência faz uso de drogas? () 1. Frequentemente () 2. Raramente () 3. Não sabe () 4. Não quis responder () 5. De vez em quando	
P31)	Se sim, qual o tipo de droga? () 1. Cocaína () 2. Heroína () 3. Crack () 4. Êxtase () 5. Outra () 6. Não sabe () 7. Não quis responder	
P32)	Se sim, já compartilhou agulha, seringa, canudo ou outro objeto com outra pessoa? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P33)	Qual a sua orientação sexual? () 1. Heterossexual () 2. Homossexual () 3. Bissexual () 4. Não sabe () 5. Não quis responder	
P34)	Você já teve relação sexual com alguém? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder <i>Em caso negativo P44</i>	

P35)	Qual o numero de parceiros (as) nos últimos 12 meses? () 1. Menos de 5 () 2. entre 6-10 () 3. Mais de 10 () 4. Fixo () 5. Não sabe () 6. Não quis responder	
P36)	Com que frequência faz uso de camisinha? () 1. Sempre () 2. Nunca () 3. Raramente () 4. De vez em quando () 5. Frequentemente () 6. Não sabe () 7. Não quis responder	
P37)	Você já fez sexo oral? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P38)	Você já fez sexo anal? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder. <i>Em caso negativo P42</i>	
P39)	Qual foi o tipo de sexo anal? () 1. Insertivo () 2. Receptivo () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P40)	Houve sangramento durante o sexo anal? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P41)	Houve ejaculação (sexo anal)? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder () 5. Não se aplica	
P42)	Você já teve relação sexual com parceiro (a) com hepatite viral ou AIDS? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P43)	De que tipo (hepatite)? _____	
P44)	Você já teve contato dentro de casa com alguém com hepatite viral ou AIDS? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P45)	Você já teve alguma doença sexualmente transmissível ou venérea?	

	() 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P46)	Qual? _____	
P47)	Você ingere bebida alcoólica? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder <i>Em caso afirmativo P49</i>	
P48)	Se sim, com que frequência ingere bebida alcoólica? () 1. 1x semana () 2. 2x semana () 3. 3x semana () 4. 4x semana () 5. 5x ou mais/semana	
P49)	Toma algum medicamento regularmente? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	
P50)	Qual medicamento? _____	
P51)	Possui alguma doença auto-imune? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe	
P52)	Se sim, qual? _____	

HEMODIÁLISE

P53)	Você faz hemodiálise quantas vezes na semana? _____	
P54)	Quando você começou a fazer hemodiálise/Quanto tempo? _____	
P55)	Você já fez transplante renal? () 1. Sim () 2. Não () 3. Não sabe () 4. Não quis responder	

HIV POSITIVO

P56)	Quanto tempo sabe o diagnóstico? _____	
P57)	Faz tratamento antirretroviral para HIV? () 1. Sim () 2. Não	
P58)	Se sim, qual o esquema terapêutico? _____	

COAGULOPATIA

P59)	Qual o tipo de coagulopatia? () hemofílico () Von Willebrand	
P60)	Qual o Tipo de hemofilia? () A- deficiência dos fatores VIII () B - deficiência dos fatores IV	
P61)	Qual a gravidade da coagulopatia? () Grave ou tipo 3 () Moderada ou tipo 2 () Leve ou tipo 1	
P62)	Possui anticorpos inibidores: () 1. Presente () 2. Ausente	

Assinatura do entrevistador