

FIOCRUZ

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz



Fundação Bahiana
para Desenvolvimento
das Ciências

Márcia Carvalho Bessa

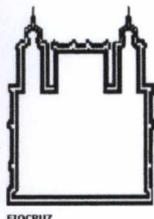
**Prevalência da hepatite C em cônjuges
De pacientes renais crônicos em
hemodiálise.**

Dissertação apresentada à Fundação
Bahiana para o Desenvolvimento das
Ciências para obtenção do Título de
Mestre em Medicina Interna.

Salvador
2005



002998



FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz



Fundação Bahiana
para Desenvolvimento
das Ciências

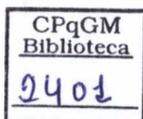
Márcia Carvalho Bessa

Prevalência da hepatite C em cônjuges de pacientes renais crônicos em hemodiálise.

Dissertação apresentada à Fundação
Bahiana para o Desenvolvimento das
Ciências para obtenção do título de
Mestre em Medicina Interna.

Orientador: Prof. Dr. Mitermayer Galvão dos Reis.

Salvador
2005



FICHA CATALOGRÁFICA

Bessa, Márcia Carvalho

Prevalência da Hepatite C em cônjuges de pacientes renais crônicos em hemodiálise / Márcia Carvalho Bessa. Orientador: Mitermayer Galvão dos Reis. / Salvador: Fundação Bahiana para o Desenvolvimento das Ciências – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, 2005.

97f.

Dissertação (Mestrado em Medicina Interna)- Fundação Bahiana para o Desenvolvimento das Ciências – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, 2005.

1. Hepatite C 2. Transmissão sexual do VHC

I. Título

CDU: 616.36-002

“A ciência todinha, em seu conjunto, não é mais do que um refinamento do pensamento comum do dia a dia”.

Albert Einstein

“Os analfabetos do século XXI não serão os que não sabem ler e escrever, mas os que não sabem aprender, desaprender e reaprender”.

Alvin Toffler

Ao meu marido Bessa,
companheiro de todas as horas...
Aos meus filhos Ana Luiza e Otávio,
meus maiores tesouros...
Aos meus pais, Osmar e Marina,
sempre generosos e confiantes...
Ao meu irmão Júnior,
sábio grande amigo...

Meu especial agradecimento ao Prof. Dr. Mitermayer Galvão dos Reis que me propiciou as condições para o desenvolvimento deste trabalho. Mais que meu orientador foi um exemplo de ética e solidariedade.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Marcílio de Sousa pelos ensinamentos de Metodologia Científica, pelos incentivos e sugestões.

A Itatiana Ferreira Rodart pela ajuda, atenção e disponibilidade em todas as etapas da elaboração deste trabalho além da inestimável colaboração na realização dos exames de Biologia Molecular.

A Theomira de Azevedo do Carmo e Gisele Barreto Lopes pela colaboração dos testes de Biologia Molecular.

A Fernanda Albuquerque Pereira pela análise cuidadosa e valiosas sugestões incorporadas a esta dissertação

A todos os colegas do Laboratório de Pesquisa e Biologia Molecular (LPBM) do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) pelo companheirismo e estímulo.

A Maria Alice Sant'Anna Zarife pela realização dos exames sorológicos e ajuda na descrição e interpretação destes resultados.

Ao Dr. José Andrade Moura Júnior quem primeiro me incentivou neste trabalho, pela amizade e auxílio.

Ao Dr. Edson Luís Paschoalin pelo suporte e amizade.

A Enfa. Sumaia Cabral pelo incentivo e auxílio na coleta dos dados.

Ao Dr. Sérgio Presídio pela colaboração na coleta dos dados em Salvador.

A Cynthia Galvão pela amizade e valiosa ajuda na realização das entrevistas.

A equipe médica e de Enfermagem da Clínica Senhor do Bonfim companheiros de trabalho pelo apoio e colaboração.

Ao Dr. José Fontes e Alex Santana pela disposição e colaboração no processamento das amostras de sangue.

Aos Professores e colegas do Curso de Pós-Graduação pelo muito que me ensinaram durante nosso convívio.

A Zenaide dos Santos por garantir o bem estar da minha família enquanto me ausentava na realização deste trabalho.

Aos pacientes renais crônicos e seus cônjuges, sujeitos desta pesquisa, pelo altruísmo em prol da ciência.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos.

Lista de tabelas.

Lista de figuras e gráficos.

Resumo.

Summary.

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Considerações gerais	2
1.2	Revisão da literatura	6
1.21	Histórico	6
1.22	Estrutura viral	8
1.23	Diagnóstico Sorológico da Hepatite C	10
1.24	Detecção do RNA Viral	11
1.3	Epidemiologia	
1.31	Distribuição geográfica e aspectos demográficos	13
1.32	Grupos e Fatores de Risco para Transmissão do Vírus C	19
1.321	Usuários de drogas endovenosas	19
1.322	Transfusões e Transplantes	21
1.323	Hemofílicos	23
1.324	Hemodialisados	25
1.325	Exposição Ocupacional	28
1.326	Transmissão Perinatal	29
1.327	Transmissão domiciliar (intrafamiliar)	30
1.328	Atividade sexual	31
2	OBJETIVOS	35
3	MÉTODOS	37
3.1	Amostra	38
3.2	Critérios de inclusão e exclusão	40
3.3	Entrevista	41
3.4	Coleta de sangue	41
3.5	Sorologia	42
3.6	Exames moleculares	44
3.7	Extração do VHC-RNA, síntese do DNAC e amplificação	44
3.8	Genotipagem	45
3.9	Análise Estatística	46
3.10	Aspectos Éticos	46

4	RESULTADOS	47
5	DISCUSSÃO	60
6	CONCLUSÕES	76
7	ANEXOS	78
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

Listas de abreviaturas e siglas.

Prof.	Professor
Dr.	Doutor
et al.	e outros colaboradores
ed.	editores
Ed.	Editora
n.	número
p.	página
pmp	por milhão da população
VHC	vírus da hepatite C
RNA	ácido ribonucléico
CDC	Center for Disease Control
HIV	vírus da imunodeficiência humana
AgHBs	antígeno de superfície da hepatite B
NANB	não-A não-B
DNA	ácido desoxidorribonucléico
C	core
E	envelope
NS	região não estrutural
HVR	região hipervariável
RIBA	Recombinant Immunoblot Assay
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay

RT-PCR	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
TMA	Transcription Mediated Amplification
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Humana
CDNA	ácido desoxidorribonucléico complementar
RFLP	Restriction Fragment Length Polimorfism
CSB	Clínica Senhor do Bonfim
DEPC	água ultrapura tratada com dietilpirocarbonato

Listas de Tabelas:

TABELA 1	Características sócio-demográficas e escolaridade pacientes e cônjuges - CSB Feira de Santana/Salvador - 2003	50
TABELA 2	Procedência e dados socioeconômicos dos casais - CSB Feira de Santana/Salvador - 2003	51
TABELA 3	Sorologia dos cônjuges não portadores de Insuficiência Renal Crônica - CSB Feira de Santana - 2003 a 2004	57
TABELA 4	Resultados de RT-PCR e genotipagem dos casais - CSB Feira de Santana – 2003 a 2004	59
TABELA 5	Resultados de RT-PCR e genotipagem dos casais - CSB Salvador – 2003 a 2004	60

Lista de Figuras e Gráficos:

Figura 1: Genoma do VHC e correlação com as três gerações de ELISA	9
Gráfico 1: Tempo dos pacientes em tratamento hemodialítico	52
Gráfico 2: Número de pacientes e cônjuges submetidos a hemotransfusões	52
Gráfico 3: Fatores de risco para aquisição do VHC	53
Gráfico 4: Tempo de convivência dos casais	53
Gráfico 5: Percentuais das freqüências das relações sexuais	54
Gráfico 6: Proporções de pacientes e cônjuges em relação ao número de parceiros sexuais	54
Gráfico 7: Antecedentes de DST e comportamento sexual	55
Gráfico 8: Freqüência do uso de preservativos	55
Gráfico 9: Proporção dos casais que compartilham objetos de higiene pessoal	56
Gráfico 10: Perfil genotípico dos pacientes	58

RESUMO

Bessa, MC. **Prevalência da hepatite C em cônjuges de pacientes renais crônicos em hemodiálise.** Salvador, 2005. Dissertação de Mestrado – Fundação Bahiana para o Desenvolvimento das Ciências - Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Introdução: A hepatite C é um problema de saúde pública no Brasil e no mundo e representa uma causa importante de morbidade e mortalidade. O principal meio de transmissão do VHC é a via parenteral. Evidências indicam que a transmissão sexual pode ocorrer principalmente entre aqueles com múltiplos parceiros sexuais. Embora a transmissão do VHC entre parceiros heterossexuais monogâmicos estáveis tenha sido descrita este risco é considerado pequeno.

Objetivo: Determinar a prevalência de infecção pelo VHC nos cônjuges de pacientes anti-VHC positivos submetidos à hemodiálise na Clínica Senhor do Bonfim (CSB).

Material e Métodos: Dos 355 pacientes em hemodiálise na Clínica Senhor de Bonfim em Feira de Santana e dos 241 pacientes em tratamento na unidade de Salvador 54 (15,21%) e 22 (9,13%), respectivamente, eram anti-VHC positivos conforme resultado de ELISA automatizado de terceira geração. Destes, 32 em Feira de Santana e 12 em Salvador eram casados ou mantinham relacionamento heterossexual estável há mais de 6 meses e foram convidados a participar do estudo. Nove casais se recusaram e nossa amostra foi constituída por 35 pacientes e seus respectivos cônjuges sendo que em um casal ambos faziam hemodiálise totalizando 34 casais para análise. As amostras de sangue foram coletadas entre os anos de 2003 e 2004. A infecção foi diagnosticada por testes imunoenzimáticos de terceira geração (ELISA e RIBA III) e pela presença da partícula viral circulante detectada pela reação em cadeia polimerase (RT-PCR). Foi realizada a genotipagem pelo método RFLP (Restriction Fragment Length Polimorfism). Um questionário padrão foi utilizado para entrevista e coleta de dados sobre fatores de risco para aquisição da doença e comportamento sexual.

Resultados: A prevalência de anti-VHC positivo entre os cônjuges foi de 5,88% (2/34). Ambos eram do sexo feminino. Um dos cônjuges soropositivos apresentava exposição a fatores de risco parenterais para aquisição do VHC (hemotransfusão e hemodiálise). Neste casal ambos apresentaram viremia detectável e a análise dos genótipos evidenciou concordância sendo os dois portadores do genótipo 3. O segundo cônjuge anti-VHC positivo em dois testes de ELISA terceira geração, apresentou RIBAIII indeterminado e viremia indetectável por RT-PCR o que poderia representar um ELISA falso positivo ou infecção pregressa com evolução para cura e persistência de anticorpos residuais. Este cônjuge não tinha antecedente de exposição parenteral ao VHC e seu parceiro apresentava viremia detectável. Os dois casais relataram compartilhamento de utensílios de higiene pessoal. Com base nos questionários pudemos observar que o tempo de convivência entre os casais foi de $16,55 \pm 13,71$ anos, que a maioria

dos casais (35%) mantinha em média uma relação sexual a cada dois ou três dias, que 64,70%(22/34) dos casais nunca usavam preservativo e que apenas 20,58% (7/34) não compartilhavam objetos de higiene pessoal. Em relação a práticas sexuais de risco temos que 73% dos cônjuges tiveram até cinco parceiros sexuais, 23% de 6 a 10 e 4% mais de 10, DST foi referidos por um cônjuge e dois pacientes, sexo com prostitutas por três cônjuges e três pacientes e sexo anal e relacionamento homossexual por um paciente.

Conclusão: A prevalência de 5,88% (2/34) de anti-VHC positivo entre os cônjuges de pacientes soropositivos para o vírus C em hemodiálise dá suporte a hipótese de baixo risco de transmissão do VHC entre casais. A exposição de um dos cônjuges soropositivos a outros fatores de risco parenterais para o VHC e o resultado de RIBA indeterminado associado a viremia indetectável no outro cônjuge bem como a elevada frequência de compartilhamento de objetos de higiene pessoal tornam difícil a interpretação dos dados em relação a transmissão sexual.

Abstract

Bessa,MC. Prevalence of Hepatitis C in partners of chronic renal patients in hemodialysis. Salvador, 2005. Dissertação de Mestrado – Fundação Bahiana para o Desenvolvimento das Ciências - Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Introduction: Hepatitis C is a public health problem in Brazil and in the world and represents an important cause of morbidity and mortality. The parenteral route is main form of transmission of HCV. Evidences indicate that sexual transmission can occur especially among those with multiple sexual partners. Although the transmission of HCV among stable monogamist heterosexual partners has been described in the literature, this is considered of low risk.

Objective: Determine the prevalence of infection by HCV in partners of positive anti-HCV patients submitted to hemodialysis .

Material and Methods: Of the 355 patients in hemodialysis at the Clínica Senhor de Bonfim in the district of Feira de Santana and of the 241 patients in treatment at the unity in Salvador, 54 (15,21%) and 22 (9,13%), respectively, were anti-HCV positive according to the third generation automated ELISA results. From these, 32 in Feira de Santana and 12 in Salvador were married or had a stable heterosexual relationship for more than 6 months, and were invited to participate in the study. Nine couples refused to participate, so our sample was constituted by 35 patients and their respective partners, being that in one couple both were in hemodialysis, coming to a total of 34 couples for analysis. The blood samples were collected between 2003 and 2004. The infection was diagnosed by third generation immunoenzymatic tests (ELISA and RIBA III) and by the presence of the circulating viral particle detected through the polymerase chain reaction (RT-PCR). The genotyping was realized through the method RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). A standard questionnaire was used for the interview and data collection about risk factors regarding the acquisition of the disease and sexual behavior.

Results: The prevalence of positive anti-HCV among the partners was of 5,88% (2/34). Both were females. One of the seropositive partners demonstrated exposition to parenteral risk factors of HCV acquisition (hemo-transfusion and hemodialysis). In this couple both had detectable viremia and the analysis of the genotypes evidenced accordance, with both carriers being of genotype 3. The second anti-HCV partner in both third generation ELISA tests, presented undetermined RIBAIII and undetectable viremia by RT-PCR which could represent a false positive ELISA or previous infection with evolution for cure and persistence of residual ant-bodies. This partner did not have previous parenteral exposure to HCV and the respective partner presented detectable viremia. Both couples reported sharing of personal hygiene utensils. Based on the questionnaires we could observe that the duration of cohabiting among the couples was of

16,55±13,71 years, that the majority of the couples (35%) maintained on average one sexual intercourse each 2 or 3 days, that 64,70%(22/34) of the couples never used preservative and that only 20,58% (7/34) did not share personal hygiene utensils. Regarding risky sexual practices, 73% of the partners had up to 5 sexual partners, 23% had from 6 to 10 partners and 4% more than 10. DST was found in 1 partner and 2 patients, 3 partners had sex with prostitutes, 3 patients had anal sex and 1 patient had a homosexual relationship.

Conclusion: The prevalence of 5,88% (2/34) of positive anti-HCV among the patients' partners seropositive for C type virus in hemodialysis supports the hypothesis of the low risk of transmission of HCV among couples. The exposition of one seropositive partner to other parenteral risk factors for HCV and the result of an undetermined RIBA associated to undetectable viremia on the other partner, as well as a high frequency of sharing personal hygiene objects make it difficult to interpret the data regarding sexual transmission.

Introdução

Considerações Gerais

A hepatite pelo vírus C (VHC) é a infecção de transmissão parenteral mais freqüente da atualidade e uma das principais causas de hepatopatia crônica, e por este motivo constitui um dos maiores desafios de saúde pública em todo o mundo. Nos países industrializados a hepatite C é responsável por 20% dos casos de hepatite aguda, 70% dos casos de hepatite crônica, 40% dos casos de cirrose e 30% dos transplantes de fígado.

O VHC é um RNA vírus identificado pela primeira vez por Michael Hought e cols utilizando técnicas de biologia molecular. Apresenta elevada taxa de mutação e, por conseguinte uma extensa variedade genética, já tendo sido identificados seis diferentes genótipos e mais de 90 subtipos. Esta diversidade tem importante implicação clínica e diagnóstica e explica as variações no curso da doença, as dificuldades no desenvolvimento de uma vacina e a baixa resposta à terapia medicamentosa.

A remissão viral espontânea na fase aguda, nos indivíduos não tratados, ocorre em apenas 15% a 45% dos indivíduos infectados. Os 55% a 85% restantes não conseguem eliminar o vírus e evoluem para a forma crônica da doença. Embora a maioria dos casos evolua para cronificação um grande número de portadores do vírus permanecem assintomáticos. O alto percentual de cronificação, o grande número de portadores assintomáticos associado a taxas moderadas de resposta viral sustentada ao tratamento específico (54% a 56%) tem sido objeto de crescente preocupação por parte das autoridades de saúde que encontram nestes aspectos as causas para a dificuldade em conter a disseminação da doença.

A prevalência global de hepatite C é estimada em 3% (variando de 0,1% a 26% nas diferentes regiões do mundo). No Brasil, a maioria dos estudos são baseados na soroprevalência entre os doadores de sangue nas grandes cidades.

Grande variação na prevalência de infecção pelo VHC ocorre entre os diferentes grupos expostos aos diversos fatores de risco. Os fatores de risco associados à transmissão do VHC incluem: uso de sangue e derivados, uso de drogas endovenosas, atividade profissional médica e paramédica, pacientes em hemodiálise, exposição a múltiplos parceiros sexuais, exposição a parceiro sexual ou contato familiar com paciente portador do VHC e filhos de mães VHC positivas. Fatores de risco emergentes considerados por ora de pouco impacto pelos órgãos de saúde pública incluem: o uso de instrumentos médicos e odontológicos contaminados, uso compartilhado de objetos de higiene pessoal (tesouras de unha, alicates, escovas de dente), tatuagens, colocação de piercings, serviço militar e viagens ao exterior.

A prevalência da infecção pelo VHC nos pacientes em hemodiálise é elevada quando comparada a da população em geral e varia de um local para outro. Estudos referem prevalência desde 1%, no noroeste europeu até 91% na Europa oriental. No Brasil pesquisas revelam elevada prevalência do VHC entre os pacientes em hemodiálise. Estas taxas estão em declínio, desde a década de 90, graças à aplicação das normas de controle da transmissão da hepatite nas Clínicas de Diálise, triagem sorológica obrigatória dos doadores de sangue e uso da eritropoetina humana.

Nos dias atuais, em nosso meio, a transmissão do VHC por hemotransfusão é rara. Estudos recentes demonstram que o uso de drogas

injetáveis corresponde a 60% dos casos de contaminação pelo vírus e trata-se da maior fonte de transmissão da doença na atualidade.

O papel da atividade sexual na transmissão do VHC permanece controverso. Os estudos variam muito em relação à metodologia empregada para o diagnóstico da infecção (sorologia e/ou métodos de biologia molecular), assim como nos resultados obtidos (0% a 27%). A grande maioria dos trabalhos menciona um risco de 0% a 3% de transmissão sexual.

Vários aspectos devem ser considerados quando se discute a transmissão sexual do VHC, dentre eles: o número de parceiros sexuais, o tempo de convivência do casal, a frequência das relações sexuais, a presença de doenças sexualmente transmissíveis associadas, traumatismos durante a relação, etc.

A transmissão sexual do VHC parece apresentar relevância nos estudos epidemiológicos quando são consideradas populações com antecedente de múltiplos parceiros sexuais e quando existe associação com outras doenças sexualmente transmissíveis, especialmente co-infecção pelo HIV (vírus da imunodeficiência humana).

Entre os casais heterossexuais monogâmicos estáveis a transmissão do VHC parece ocorrer em menor proporção. No Brasil são poucos os trabalhos sobre a transmissão sexual do VHC.

A prevenção de novos casos de hepatite C deve ser o objetivo primário das atividades de saúde pública. Para atingir este objetivo torna-se necessária a integração de medidas preventivas e de vigilância epidemiológica pelos órgãos de saúde pública.

Algumas questões relacionadas à epidemiologia da infecção pelo VHC permanecem sem resposta. Tais respostas possibilitarão um entendimento mais amplo e poderão implementar e redirecionar as medidas de prevenção primária. Tais aspectos dotam as pesquisas realizadas nesta área de significativa importância. A magnitude do risco atribuído a transmissão sexual é uma destas questões parcialmente elucidadas. Segundo o CDC (Centro de Controle de Doenças Americano) os casais heterossexuais estáveis não necessitam mudar seus hábitos e o uso de métodos de barreira (condom) deve ser discutido entre os parceiros. Outro assunto que merece destaque é o uso compartilhado de utensílios de higiene pessoal, prática bastante freqüente em nosso meio.

Revisão da Literatura

Vírus da Hepatite C (VHC)

Histórico

A hepatite viral é uma patologia reconhecida pela humanidade desde antes de Cristo e descrições de icterícia foram encontradas na antiga Babilônia e nos relatos de Hipócrates. A natureza infecciosa da doença foi reconhecida no século VIII por Pope Zacharias (COCKAYNE, 1912, apud LINDENBACH et RICE, 2001). Os relatos iniciais de grandes epidemias de hepatite se referiam provavelmente a surtos de hepatite A. A transmissão parenteral da doença foi reconhecida em 1880, quando foi iniciada vacinação contra varíola (LURMAN, 1885, apud DAVIS 2003). A partir de então numerosos casos de icterícia foram observados, no início do século XX, em pacientes que receberam vacina ou injeção para tratamento de Diabetes Mellitus e sífilis (BIGGER, 1943; DROLLER, 1945; SAWYER et al, 1944, apud DAVIS, 2003).

BEESON, 1943, apud AHMED et KEEFFE, 2003 foi quem primeiro reportou a associação entre hemotransfusão e hepatite.

Por ocasião da segunda guerra mundial foram reconhecidas duas entidades distintas: a hepatite infecciosa de transmissão enteral e a hepatite por soro homólogo de transmissão parenteral. Até que testes se tornassem disponíveis para distinguir as duas viroses o diagnóstico era baseado em aspectos epidemiológicos e individuais. (KRUGMAN et al, 1967, apud AHMED et KEEFFE, 2003).

BLUMBERG et al, 1965, apud DAVIS, 2003, identificaram o primeiro marcador sorológico para hepatite B que foi inicialmente denominado de

antígeno Austrália e posteriormente antígeno de superfície da hepatite B (AgHBs). Sua associação com a hepatite de transmissão parenteral só foi reconhecida três anos depois em 1968.

Posteriormente ensaios imunoenzimáticos bastante sensíveis para diagnóstico de hepatite A e B foram desenvolvidos. O emprego destes testes tornou evidente que uma grande proporção dos casos de hepatite não poderiam ser atribuídos ao vírus A ou B. PRINCE et al, 1974, apud DAVIS, 2003, descreveram uma forma de hepatite pós-transfusional de longo período de incubação sem evidência sorológica de hepatite B a qual denominaram de hepatite não-A não-B (NANB).

Nos quinze anos subseqüentes numerosas pesquisas foram realizadas na tentativa de se identificar o vírus, um antígeno viral ou um anticorpo específico associado à hepatite NANB. Estudos de filtração sugeriam que o agente media de 30 a 50 nm, e como era inativado por solventes lipídicos era provável que possuísse um envelope lipídico (BRADLEY, 1985).

Na década de 80, o advento das técnicas de biologia molecular, tornou possível a detecção de agentes infecciosos anteriormente não identificados pelas técnicas vigentes. Em 1989 um grupo de cientistas da Chiron Corporation, liderados por Michael Houghton, construíram uma seqüência de DNA complementar a partir do soro de pacientes presumivelmente infectados pelo vírus da hepatite NANB e a inseriram em um bacteriófago para obtenção de clones para identificação de pacientes portadores da doença (ARIMA et al, 1989).

Uma vez que o genoma viral era desconhecido ambos DNA e RNA foram extraídos de um grande volume de sangue infectado. Após extensa ultracentrifugação, suficiente para precipitar o agente infeccioso, o ácido nucléico foi extraído e o RNA foi convertido em DNA complementar. Fragmentos de restrição foram clonados em um bacteriófago recombinante vetor para formar uma seqüência de DNA complementar. Estes fagos foram

inseridos em *Escherichia coli* capaz de transcrever e expressar o peptídeo e o produto foi exposto ao soro de pacientes com hepatite NANB para capturar anticorpos circulantes contra o vírus. Anticorpos anti-VHC foram detectados em seis das sete amostras de soro que previamente transmitiram hepatite NANB aos chimpanzés e em 58% dos pacientes com hepatite NANB nos EUA sem uma fonte segura de exposição parenteral ao vírus. (CHOO et al, 1989; KUO et al, 1989; ALTER et al, 1989)

Estrutura viral

Baseado na análise filogenética, o VHC está relacionado aos flavivírus e pestivírus. Semelhanças na organização genética e padrão de hidrofobia entre o VHC e outros membros da família *Flaviviridae* permitem classificá-lo nesta família. Existem, por outro lado, diferenças suficientes para classificá-lo em um gênero à parte denominado *Hepacivirus*. (LINDENBACH et RICE, 2001)

Seis genótipos virais maiores foram descritos e designados de 1 a 6; estes foram posteriormente classificados em subtipos (1a, 1b, 2a, etc) dos quais mais de 50 foram relatados.(SIMMONDS et al,1994)

A partícula viral tem aproximadamente 50nm de diâmetro e consiste de um envelope derivado de membranas do hospedeiro no qual encontra-se inserido o genoma viral, uma fita simples positiva de RNA com cerca de 9600 nucleotídeos que compreende uma região altamente conservada não traduzida 5', uma região aberta para leitura e uma região não traduzida 3'. A região aberta para leitura codifica uma poliproteína precursora de aproximadamente 3000 aminoácidos. Esta poliproteína quando clivada por proteases virais e celulares produz, aproximadamente, 10 polipeptídeos com função na replicação e estrutura virais (GRAKOUÏ et al, 1993).

A seqüência da região aberta para leitura corresponde a seguinte descrição: (NH₂)C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B(COOH)

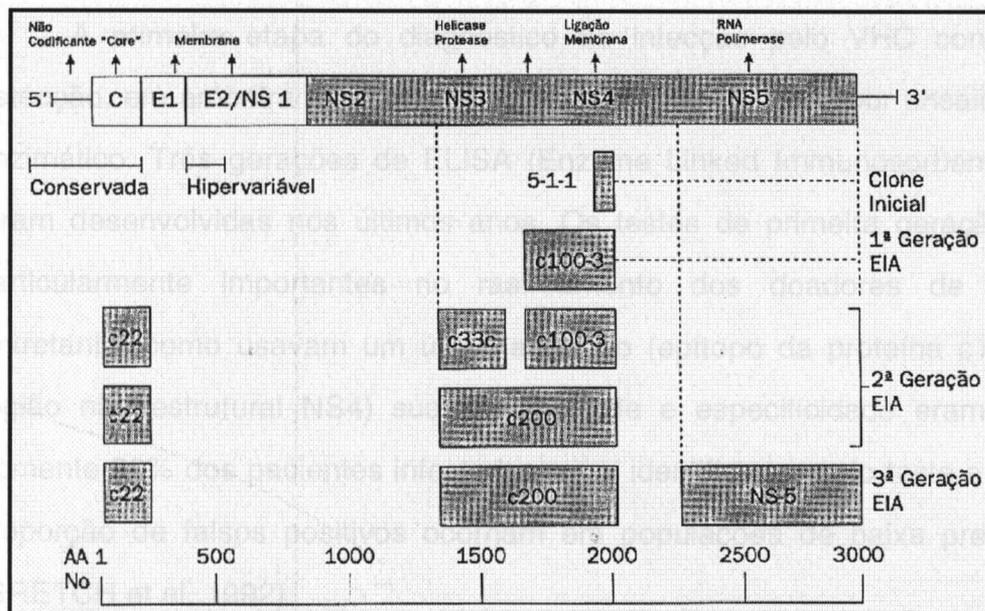


Figura 1: Genoma do VHC e correlação com as três gerações de ELISA.

Características das regiões moleculares:

Região não traduzida 5': Corresponde a uma das regiões mais conservadas do genoma viral. Contém elementos necessários para replicação viral e iniciação da síntese protéica (ZHAO, 1999).

Região não traduzida 3': variável conforme o genótipo é importante para garantir a estabilidade do RNA e auxiliar em sua síntese modulando a eficiência de sua tradução (TANAKA et al, 1996).

Proteínas estruturais: Incluem a proteína do core, e as glicoproteínas do envelope E1, E2 e a proteína p7. A glicoproteína E2 tem dois segmentos hipervariáveis HVR1 e HVR2 que conferem ao VHC o mecanismo básico para escapar da defesa imune do hospedeiro e estabelecer um processo infeccioso crônico (MANZIN et al, 1998; KATO et al, 1993).

Proteínas não estruturais: Compreendem várias proteases (NS2, NS3, NS4A/B e NS5A), uma helicase e uma RNA-polimerase necessária para a replicação do genoma viral.

Diagnóstico sorológico da hepatite C

A primeira etapa do diagnóstico da infecção pelo VHC consiste na detecção, em amostra de soro, de anticorpos contra o vírus por ensaio imunoenzimático. Três gerações de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) foram desenvolvidas nos últimos anos. Os testes de primeira geração foram particularmente importantes no rastreamento dos doadores de sangue. Entretanto, como usavam um único antígeno (epítipo da proteína c100-3 da região não estrutural NS4) sua sensibilidade e especificidade eram baixas. Somente 80% dos pacientes infectados eram identificados pelo teste e elevada proporção de falsos positivos ocorriam em populações de baixa prevalência (GRETCH et al, 1992).

Com o objetivo de confirmar o diagnóstico de hepatite C em populações de baixa prevalência, como os doadores de sangue, foi desenvolvido o RIBA (Recombinant Immunoblot Assay). Uma vez que utilizava antígenos adicionais fixados em uma fase sólida, tornou-se um teste menos sensível, porém mais específico. Em 1992 surgiu o ELISA segunda geração que incorporou antígenos do core e da terceira e quarta regiões não estruturais (NS3 e NS4) aumentando a sensibilidade (95%) e a especificidade do teste (ALTER, 1992).

A terceira geração foi aprovada em 1997 e passou a conter antígenos do core, NS3 e NS4 reconfigurados além de antígenos da região NS5. COLIN et al, 2001, em estudo de revisão, estimaram a sensibilidade do ELISA III em 98,7% (95% CI: 94-100%) em pacientes com doença hepática crônica e 97,2% (95% CI: 92-99%) em painel de soro. Sua especificidade considerando pacientes com doença hepática crônica foi de 100%. A sensibilidade do RIBA III foi avaliada em 78,8% (95% CI: 65-89%) em pacientes hemodialisados.

Apesar de todas as modificações desenvolvidas para maximizar a especificidade do ELISA, ainda ocorrem reações falso-positivas,

particularmente entre pacientes de baixo risco como os doadores voluntários de sangue. A especificidade, nestes casos, pode ser assegurada com a realização de um teste de RIBA suplementar. A confirmação por RIBA deve ser solicitada sempre que haja dúvida quanto ao diagnóstico do VHC como por exemplo naqueles com transaminases normais, sem exposição a fatores de risco ou nos portadores de hipergamaglobulinemia (ex.: hepatite auto-imune) (BISCEGLIE, 1998).

Detecção do RNA viral

Testes para detecção do RNA viral são particularmente úteis para confirmação do diagnóstico de hepatite por VHC em situações especiais como: janela imunológica, pacientes imunossuprimidos e sem anticorpos detectáveis pelos testes sorológicos, pacientes com infecção resolvida, porém com sorologia positiva. Os testes quantitativos são úteis na monitoração do tratamento antiviral. (PEARLMAN, 2004)

Dois métodos são disponíveis em laboratório para detecção do RNA viral: RT-PCR e TMA (Transcription-Mediated Amplification). Ambos os métodos requerem a extração do ácido nucléico viral das amostras coletadas. O princípio fundamental do PCR é a amplificação de um fragmento específico de DNA através ciclos sucessivos de multiplicação exponencial até que uma quantidade suficiente de produto seja acumulada possibilitando sua visualização. O RT-PCR envolve a transcrição reversa do RNA amostral em seu DNA complementar pela enzima transcriptase reversa. O DNA obtido é amplificado com o uso de primers específicos, baseados em seqüência gênicas altamente conservadas e uma DNA polimerase bacteriana. A reação é repetida até que o seu produto alcance um nível de detecção por método auto-radiográfico, coloração por brometo de etídio ou teste colorimétrico (GRETCH, 1997).

Apesar de bastante sensível, a falta de padronização do método confere grande variabilidade aos resultados obtidos, uma vez que cada laboratório realiza a detecção do RNA viral segundo seu próprio protocolo. Um grupo de pesquisadores avaliou a confiabilidade do exame através da análise da discrepância entre os resultados obtidos de amostras anteriormente conhecidas de VHC-RNA encaminhadas a diferentes laboratórios. Apenas 16% dos estabelecimentos testados identificaram corretamente todo o painel. Vários fatores podem ter comprometido a acurácia do exame: demora no fracionamento do soro; armazenamento em condições inadequadas, contaminação, uso de *primers* ou outros substratos ineficientes (ZAAIJER et al, 1993).

O TMA é um método altamente sensível que envolve três etapas: captura, amplificação e detecção. Baseia-se na amplificação da região conservada 5' do genoma viral. Tem a vantagem de ser realizado em um único tubo reduzindo a possibilidade de contaminação (SARRAZIN et al, 2000). Inicialmente as amostras de plasma são tratadas com agente lítico e o RNA liberado é apreendido por oligonucleotídeos complementares da região 5'. Tais complexos são capturados em micropartículas magnéticas e separados dos demais componentes por um ímã. Primers, transcriptase reversa e T7-RNA polimerase são, então adicionados para amplificar o RNA capturado. O RNA amplificado é detectado por sondas quimioluminescentes e comparado a controles internos padrões (SAWYER et al, 2000).

EPIDEMIOLOGIA

Distribuição Geográfica e Aspectos Demográficos

A infecção pelo VHC é um problema de saúde pública no Brasil e no mundo. Existe, entretanto, uma considerável variação geográfica e temporal na incidência e prevalência da infecção pelo VHC. Estudos de base populacional não foram realizados em muitas partes do mundo e grande parte dos dados epidemiológicos disponíveis são baseados na estimativa da infecção pelo VHC em doadores de sangue. Segundo a Organização Mundial de Saúde a prevalência global de hepatite C é estimada em 3 %, ou seja, existem aproximadamente 170 milhões de pessoas portadoras do vírus C no mundo. Os menores índices de prevalência e incidência de hepatite C correspondem ao Reino Unido e Escandinávia (0,01-0,1%); taxas discretamente mais elevadas ocorrem nas Américas, Europa Ocidental, Austrália e África do Sul (0,2-0,5%); taxas intermediárias estão presentes no Brasil, Europa Oriental, Mediterrâneo, Oriente Médio e Índia (1-5%) e números realmente preocupantes são vistos na Líbia (7%) e Egito (17-26%) (WASLEY e ALTER 2000, YEN et al 2003).

A incidência anual de infecção pelo VHC declinou substancialmente na última década. Esta redução deveu-se principalmente a uma triagem mais efetiva entre os doadores de sangue com a introdução dos testes sorológicos no início da década de 90 e o subsequente desenvolvimento de ensaios imunoenzimáticos progressivamente mais sensíveis. Hemoderivados obtidos a partir de *pool* de doadores como os crioprecipitados, utilizados para tratamento de hemofílicos, passaram a ser submetidos a procedimentos para inativação viral como aquecimento, pasteurização, tratamento com solventes e detergentes que quase totalmente eliminaram o risco de transmissão do VHC (MEMON et MEMON 2002).

Constatou-se, mais recentemente, uma nova tendência à elevação do número de portadores do VHC devido ao aumento do consumo de drogas injetáveis no mundo, à falta de um fator de risco identificável em até 50% dos casos dificultando as medidas preventivas e ao grande contingente de pacientes cronicamente infectados que podem servir como fonte de infecção para outros indivíduos suscetíveis (FOCACCIA et al 2002).

A natureza subclínica ou pouco sintomática da maioria dos casos de hepatite C aguda impede a determinação da verdadeira taxa de incidência e leva a uma subnotificação da doença (YEN et al 2003).

Estudos populacionais e entre doadores de sangue revelaram pelo menos três perfis epidemiológicos distintos de transmissão do VHC no mundo. No primeiro padrão, existe uma baixa prevalência do VHC em menores de 20 anos, seguida de uma elevação progressiva do número de casos na idade adulta, com a maior concentração ocorrendo entre 30 e 49 anos e um declínio acentuado entre maiores de 50 anos. Este padrão está presente nos Estados Unidos e Austrália e sugere maior transmissão do vírus em um passado recente, em torno de 10 a 30 anos atrás. O segundo padrão de prevalência idade específica mostra um pequeno contingente de portadores do vírus entre crianças e adultos jovens com elevação abrupta do número de casos entre os idosos. Esta distribuição é vista no Japão e Itália e evidencia uma maior transmissão da doença em um passado distante, em torno de 30 a 50 anos atrás. No terceiro padrão, a prevalência do VHC aumenta com a idade, porém altas taxas de positividade são observadas em todas as faixas etárias. Encontramos este padrão de distribuição no Egito onde o risco de infecção permanece muito elevado. No Egito a disseminação do VHC foi atribuída ao reuso indevido de seringas de vidro durante campanhas para tratamento em massa da esquistossomose com medicação injetável. Embora estas campanhas não existam mais, a utilização indevida de seringas de vidro, ainda

permanece como fonte de transmissão nos países em desenvolvimento. (WASLEY e ALTER 2000).

Convém ressaltar que a maioria dos pacientes cronicamente infectados se mantém assintomática e desconhece seu caráter de portador durante duas ou mais décadas após o contágio inicial até as formas mais avançadas de doença hepática, o que dificulta o trabalho de vigilância epidemiológica e facilita a disseminação do vírus.(FLAMM, 2003)

No Brasil, como em outras regiões do mundo, os estudos epidemiológicos são escassos e em sua maioria baseados na soroprevalência entre doadores de sangue nas grandes cidades e não na população geral. Estes estudos não traduzem a realidade epidemiológica do vírus C no Brasil, pois a população de doadores não reflete a população em geral no que se refere à faixa etária, distribuição por sexo, condição sócio-econômica e de infraestrutura sanitária. Os doadores são geralmente adultos jovens, saudáveis, do sexo masculino. A presença deste viés de seleção pode superestimar os resultados encontrados (FOCACCIA et al, 1998).

BRANDÃO e FUCHS, 2002, encontraram uma prevalência de 1,1 % de positividade para anti-VHC entre doadores de sangue na cidade de Porto Alegre (RS). SANTANA et al, 1995 obtiveram a taxa de 1,7% na Fundação HEMOBA em Salvador (BA). FOCACCIA et al,1998, estimaram a prevalência das hepatites virais na população em geral do município de São Paulo. Encontraram uma soroprevalência de 1,42% para o VHC sendo que a infecção foi mais freqüente entre adultos com idade superior a 30 anos com pico de 3,8% na faixa etária de 50-59 anos. ZARIFE et al, 2002, em estudo de base populacional, examinaram 1308 amostras de soro coletadas durante o “Estudo de Avaliação do Impacto sobre a Saúde do Programa de Saneamento Ambiental de Salvador e cidades do Entorno da Baía de Todos os Santos”. As amostras foram submetidas a ELISA automatizado de terceira geração e os

exames positivos foram confirmados pelo RIBA III e pela Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR). A prevalência encontrada foi de 1,5%.

A distribuição demográfica da infecção pelo VHC foi pouco estudada nas diversas regiões do mundo. Nos Estados Unidos afeta todos os grupos etários, entretanto a incidência da forma aguda é maior em indivíduos de 20 a 39 anos, do sexo masculino. A prevalência da hepatite crônica é maior em indivíduos com idade de 39 a 50 anos do sexo masculino. A prevalência da doença na população pediátrica americana está entre 0,05 a 0,4% (YEN et al 2003).

BRANDÃO e FUCHS, 2002, estudaram os fatores de risco para infecção pelo vírus C entre doadores de sangue na cidade de Porto Alegre na região sul do Brasil. O risco de infecção foi maior entre doadores de 30 a 59 anos. O grau de escolaridade foi inversamente associado a soropositividade. Pacientes analfabetos ou que freqüentaram menos de cinco anos a escola tinham uma probabilidade 3 vezes maior de serem anti-VHC positivos quando comparados com doadores de nível educacional mais elevado.

De PAULA et al, 2001, estudaram a soroprevalência das hepatites virais nas comunidades ribeirinhas na região ocidental da Bacia Amazônica e encontraram uma prevalência de 1,7 % para infecção pelo VHC. Nesta comunidade não foi observada uma correlação estatisticamente significativa entre exposição parenteral (transfusão sangüínea) e a infecção pelo VHC. Dentre os fatores de risco estudados, apenas a atividade sexual mostrou significância estatística. Os autores concluíram que devido à baixa ocorrência de exposição aos fatores de risco parenterais associados ao VHC nesta população não foi possível uma adequada avaliação destes fatores naquela comunidade (4,3% da população estudada tinha antecedente de transfusão sangüínea). Em contrapartida este fato isoladamente poderia explicar a baixa prevalência do VHC naquele grupo, cuja forma mais eficiente de transmissão é a via parenteral e mais raramente sexual.

Levantamentos epidemiológicos mostram que a hepatite C é mais prevalente em áreas industrializadas do que em áreas rurais e está associada a estilos de vida de alto risco e grupos demográficos particulares.(DI BISCEGLIE, 1998).

CHADHA et al, 1999, estudaram a prevalência do VHC na população rural em Maharash, Índia. Foram coletadas 1054 amostras de soro e testadas por RIBA para detecção de anticorpos anti-VHC. As amostras positivas foram submetidas à pesquisa de VHC-RNA por RT-PCR. Apenas um indivíduo do sexo masculino foi diagnosticado portador do vírus pelos dois métodos. Os autores concluíram que a infecção pelo VHC era pouco freqüente naquela área rural. DANIEL et al, 2004, encontraram uma prevalência de 4% de infecção pelo VHC em região urbana no mesmo país.

No Brasil, SILVA et al, 1995, compararam a prevalência de hepatite por vírus C na população urbana e rural da região nordeste do país. Foram testados 800 indivíduos procedentes de Salvador, capital do estado da Bahia e 800 procedentes de Castro Alves, no interior do mesmo estado. A pesquisa de anticorpos anti-VHC, nas amostras coletadas, foi realizada por ELISA segunda geração e confirmada por RIBA terceira geração. Dez indivíduos na população urbana (1,25%) e nenhum na população rural foram identificados como positivos confirmando a prevalência mais elevada do VHC nas grandes cidades provavelmente pelo maior nível de exposição.

Ocorre grande variação na prevalência de infecção pelo vírus C entre indivíduos expostos a diferentes fatores de risco para aquisição da doença. As maiores taxas de prevalência são encontradas entre aqueles com grandes e repetidas exposições percutâneas à sangue e hemoderivados (usuários de drogas endovenosas e hemofílicos tratados com hemoconcentrados e fatores de coagulação antes da realização de testes sorológicos para rastreamento de patógenos sangüíneos e o emprego de técnicas para inativação viral). Índices de prevalência intermediários são encontrados entre aqueles com freqüente,

porém menor exposição percutânea direta (pacientes hemodialisados). Taxas menores, porém acima da população em geral estão presentes entre aqueles com inaparente exposição percutânea e mucosa (indivíduos com antecedente de múltiplos parceiros sexuais e/ou práticas sexuais de risco, profissionais do sexo, relato de doença sexualmente transmissível, convívio intradomiciliar com portadores do vírus) e entre aqueles com pequena e esporádica exposição percutânea (profissionais de saúde) (CDC, 2001).

Em algumas partes do mundo, a exposição a patógenos transmitidos pelo sangue, durante a realização de procedimentos relacionados ao cuidado com a saúde e determinadas práticas culturais, vem sendo reconhecidos como de grande relevância na transmissão do VHC. Em muitos países em desenvolvimento o suprimento de seringas descartáveis e estéreis é insuficiente ou inexistente e a utilização inadequada de seringas de vidro está associada à transmissão do VHC. Em países como o Egito, Romênia, Moldávia e Paquistão esta forma de contágio foi bem documentada. (DARWISH et al, 1993, HUTIN et al, 1999; LUBY et al, 1997 e CDC,1999) A administração de medicação injetável por leigos com seringas compartilhadas por familiares, amigos e vizinhos, fora dos estabelecimentos de saúde, é prática culturalmente aceita em algumas regiões do mundo, sendo comum o emprego da via parenteral para medicamentos que poderiam ser ofertados por via oral (WASLEY et ALTER, 2000).

No Brasil, o uso, de complexos vitamínicos e estimulantes injetáveis pelos jogadores de futebol minutos antes dos jogos era uma prática comum nas décadas de 70 e 80. As injeções eram ministradas por profissionais não qualificados, geralmente treinadores do time. Com o objetivo de avaliar a transmissão do VHC através do uso destes medicamentos injetáveis, foram avaliados 40 ex-jogadores profissionais da cidade de Cuiabá entre os anos de 1970 e 1980. Cinco foram identificados como anti-VHC por ELISA e três foram confirmados por RIBA. A prevalência encontrada (7,5%) foi superior a

demonstrada entre os doadores de sangue da mesma região (0,9%) o que transforma ex-jogadores de futebol em um potencial grupo de risco para infecção pelo VHC (SOUTO et al, 2003).

Em outras comunidades são comuns determinadas práticas de medicina popular, como por exemplo, no Japão, a acupuntura realizada por terapeutas não licenciados, muitas vezes com instrumentos não esterilizados. Técnicas de biologia molecular evidenciaram esta forma de contágio como possível veículo de disseminação do VHC em comunidade rural no Japão (NOGUSHI et al, 1997).

Grupos e Fatores de Risco para Transmissão do Vírus C

Usuários de Drogas Endovenosas

Os usuários de drogas endovenosas são o grupo de risco de maior prevalência de infecção pelo VHC e constituem um reservatório em potencial do vírus na comunidade. Sua incidência varia de 31% a taxas tão elevadas quanto 98% nas diferentes partes do mundo (MEMON; MEMON, 2002).

Nos Estados Unidos da América o uso de drogas injetáveis é a principal via de transmissão do VHC, responsável por até 42% dos casos de hepatite C aguda (ALTER et al, 1990).

A maioria dos estudos realizados com usuários de drogas endovenosas tem demonstrado taxas de soroprevalência de 60 a 90%. A prevalência da infecção pelo VHC aumenta proporcionalmente com o período de tempo em uso das drogas injetáveis. Seis meses após o início do consumo de drogas injetáveis o índice de prevalência de infecção pelo VHC excede 75% (LAMDEN et al, 1998).

Os novos usuários têm maior probabilidade de adquirirem o VHC do que os mais antigos, com período superior a dois anos em uso de drogas endovenosas. Estes achados sugerem que a transmissão do VHC ocorre precocemente entre aqueles que iniciam o consumo de drogas endovenosas. A rápida aquisição do VHC entre os usuários de drogas endovenosas deve-se a elevada prevalência de indivíduos cronicamente infectados e a determinados comportamentos próprios a este grupo (THORPE et al, 2000).

VILLANO e al, 1997, associaram o risco de infecção pelo VHC com o hábito de compartilhar agulhas e outros equipamentos utilizados no preparo da droga. Tais equipamentos habitualmente pertencem aos usuários mais antigos e, portanto, com maior probabilidade de serem portadores do vírus. Eles são os primeiros a injetar a droga nos pontos de uso e depois emprestarem seu equipamento aos novos usuários (THORPE, 2002).

OLIVEIRA et al (1999) estudaram a prevalência e os fatores de risco determinantes das hepatites virais B, C e D entre 102 usuários de drogas endovenosas da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. Os dados obtidos confirmaram a alta prevalência das hepatites virais nesta população de elevada exposição a patógenos sangüíneos. Anticorpos anti-VHC foram detectados em 69,6% dos sujeitos testados e o RNA viral foi extraído de 70,6% das amostras soropositivas o que reforça a importância epidemiológica deste grupo como reservatório do vírus. Os fatores de risco para infecção pelo VHC foram maior período em uso de drogas injetáveis e o compartilhamento de agulhas nos últimos seis meses.

O uso de cocaína intranasal como via de transmissão do VHC ainda não foi estabelecido. Embora esta forma de transmissão seja biologicamente plausível de ocorrer através do compartilhamento de canudos contaminados com sangue, apenas um estudo sugeriu esta associação (CONRY-CANTILLENNA, 1996).

Transfusões e Transplantes

Transfusões de sangue ou hemoderivados e transplante de órgãos de doadores VHC positivos são vias eficientes de transmissão da hepatite C (ALTER et al 1995).

Entre os anos de 1985-1990 a incidência de hepatite não A - não B relacionada à transfusão sangüínea, no mundo, foi reduzida em aproximadamente 50%, devido à política de rastreamento que excluía doadores com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e com fatores de risco associados à hepatite não A – não B, inclusive elevação das transaminases (DONAHUE et al, 1992). Deste modo as taxas de transmissão que, no período anterior a 1986, eram de 5 a 13% declinaram para 1,5 a 9% entre os anos de 1986 e 1990 (JULLIEN et al, 1993).

Em 1990, com o advento da primeira geração de testes anti-VHC, e a introdução da triagem sorológica de rotina dos doadores de sangue, nos países desenvolvidos, a taxa de incidência de hepatite pós-transfusional foi novamente reduzida para valores entre 0,6 a 3% (TAKANO et al, 1996).

Em 1992 com o desenvolvimento de testes mais sensíveis, que incluíram um número maior de antígenos, o risco de infecção pelo vírus C associado à transfusão foi estimado em 0,01-0,9% por unidade transfundida (SCHREIBER et al, 1996).

No Brasil, a triagem sorológica obrigatória para o anti-VHC nos bancos de sangue foi instituída pelo Ministério da Saúde em novembro de 1993, através da portaria número 1376.

Teoricamente o risco de transmissão da hepatite C relacionado a hemotransfusão é maior no período da janela imunológica quando o indivíduo recém infectado é virêmico, porém ainda não apresentou soroconversão e os

testes imunológicos de rotina são negativos. Para a hepatite C este risco foi estimado em uma para cada 103 mil doações (SCHREIBER et al, 1996).

O período de janela imunológica para detecção do anti-VHC é de aproximadamente 70 dias. Testes para a detecção do RNA viral podem reduzir o período entre a aquisição da infecção e o seu diagnóstico laboratorial para 40 a 60 dias (DORE et al, 1997).

Pacientes que receberam fatores de coagulação preparados com plasma obtido a partir de *pool* de doadores antes que procedimentos realmente eficazes de inativação viral fossem implementados são de alto risco para hepatite C (BRETTLER et al, 1990).

MAUSER-BUNSCHOTEN et al, 1995, na Alemanha, não evidenciaram nenhuma soroconversão entre 57 pacientes que receberam fatores de coagulação entre 1989 e 1993 depois de instituído tratamento viricida de rotina para os derivados sangüíneos o que demonstrou a eficiência de tais processos na eliminação da partícula viral destes componentes.

Embora hemoderivados como a albumina e imunoglobulina para administração intramuscular não tenham sido associados à transmissão do VHC, a imunoglobulina endovenosa foi responsável por surtos de hepatite C nos Estados Unidos nos anos de 1993-1994 (BRESEE et al, 1996). A partir de dezembro de 1994, toda a imunoglobulina (endovenosa e intramuscular) comercialmente disponível nos Estados Unidos necessita ser submetida a procedimento de inativação viral para ser liberada para o consumo (CDC.MMWR,1994).

Na Irlanda ocorreram dois surtos de hepatite C relacionados ao uso de lotes contaminados de imunoglobulina anti-D. O primeiro em 1977 foi confirmado, posteriormente, através do diagnóstico retrospectivo de 100 pacientes que receberam a medicação contaminada. Estudos de detecção do RNA viral e genotipagem evidenciaram a fonte comum da infecção ao revelar que todos eram portadores do mesmo genótipo viral (tipo 1). Análise

comparativa realizada 17 anos após o evento evidenciou que a seqüência de nucleotídeos da região NS-5 do genoma amplificado de alíquotas estocadas do lote contaminado era semelhante à detectada em pacientes que receberam a medicação. (POWER et al, 1995). Um segundo surto decorreu da administração da imunoglobulina anti-D manufaturada entre 1991-1994 e transmitiu a infecção pelo VHC genótipo 3a (SMITH et al, 1999).

Estudos realizados em centros de transplante de órgãos referem que entre receptores de órgãos de doadores anti-VHC positivos 35% desenvolvem doença hepática, 50% tornam-se anti-VHC positivos e 74% passam a apresentar RNA viral identificável em testes de biologia molecular (PEREIRA et al,1992).

Hemofílicos

Pacientes com hemofilia apresentam elevado risco de infecção pelo vírus C da hepatite após transfusão sangüínea sendo que aproximadamente 100% daqueles tratados com fatores de coagulação antes da introdução dos métodos virucidas, em 1985, adquiriram hepatite pelo VHC (TAGARIELLO et al, 1995).

O espectro da doença hepática relacionada ao VHC em pacientes portadores de hemofilia varia de uma infecção assintomática à cirrose e carcinoma hepatocelular. A falência hepática ocorre, com maior freqüência, nos pacientes com co-infecção pelo HIV enquanto que nos hemofílicos HIV negativos o curso da doença hepática é geralmente mais lento (TELFER et al, 1994).

PISTELLO et al, 1994, estudaram a distribuição dos genótipos do vírus C em uma coorte de hemofílicos na Itália e a prevalência encontrada foi a mesma da população italiana em geral. Uma observação interessante foi a baixa prevalência de infecção mista por mais de um genótipo. Os hemofílicos, devido ao uso de hemoderivados obtidos a partir de *pool* de doadores, provavelmente

foram expostos a diferentes genótipos virais, porém a grande maioria exibe infecção por um único genótipo isolado. Isto poderia estar relacionado a um processo de seleção no qual um genótipo tende a prevalecer sobre os outros.

Mudança no genótipo viral tem sido descrita em hemofílicos, fenômeno este mais freqüentemente observado em pacientes HIV positivos (TAGARIELLO et al, 1995).

A epidemia de SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Humana) e hepatite C entre os hemofílicos estimulou o rápido avanço tecnológico na produção de fatores de coagulação livres de contaminação viral. Medidas de segurança incluem, atualmente, as seguintes etapas: seleção dos doadores quanto à presença de fatores de risco como uso de drogas ilícitas; triagem das amostras para detecção de anticorpos anti-virais, antígenos virais e ácidos nucleicos (HIV 1/2, HBV, VHC, VDRL) e inativação das partículas virais por meios físicos ou químicos (calor seco, solventes, detergentes, azul de metileno) (FARRUGIA, 2004).

Embora estas etapas tenham virtualmente eliminado a transmissão de HIV, hepatite B e C, existem evidências sobre a propagação, através de hemoconcentrados, de pequenos vírus sem envelope como o parvovírus B19 e o vírus da hepatite A, além de outros novos agentes resistentes aos atuais procedimentos de inativação viral. Preocupações como estas estimularam o desenvolvimento de fatores de coagulação recombinantes. O consumo de fatores de coagulação obtidos por engenharia genética encontra-se atualmente restrito a Europa e América do Norte que utilizam o correspondente a 88% do total que é produzido no mundo. Os produtos recombinantes são mais seguros e garantirão suprimento irrestrito no futuro, além da possibilidade de aperfeiçoamento tecnológico com a produção de fatores de menor imunogenicidade e melhor farmacocinética (FARRUGIA, 2004).

Hemodialisados

A prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C nos hemodialisados varia entre os diversos países e centros de hemodiálise o que reflete as diferenças no contexto epidemiológico da região, como também, evidencia os níveis distintos de aplicação das normas de controle de infecção (FABRIZI et al, 1997).

As menores taxas de prevalência do VHC entre os hemodialisados foram registradas no Reino Unido e África do Sul (1 – 5%), taxas intermediárias (10 – 50%) foram encontradas na América do Norte, Escandinávia, sul e oeste europeu e Ásia sendo que os maiores índices foram reportados na Europa Oriental (20 – 91%) (NIU et al, 1993).

Existe uma correlação direta entre o tempo em hemodiálise, o número de transfusões sangüíneas e a incidência de infecção pelo VHC (VAN DER POEL et al, 1998).

Apesar do rastreamento sorológico de rotina do sangue e hemoderivados e do uso regular da eritropoetina que reduziu o requerimento de hemotransfusões na população de renais crônicos, alguns novos casos de hepatite C continuaram a aparecer nas unidades de hemodiálise. Outros possíveis mecanismos de disseminação do VHC nestes centros foram identificados e incluem o compartilhamento de máquinas de diálise entre pacientes VHC positivos e negativos e a transmissão nosocomial pelos profissionais de saúde (PRU et al, 1994; IRISH et al, 1999).

FORNS et al, 1997, acompanharam, durante 36 meses, 114 pacientes anti-VHC negativos admitidos em programa de hemodiálise. Durante o período de seguimento oito pacientes soroconverteram. A proporção daqueles que receberam hemotransfusão e o número de unidades transfundidas não diferiu entre os VHC positivos e negativos. Amostras das unidades de sangue transfundidas foram re-examinadas e não foram detectados anticorpos anti-

VHC e nem RNA viral. O tempo médio em hemodiálise não diferiu entre os dois grupos. Não foram identificados outros fatores de risco que justificassem a aquisição do vírus fora da hemodiálise como uso de drogas endovenosas e realização de procedimentos invasivos. Entrevista detalhada realizada entre as enfermeiras da unidade revelaram a ocorrência de quebras nas normas de controle de infecção sugerindo a possibilidade de transmissão nosocomial (falha em realizar a troca de luvas em situações de urgência como sangramento da fístula arterio-venosa, ajuste da máquina de diálise com alarme acionado). Estudos de genotipagem entre os pacientes soroconvertidos evidenciaram transmissão viral entre pacientes que receberam tratamento em máquinas adjacentes, entre pacientes que utilizaram a mesma máquina em dois turnos de diálise distintos e entre outros pacientes situados aleatoriamente na unidade. Os autores concluíram que é mandatário extremo cuidado na execução das técnicas de assepsia e higiene na tentativa de se reduzir a transmissão nosocomial de hepatite C entre pacientes hemodialisados.

No Brasil, CARNEIRO et al, 2001, estudaram a prevalência e os fatores de risco associados à hepatite C em oito clínicas de hemodiálise na cidade de Goiânia, situada na região centro-oeste do país. A prevalência global encontrada foi de 46,7% e variou de 20,7% a 90,4% nas diversas unidades. A análise dos fatores de risco relacionados à positividade para o VHC nesta população evidenciou que transfusões de sangue antes de 1993, quando foi instituída pelo Ministério da Saúde a triagem obrigatória para hepatite C nos bancos de sangue no Brasil, o tempo em hemodiálise e a realização do tratamento em mais de um centro foram associados à maior probabilidade de aquisição da infecção.

BUSEK et al, 2002, avaliaram os aspectos epidemiológicos das hepatites B e C nas diferentes unidades de hemodiálise da cidade de Belo Horizonte (MG), região sudeste do Brasil. A soroprevalência de hepatite C nos centros estudados variou de 11,1% a 26,5% e os fatores de risco associados a maior

probabilidade de infecção foram: número de pacientes por unidade de diálise, período de tempo em hemodiálise, número de clínicas em que realizou o tratamento, número de unidades de sangue transfundidas e baixo nível de escolaridade.

SANTANA et al, 2001, determinaram a prevalência do anti-VHC nos pacientes submetidos a programa de hemodiálise em 10 Unidades de Nefrologia da cidade de Salvador, Bahia, no período de outubro de 1992 a março de 1994. A pesquisa do anti-VHC foi realizada por ELISA II com confirmação pelo RIBA III. A prevalência encontrada foi de 23,8% com freqüências que variaram de 0% a 44,8% nas diferentes unidades. O maior número de transfusões, o tempo em programa dialítico e a elevação das transaminases se relacionaram a um maior risco de infecção pelo VHC.

SILVA et al, 2003, atualizaram a prevalência de hepatite C na população de hemodialisados da cidade de Salvador, Bahia. Encontraram uma prevalência global de 12,6% que variou de 4,4% a 22,4% nas diversas unidades estudadas. Em comparação ao estudo realizado na década de 90, foi observado um importante aumento no número de pacientes em tratamento renal substitutivo que passou de 412 para aproximadamente 1200, enquanto a proporção de pacientes anti-VHC positivos diminuiu significativamente de 23,8% para 12,6%. Esta redução confirma a eficácia das medidas de controle de transmissão da hepatite C implementadas desde os anos 90.

Exposição Ocupacional

Profissionais de saúde que trabalham com sangue e derivados têm um maior risco de contrair o VHC assim como outros patógenos. A proporção de hepatite C atribuída à exposição ocupacional, entretanto, é pequena e tem mostrado pouca variação temporal e geográfica. Estudos revelam que prevalência de hepatite C entre aqueles que sofrem exposição ocupacional ao VHC não é maior que a encontrada na população geral nativa (GERMANAUD et al, 1994; PURO et al, 1995).

Grupos profissionais de alto risco para hepatite C incluem: cirurgiões, obstetras, técnicos e enfermeiros de hemodiálise, odontólogos, funcionários do Pronto Socorro e da Unidade de Terapia Intensiva. (TOKARS et al, 1998; PANLILIO et al, 1995, GERBERDING, 1994; NIU et al, 1993; SHAPIRO et al, 1996).

Os fatores de risco relacionados à transmissão nosocomial do VHC envolvem: o tipo de agulha (sólida versus oca); a frequência da exposição ocupacional ao sangue; o tipo de paciente (com infecção aguda versus portador crônico) e a prevalência do vírus C entre os pacientes atendidos (MEMON et MEMON, 2002; POLISH et al, 1993).

A soroconversão após acidente com instrumento perfuro-cortante ocorre em aproximadamente 1,8%(0 – 7%) dos casos. (PURO et al, 1995; PETROSILLO et al, 1994). Dois estudos prospectivos realizados no Japão revelaram uma taxa de soroconversão de 3,3% e 5,6% entre 90 e 56 profissionais de saúde vítimas de acidentes com perfuro-cortante, respectivamente (SODEYAMA et al, 1993; ARAI et al 1996).

A transmissão do VHC por sangue contaminado em contato com a conjuntiva tem sido descrita, porém a transmissão através da pele lesionada não foi reportada (SARTORI et al, 1993).

O risco de transmissão do VHC de um profissional de saúde infectado para seu paciente parece ser muito baixo.(CDC, MMWR47 RR-19, 1998).

ESTEBAN et al, 1996, documentaram a transmissão de hepatite C de um cirurgião torácico para cinco pacientes, mas não identificaram os fatores que poderiam ter contribuído para que isto ocorresse.

Transmissão Perinatal

A exposição perinatal contribui em uma pequena proporção para a disseminação da infecção pelo VHC e sua freqüência não parece sofrer alteração geográfica ou temporal (GIACCHINO et al, 1995). Estudos indicam que a transmissão perinatal ocorre exclusivamente quando a mãe exibe viremia detectável por ocasião do parto (GRANOVSKY et al, 1998; KUDESIA et al 1995).

O risco de transmissão do VHC para crianças filhas de mães portadoras de hepatite C, HIV negativas gira em torno de 6% (variando de 0 – 42%), porém aumenta para 17% (variando de 8,5 - 44%) quando a mãe apresenta co-infecção pelo HIV. São poucos os estudos na literatura que correlacionaram o tipo de parto e a forma de aleitamento com o risco de transmissão perinatal do VHC (SABATINO et al, 1996; CATALANO et al, 1999).

GRANOVSKY et al, 1998, acompanharam 122 mães VHC positivas e sua prole para estimar a taxa transmissão vertical e identificar os possíveis fatores de risco envolvidos. Sete (6%), das 122 crianças foram infectadas pelo VHC. Alguns aspectos obstétricos e características maternas mostraram uma tendência a aumentar o risco de transmissão sem, entretanto alcançar significância estatística. Tais fatores foram: co-infecção pelo HIV, mãe com elevada carga viral e parto vaginal.

KUMAR et SHAHUL, 1998, acompanharam 65 puérperas anti-VHC positivas, assintomáticas, e sua prole com o objetivo de avaliar o papel do aleitamento materno na transmissão do VHC. A análise do leite materno evidenciou a presença de anticorpos anti-VHC e RNA viral em todas as amostras de colostro coletadas no quinto dia após o parto, porém com títulos bem inferiores aos encontrados no soro. Amostras de sangue de todas as crianças foram coletadas ao nascimento e com um, três, seis, nove e 12 meses de idade. Todas as crianças foram amamentadas. No terceiro mês após o parto, cinco genitoras desenvolveram doença hepática sintomática sendo que três das respectivas crianças desenvolveram hepatite viral aguda. Foram realizados estudos de genotipagem e seqüenciamento viral que evidenciaram elevada homologia (>97%) entre os pares. Os autores concluíram que entre mães assintomáticas o aleitamento materno é seguro, entretanto entre aquelas com doença hepática sintomática e elevada carga viral a amamentação deve ser contra-indicada devido ao potencial risco de transmissão da hepatite C.

Transmissão domiciliar (intrafamiliar)

Estudos apontam associação entre o contato domiciliar não sexual e a transmissão de hepatite C. A positividade para o anti-VHC é cinco a dez vezes maior nos indivíduos que moram com pacientes portadores do vírus do que na população em geral (MEMON et MEMON, 2002).

O mecanismo de transmissão domiciliar é especulativo e inclui a exposição percutânea e permucosa direta ou inaparente ao sangue e outros fluidos corpóreos contendo o vírus através do hábito de compartilhar escovas de dente, alicates e tesourinhas de unha, giletes e outros utensílios de higiene pessoal (DIAZ MORANT et al, 1997).

CAPORASO et al, 1998, conduziram um extenso estudo epidemiológico no qual 1.379 contactantes domiciliares de 585 pacientes portadores de hepatite C foram submetidos à sorologia para detecção de anticorpos anti-VHC. A prevalência global para o anti-VHC foi de 7,3% (15,6% entre os cônjuges e 3,2% entre os outros familiares).

AKERMAN et al, 2000, em revisão sistemática da literatura evidenciaram maior risco de transmissão domiciliar do VHC para seguintes grupos: irmãos e contatos domiciliares de pacientes com doença hepática crônica, prole de portadores do VHC em áreas endêmicas e esposas de portadores do vírus. Não foi demonstrado risco de transmissão do VHC para os pais de crianças portadoras do vírus assim como, para irmãos e contatos domiciliares de pacientes em terapia renal substitutiva anti-VHC positivos. O risco de disseminação familiar do VHC correlacionou-se com a gravidade da doença hepática no caso index, com o número de membros da família infectados pelo VHC, com o período de exposição ao paciente index e com a existência de contato sexual.

Atividade Sexual

A importância da atividade sexual na transmissão do VHC permanece controversa. As evidências epidemiológicas indicam que o VHC pode ser transmitido pelo contato sexual, porém de forma muito menos eficiente que outras viroses sexualmente transmissíveis como o vírus da hepatite B e o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Entretanto, como sexo é um comportamento comum e muito freqüente e o reservatório de pessoas infectadas pelo vírus é grande, o contato sexual parece contribuir para a disseminação da doença (TERRAULT, 2002).

Para que a transmissão sexual do VHC seja possível é preciso que secreções corporais que contenham o vírus ou sangue infectado sejam

veiculadas através das superfícies mucosas. A presença do vírus nas secreções (sêmen, secreção vaginal, saliva e sangue menstrual) é necessária, porém não suficiente para que a transmissão ocorra. Outros fatores a serem considerados são: o título do vírus nas secreções, a integridade das superfícies mucosas e a presença de outras infecções concomitantes (LERUEZ-VILLE et al, 2000; MANAVI et al, 2002).

CASSUTO et al, 2002, avaliaram a presença do VHC em 50 amostras de sêmen coletadas de 35 homens portadores de hepatite crônica com replicação viral ativa confirmada por RT-PCR. O VHC-RNA foi detectado em sete das 50 amostras de sêmen obtidas de cinco dos 35 homens testados, porém com títulos inferiores a 600UI/ml.

CAPELLI et al, 1997, evidenciaram a soroconversão de uma doadora de sangue cujo único fator de risco para hepatite C era o parceiro sexual portador do vírus. Exames de genotipagem e seqüenciamento viral revelaram altas taxas de similaridade entre o casal (93,4%). Relatos como este indicam que a transmissão sexual do VHC pode ocorrer, porém não quantificam a magnitude e a importância epidemiológica desta via de contágio.

TERRAUT, 2002, em trabalho de revisão, aponta vários erros metodológicos que tenderam a superestimar a proporção de infecção pelo VHC atribuída ao contato sexual nos estudos iniciais: uso de testes sorológicos de primeira geração com grande proporção de falsos positivos, falha em excluir outras fontes de transmissão e finalmente poucos estudos onde técnicas de biologia molecular avaliaram a concordância entre os casais.

Estudos de prevalência em populações com diferentes tipos de comportamento sexual identificaram dois grupos de risco distintos: o primeiro mais promíscuo com antecedentes de múltiplos parceiros sexuais (prostitutas, homossexuais masculinos, pacientes atendidos em clínicas de doenças sexualmente transmissíveis, pacientes provenientes de locais de referência para tratamento do HIV) e o segundo, composto por casais heterossexuais

monogâmicos estáveis. No primeiro, os levantamentos epidemiológicos registram taxas mais elevadas de prevalência do VHC enquanto no segundo a prevalência é mais baixa (EDELNYI-PINTO et al, 1993).

Entre os indivíduos com comportamento sexual de risco, estudos epidemiológicos apontam uma prevalência de positividade para o anti-VHC em torno de 6% entre prostitutas, 4% entre homossexuais masculinos e 4% entre pacientes atendidos em serviços de referência para doenças sexualmente transmissíveis e HIV (FELDMAN et al, 2000; THOMAS et al, 1995; OSMOND et al, 1993; WYLD et al, 1997 e WU et al 1993).

Estudos que avaliaram a prevalência do VHC entre casais heterossexuais monogâmicos estáveis, nos quais foram realizados genotipagem e seqüenciamento para avaliar a concordância e origem filogenética das cepas isoladas em cada parceiro estimam uma prevalência de infecção de 2,8% a 11% no sudeste asiático (KAO et al, 1996 e SUN et al, 1999), 0% a 6,3% na Europa (NEUMAYIR et al, 1999 e STROFFOLINI et al, 2001) e 2,7% nos EUA (TERRAULT, 2002).

No Brasil, TENGAN et al, 2001, avaliaram a soroprevalência para hepatite C entre os parceiros sexuais estáveis de doadores de sangue identificados como anti-VHC positivos em triagem sorológica de rotina efetuada pela Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo. Para o rastreamento sorológico foram utilizados ELISA II e RIBAIII. Dos parceiros testados 11,76% exibiram sorologia positiva. Neste estudo não foram realizadas técnicas de biologia molecular para avaliação da concordância entre os casais.

CARVALHEIRO, em tese de doutorado defendida em 2004 na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, estudou a transmissão de hepatite C entre 24 casais heterossexuais onde ambos os cônjuges eram infectados pelo VHC. O diagnóstico da infecção foi realizado por ELISA de terceira geração e pela detecção da partícula viral circulante por RT-PCR. Dos 24 casais estudados 22 tinham o mesmo subtipo viral e a análise filogenética de

parte da região NS5b mostrou altos índices de homologia (93,0% a 99,4%) entre as seqüências virais analisadas dando suporte a hipótese de transmissão sexual. Um questionário padrão e entrevista foram usados para a coleta dos dados sobre a exposição a fatores de risco para a aquisição da doença e o comportamento sexual dos participantes. A análise dos dados obtidos evidenciou que o compartilhar de utensílios de higiene pessoal foi bastante freqüente sendo que apenas um casal (4,2% da casuística estudada) não compartilhou pelo menos um de seus utensílios de higiene pessoal o que dificultou a interpretação em relação a transmissão sexual do VHC.

É bem estabelecido que entre parceiros heterossexuais o HIV é mais transmissível que o VHC. Embora a transmissão sexual do VHC seja menos freqüente, ela se torna mais provável entre pessoas com parceiros co-infectados pelo HIV (EYSTER et al, 1991).

O mecanismo através do qual o HIV aumenta o risco de transmissão sexual do VHC é desconhecido. A infecção pelo HIV em portadores de hepatite C está associada a uma carga viral mais elevada do VHC-RNA, progressão mais rápida para a cirrose, insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular (SULKOWSKI et al, 2003).

EYSTER et al, 1994, reportaram títulos mais elevados de VHC-RNA entre os hemofílicos HIV positivos quando comparados aos HIV negativos. Talvez os maiores níveis de viremia do VHC nos pacientes HIV positivos estejam relacionados a maior transmissibilidade da doença para seu cônjuge neste grupo. Temos, ainda que a co-infecção pelo HIV está associada a maior prevalência de positividade para anti-VHC entre os indivíduos com comportamento sexual de risco (HERSHOW et al, 1998).

Devemos lembrar que a co-infecção HIV-VHC é comum uma vez que ambas compartilham as mesmas vias de transmissão. Nos Estados Unidos e na Europa, 15% a 30% dos pacientes HIV positivos são, também portadores do vírus C (SHERMAN et al, 2002).

Objetivos

Objetivos:

- **Principal**

Determinar a prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) nos cônjuges dos pacientes anti-VHC positivos submetidos à hemodiálise.

- **Secundário**

Avaliar a prevalência e o perfil genotípico do VHC na amostra estudada.

Métodos

Métodos

Amostra

Foram avaliadas amostras de pacientes anti-HCV positivos procedentes de duas clínicas de hemodiálise do estado da Bahia, uma localizada em Feira de Santana e outra em Salvador.

Em junho de 2003, período em que foi iniciada a coleta de dados do presente estudo, 355 pacientes encontravam-se inscritos no programa de hemodiálise da Clínica Senhor do Bonfim - Feira de Santana. Cinquenta e quatro (15,21%) eram anti-VHC positivos conforme os testes sorológicos realizados de rotina por determinação do Ministério da Saúde. Destes 32 eram casados ou mantinham relacionamento heterossexual estável há mais de seis meses e foram convidados a participar do estudo. Seis pacientes se recusaram, porém os outros 26 restantes concordaram e foram submetidos à coleta de sangue e trouxeram seus respectivos cônjuges para realizar o mesmo, após assinatura do consentimento livre e esclarecido. Os 26 renais crônicos anti-VHC positivos formaram 25 casais para estudo uma vez que um casal foi constituído por dois pacientes em hemodiálise enquanto os outros 24 foram compostos por um paciente em tratamento dialítico e outro não.

A unidade de diálise localizada na cidade de Salvador contava, no mesmo período, com um total de 241 pacientes dos quais 22 (9,13%) tinham sorologia positiva para o vírus da hepatite C. Destes 12 por serem casados ou manterem relacionamento heterossexual estável há mais de seis meses foram considerados elegíveis para o presente estudo e convidados a participar do mesmo. O termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido de um total de nove casais que foram, então submetidos à coleta de sangue.

Crítérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos no presente estudo:

1. Os pacientes anti-VHC positivos em hemodiálise na Clínica Senhor do Bonfim, em Salvador e Feira de Santana, com relacionamento heterossexual estável há pelo menos seis meses e seus respectivos cônjuges.
2. Os casais que após a leitura do termo de consentimento livre e esclarecido concordaram em participar do estudo e formalizaram sua aceitação através da assinatura do mesmo.

Foram excluídos do presente estudo:

1. Os pacientes anti-VHC negativos.
2. Os pacientes anti-VHC positivos solteiros, com relacionamentos heterossexuais eventuais ou com tempo de convivência menor que seis meses.
3. Os casais que após leitura do termo de consentimento livre e esclarecido não concordaram em participar do estudo.

Entrevista

Os pacientes e seus respectivos cônjuges foram entrevistados utilizando-se um questionário padronizado sobre os dados demográficos e fatores de risco para aquisição do VHC (documento em anexo). Os dados relevantes utilizados nas análises deste trabalho foram: idade, sexo, tempo de convivência, frequência das relações sexuais mantidas pelo casal e uso de preservativo. Foram avaliados, também, outros fatores de risco para hepatite C como transfusão de sangue, uso de drogas injetáveis e inalatórias, acupuntura e tatuagem. Os casais foram questionados quanto ao comportamento sexual atual e pregresso como sexo com prostitutas, antecedente de doenças sexualmente transmissíveis e relacionamento homossexual. Foram coletadas informações sobre o uso compartilhado de utensílios de higiene pessoal como escova de dentes, lâmina de barbear, cortador de unhas e alicate de manicure.

Coleta de sangue

As amostras de sangue foram coletadas pela equipe de enfermagem responsável pela assistência dos pacientes nas duas clínicas, obedecendo às normas de biossegurança e de assepsia, visando evitar a contaminação do indivíduo, dos coletadores e das amostras de sangue. Todo o material utilizado no processo da coleta foi descartável.

Nos hemodialisados, as alíquotas foram obtidas por ocasião da punção do acesso vascular para terapia dialítica sempre na primeira sessão da semana antes da administração da heparina para evitar resultados falsos negativos devido à presença de componentes inibidores da Reação em Cadeia da Polimerase. Os cônjuges foram convidados a comparecer à clínica para coleta do sangue em veia periférica, no mesmo horário de diálise de seu companheiro

para favorecer o transporte das amostras. Os 10 ml de sangue coletados de cada paciente e seu respectivo cônjuge foram imediatamente transportados em tubos de ensaio sem anticoagulante, acondicionados em recipiente térmico, com gelo, para o Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). No laboratório as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos em centrífuga refrigerada e o soro obtido foi em seguida estocado a -70°C até sua manipulação. As alíquotas não foram descongeladas mais de uma vez antes da análise para evitar a degradação do RNA.

Sorologia

Conforme a Resolução-RDC número 154 de 15 de junho de 2004 que regulamenta os procedimentos em clínicas de diálise as sorologias para as hepatites B e C são realizadas na admissão do paciente ao programa dialítico e repetidas trimestralmente nos primeiros dois anos e depois semestralmente nos pacientes suscetíveis. Os resultados positivos são confirmados por RIBA. Desta forma, o diagnóstico sorológico dos pacientes em hemodiálise já era disponível em cada centro. Na CSB-Feira de Santana foi utilizado o método imunoenzimático de segunda geração (ELISA) conforme orientações do fabricante (Wiener) no Laboratório José Fontes. Em Salvador, foi utilizado o ELISA de terceira geração e o laboratório LABOCLIN foi o responsável pelo processamento das amostras.

Com o objetivo de assegurar a padronização da metodologia empregada e dos resultados, a sorologia dos pacientes foi confirmada por ELISA de terceira geração no Laboratório Central de Saúde Pública Gonçalo Moniz (LACEN)

A sorologia dos cônjuges também foi realizada no LACEN e utilizou o método imunoenzimático de terceira geração (ELISA - terceira geração).

O ELISA dos cônjuges cujo resultado se mostrou positivo, foi repetido em uma segunda amostra de soro e posteriormente submetido a teste confirmatório utilizando o RIBA 3.0 da CHIRON, que consiste de um imunoblot enzimático qualitativo para detecção de anticorpos para proteínas específicas do vírus da hepatite C (anti-VHC) no soro ou plasma humano. O teste de terceira geração utiliza antígenos recombinantes do VHC (C33c e NS5) e peptídeos sintéticos (c100p, 5-1-1p, e c22p), imobilizados como bandas individuais dentro de fitas de nitrocelulose. Inicialmente as amostras a serem testadas são diluídas e incubadas com as fitas. Anticorpos específicos para o VHC, se presentes, se ligam aos antígenos recombinantes e/ou peptídeos sintéticos correspondentes, presentes nas fitas. A remoção de componentes inespecíficos presentes no soro é realizada através de aspiração e lavagem. Posteriormente as fitas são incubadas na presença do conjugado anti-IgG humana-peroxidase. O conjugado se liga à imunoglobulina humana (IgG) do complexo antígeno-anticorpo. A remoção do conjugado não ligado é realizada por decantação e lavagens sucessivas. Finalmente, um sistema de detecção colorimétrico composto por peróxido de hidrogênio e 4-cloro-1-naftol é adicionado. Se o conjugado ligado estiver presente, a reação enzimática produzirá uma reação colorida insolúvel azul enegrecida para cada antígeno específico do VHC, peptídeo ou banda controle. Os padrões de bandas que aparecem em cada fita são resultado de anticorpos específicos que se ligaram a cada antígeno recombinante e/ou peptídeos sintético presentes na fita. A reatividade das amostras para cada banda é determinada pela comparação visual da intensidade dessa reação com a reação das bandas de controle interno de IgG humana, baixo e alto presentes em cada fita. A interpretação do resultado como negativo, indeterminado ou positivo é baseada no padrão de reação presente na fita, conforme as orientações do fabricante.

Exames Moleculares

Os exames utilizando técnicas de biologia molecular para detecção do RNA viral nas amostras de soro dos pacientes anti-VHC positivos e seus respectivos cônjuges foram realizados por RT-PCR no Laboratório de Patologia e Biologia Molecular (LPBM) do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz. A técnica consistiu em extração do VHC-RNA do soro e síntese do DNA complementar, amplificação e genotipagem.

Extração do VHC-RNA, síntese do DNAC e amplificação

Este processo foi realizado em quatro etapas: extração, precipitação e purificação, pareamento com primers inversos e transcrição reversa (RT) para a síntese do DNA complementar do VHC-RNA (VHC-cDNA) e amplificação.

O VHC-cDNA foi preparado em duplicata de diferentes alíquotas da mesma amostra, em experimentos separados. Durante o pareamento e transcrição reversa foram utilizados *random primers* de forma a permitir a identificação de diferentes regiões do genoma viral sem a necessidade de nova re-extração. Este procedimento acoplou uma única extração aos métodos de detecção do genoma viral e genotipagem.

Durante a extração o RNA viral foi separado da maioria dos contaminantes orgânicos pela adição de uma mistura desnaturante de fenol, tiocianato de guanidina, clorofórmio e álcool isoamílico de acordo com o protocolo descrito a seguir. Duzentos microlitros do soro a ser testado foram adicionados a 355 microlitros do reagente Trizol LS (Invitrogen Life Technologies, CA, USA) segundo as instruções do fabricante e a 35 microlitros de clorofórmio/álcool isoamílico 24:1. Após centrifugação a 12000 rpm por 10

minutos a baixa temperatura a fase aquosa superior contendo o RNA solubilizado foi transferida para um tubo limpo contendo 700 microlitros de etanol a 100% e 30 microlitros de acetato de sódio 3 M. Nestas condições o RNA foi precipitado após período de incubação de 20 minutos à baixa temperatura (-20C). As amostras foram, então, centrifugadas durante 20 minutos a 12000rpm à temperatura de 4C. Durante a precipitação, os contaminantes de baixo peso molecular solúveis (sais, monômeros, etc...) são eliminados enquanto o RNA fica cristalizado no fundo do tubo. Os ácidos nucléicos precipitados foram lavados com 1 ml de etanol a 80% em água DEPC (água ultrapura tratada com dietilpirocarbonato) e centrifugados durante 5 minutos a 12000 rpm à temperatura de 4C.. A fase alcoólica foi desprezada. e uma segunda lavagem, desta vez com etanol a 100%, foi realizada para facilitar a secagem efetuada mantendo-se o tubo aberto e emborcado sobre uma superfície absorvente durante 15 minutos.

Após a extração o RNA-VHC foi imediatamente transcrito. A transcrição reversa foi obtida através da adição de 8,5 microlitros de água DECP, 0,7 microlitros de inibidor de RNase 40U/microlitro, 5 microlitros do tampão 5X, 1 microlitro do random primer 50 pmoles/microlitro, 2,5 microlitros dNTPs 10 mM, 2,5 microlitros de DTT 0,1M e 0,7 microlitros de transcriptase reversa MMLV 200U/microlitro. O produto final foi incubado à temperatura de 37C durante 1 hora e 30 minutos. Posteriormente, a desnaturação da transcriptase reversa foi realizada através do aquecimento da solução a 95C por 10 minutos.

A amplificação foi realizada pela técnica acoplada de RT-nested-PCR utilizando "primers" deduzidos da região 5'NC, descrita por CHAN et al, 1992.

O produto final da amplificação foi visualizado através de luz ultravioleta após eletroforese em gel de agarose a 1,5% em TAE (Tris-EDTA-Ácido-acético), corado com brometo de etídio. As amostras foram misturadas ao tampão de carreamento e aplicadas no gel. A corrida foi processada durante 30'

a 1 hora em 80-100V. O gel foi fotografado no Sistema Eagle Eye (Stratagene, EUA), utilizando o método dinâmico de integração de imagem.

A positividade da amostra, ou seja, a presença de fragmentos amplificados foi evidenciada com a visualização de uma banda fluorescente localizada a altura 251 bp. Durante todos os experimentos foram utilizadas amostras positivas e negativas previamente avaliadas como controles.

Amostras com VHC-RNA indetectável, conforme a técnica RT-PCR descrita anteriormente, foram extraídas duas vezes em experimentos diferentes. Quando a amostra coletada de paciente anti-VHC positivo evidenciou viremia indetectável pela técnica de RT-PCR descrita, uma segunda amostra de sangue foi coletada um ano depois da primeira se o paciente permanecesse em tratamento na mesma unidade de diálise, para evitar resultados falsos negativos associados a viremia intermitente.

Genotipagem

Os produtos amplificados pela técnica descrita anteriormente foram submetidos a análise do polimorfismo do tamanho dos fragmentos de DNA após digestão com enzimas de restrição (RFLP) pelo método descrito por Davidson et al em 1995. Nesta técnica, 25 microlitros do RNA - VHC amplificado é submetido a digestão por enzimas de restrição durante 4 - 16 horas após ajuste com o tampão 10X apropriado para cada enzima. As reações ocorrem a 37°C na presença de 10 unidades de cada enzima (a) Rsa I e Hae III, (b) Hinf I e Mva I (c) ScrFI ou (d) BstUI. O resultado combinado dos cortes com estas enzimas foi necessário para identificação dos genótipos uma vez que permitiu o reconhecimento de determinados polimorfismos na seqüência das bases nitrogenadas que caracterizam os subtipos virais. Como exemplo temos que no subtipo 1a a posição 99 (Choo et al, 1991) é ocupada pela adenosina (A) enquanto no subtipo 1b é ocupada pela guanina (G). Esta associação apesar de

bastante freqüente não é absoluta e quando presente permite o reconhecimento pelas enzimas de restrição BstUI e Mvnl.

Os fragmentos de restrição foram visualizados através de luz ultravioleta após eletroforese em gel de agarose Metaphor a 4% (BMA, ME, USA) contendo 0,5 microgramas/ml de brometo de etídio em tampão 1x Tris-borato. Este método permite a identificação de todos os seis genótipos e pelo menos seis subtipos (1a, 1b, 2a, 2b, 3a e 3b). de acordo com a classificação de Simmond's.

Análise Estatística

Foi realizada análise descritiva dos dados demográficos dos pacientes e respectivos cônjuges separadamente. Os dados contínuos foram descritos pelas suas medidas de tendência central (médias e medianas) e medidas de dispersão (desvios padrões e intervalos de confiança). As variáveis qualitativas foram descritas em suas proporções.

Para comparação de proporções foi empregado o teste exato de Fisher.

A análise estatística foi desenvolvida com a utilização de um programa estatístico (GraphPad Prism4.03, GraphPad Software, San Diego-California USA).

Aspectos Éticos

Este estudo segue as recomendações da Resolução 196/96 que regulamenta as pesquisas em seres humanos no país. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Osvaldo Cruz.

Todos os sujeitos selecionados para o estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes da sua participação.

Resultados

Prevalência de anti-VHC positivo entre os pacientes hemodialisados

De acordo com os testes sorológicos realizados a prevalência de anti-VHC positivo entre os pacientes em hemodiálise na unidade de Feira de Santana foi de 15,21% (54 soropositivos em 355 pacientes). Em Salvador esta taxa foi de 9,13% (22 soropositivos em 241 pacientes). ($p < 0,03$). A prevalência global para os dois centros foi de 12,75%.

Características sócio-demográficas

Conforme os critérios estabelecidos anteriormente, na casuística do presente trabalho, foram estudados 34 casais heterossexuais, monogâmicos estáveis, dos quais um dos cônjuges apresentava sorologia positiva para hepatite C e realizava tratamento hemodialítico.

A idade mediana dos 34 pacientes renais crônicos foi de 39 anos enquanto que a média e respectivo desvio padrão foram de $43,38 \pm 12,31$ anos. Entre os cônjuges a idade mediana foi de 38 anos com média e respectivo desvio padrão de $41,16 \pm 12,8$ anos.

Em relação à distribuição por sexo, temos que o grupo de pacientes foi constituído por 18 homens e 16 mulheres, enquanto entre os cônjuges obtivemos a proporção inversa de 18 mulheres e 16 homens. Um dos casais estudados foi composto por ambos pacientes portadores de insuficiência renal, em tratamento hemodialítico sendo que na descrição e análise dos dados um foi classificado no grupo dos pacientes e o outro no grupo dos cônjuges. Dos pacientes, 15% eram analfabetos, 52% tinham ensino fundamental incompleto; 18% haviam cursado o ensino fundamental; 12% tinham ensino médio e 3% nível superior. Em relação aos cônjuges 15% eram analfabetos; 58% tinham

ensino fundamental incompleto; 15% cursaram o ensino fundamental e 12% cursaram o ensino médio. Os dados estão sumarizados na tabela abaixo:

Tabela 1 - Características sócio-demográficas e escolaridade dos pacientes e cônjuges - CSB Feira de Santana/Salvador – 2003.

	Pacientes	Cônjuges
Idade		
Mediana	39	38
Média ± DP	43,38±12,31	41,16±12,8
Gênero		
Masculino	18	16
Feminino	16	18
Escolaridade%		
Analfabetos	15	15
Fundam. Incomp.	52	58
Fundamental	18	15
Médio	12	12
Superior	3	0

Dos casais estudados, nove residiam em Salvador, nove em Feira de Santana e 16 em outras cidades no interior do estado da Bahia.

A renda familiar mediana relatada pelos casais foi de R\$ 480,00, com valor mínimo mencionado de R\$ 100,00 e máximo de R\$ 2.200,00.

O número de habitantes por domicílio variou de dois a 12 indivíduos, com mediana de três e média de $4,06 \pm 2,29$. Os dados encontram-se resumidos na Tabela 2.

Tabela 2 - Procedência e dados socioeconômicos dos casais - CSB Feira de Santana/Salvador – 2003

Procedência	
Salvador	9
Feira de Santana	9
Outras	16
Renda Familiar (R\$)	
Mediana	480
Mínimo-Máximo	100-2200
Media \pm DP	490,7 \pm 416,7
Habit/Domicílio	
Mediana	3
Mínimo-Máximo	2-12
Media \pm DP	4,06 \pm 2,29

Dos 34 pacientes em tratamento dialítico o tempo médio em terapia renal substitutiva mencionado pelo próprio paciente e posteriormente confirmado nos registros em prontuário foi $95,76 \pm 40,09$ meses com mediana de 93 meses, período mínimo de 22 meses e máximo de 198 meses. (Gráfico 1).

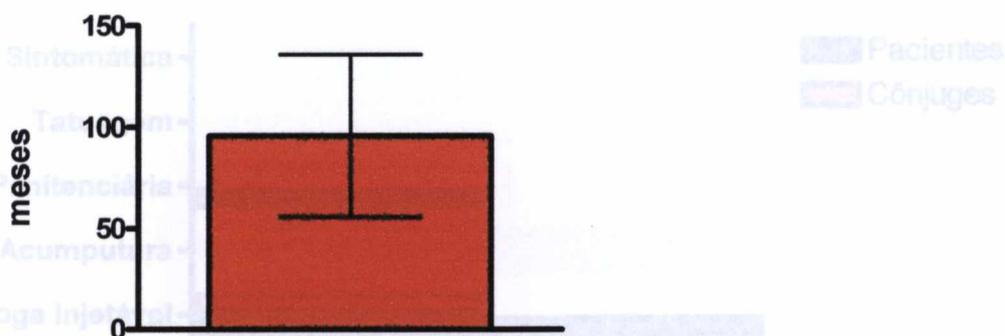


Gráfico 1: Tempo dos pacientes em tratamento hemodialítico.

A proporção de pacientes hemotransfundidos foi de 88,32%(30) sendo que destes, doze receberam 10 ou mais unidades de hemoderivados e 18 menos de 10. Vale ressaltar que 10 pacientes foram hemotransfundidos antes de 1993 quando foi instituída a triagem sorológica obrigatória para hepatite C nos bancos de sangue. Apenas o cônjuge que realiza hemodiálise tem passado de hemotransusão, no caso mais de dez unidades. (Gráfico 2)

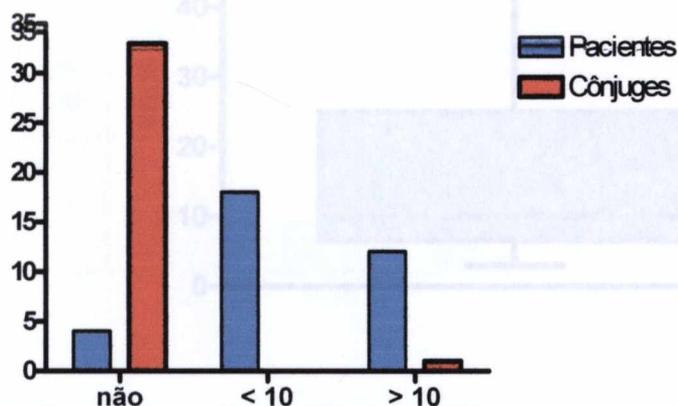


Gráfico 2 :Número de pacientes e cônjuges submetidos a hemotransfusões

Dois pacientes e um cônjuge referiram uso de droga injetável sendo que ninguém em nossa casuística relatou uso de droga inalatória. Um paciente referiu permanência em presídio. Nenhum paciente ou cônjuge era tatuado, havia se submetido à acupuntura, fora exposto no ambiente de trabalho a patógenos sangüíneos, ou apresentara hepatite sintomática. (Gráfico 3)

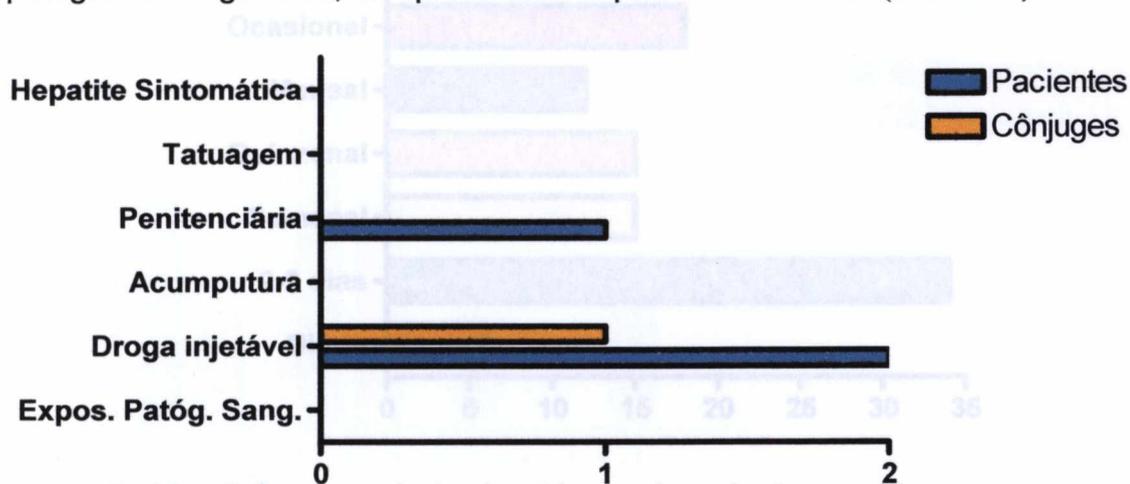


Gráfico 3: Fatores de risco para aquisição do VHC.

No grupo de pacientes, 75,7% referiram antecedente de até cinco parceiros sexuais. O tempo médio de convivência referido pelos os casais foi de $16,55 \pm 13,71$ anos com mediana de 10 anos variando de três a 52 anos. (Gráfico 4)

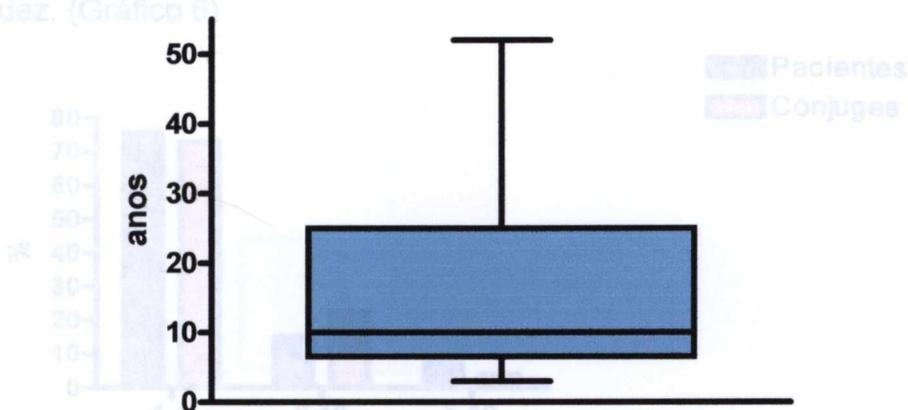


Gráfico 4: Tempo de convivência dos casais

No que concerne a frequência das relações sexuais relatadas pelos casais 6% (2) referiram relações diárias; 15%(5) relações semanais, 34% (12) relações a cada dois ou três dias; 15% (5) relações quinzenais; 12%(4) relações mensais e 6 (18%) relações ocasionais.(Gráfico 5)

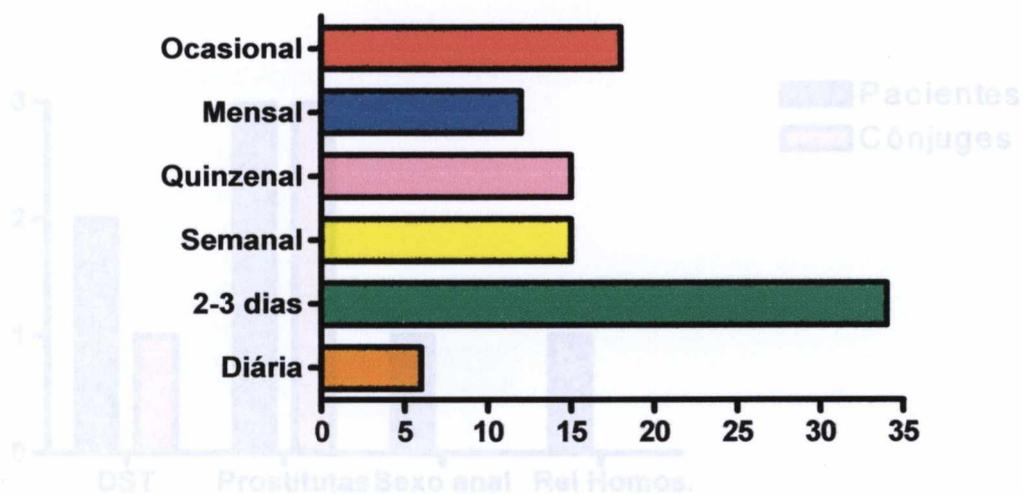


Gráfico 5: Percentuais das frequências das relações sexuais

No grupo de pacientes, 75,7% referiram antecedente de até cinco parceiros sexuais; 15,15% de seis a dez e 9,1% mais de dez parceiros. Dos cônjuges, 73% tiveram até cinco parceiros sexuais; 23% de seis a dez e 4% mais de dez. (Gráfico 6)

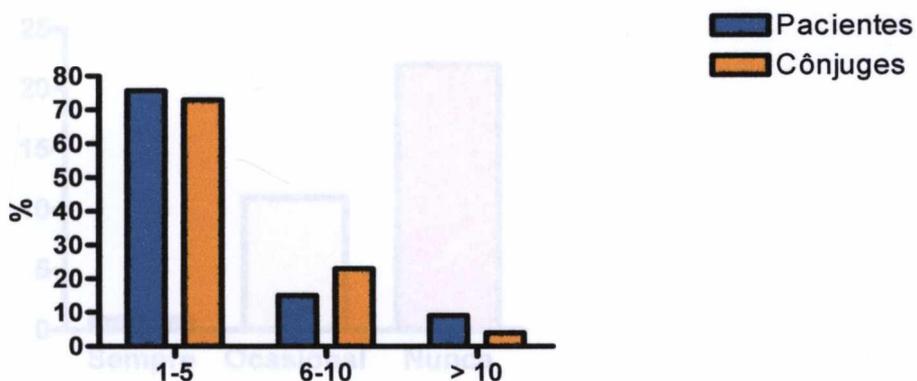


Gráfico 6: Proporções de pacientes e cônjuges em relação ao número de parceiros sexuais

Três pacientes e três cônjuges referiram sexo com prostitutas. Dois pacientes e um cônjuge tinham história pregressa de doenças sexualmente transmissíveis. Sexo anal foi referido por apenas um paciente. Da mesma forma relação homossexual foi relatada por um paciente e nenhum cônjuge. (Gráfico 7)

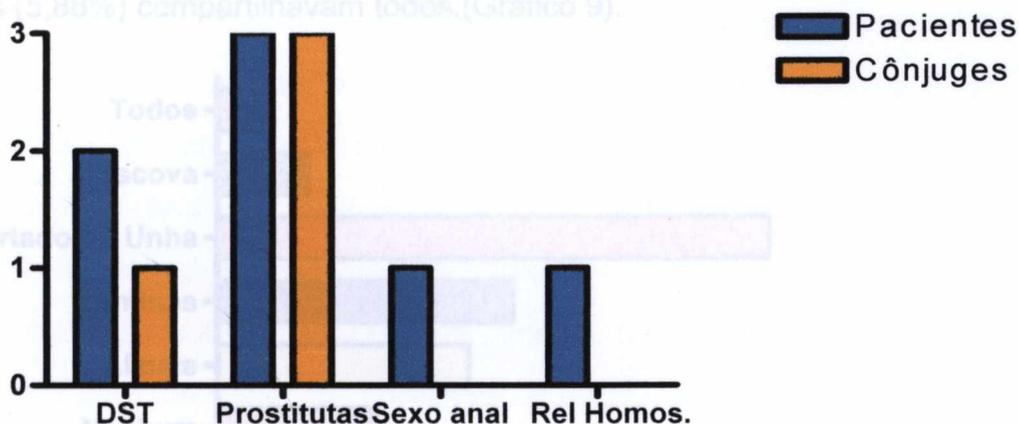


Gráfico 7: Antecedentes de DST e comportamento sexual

Vinte e dois casais nunca faziam uso de preservativo; 11 faziam uso de forma esporádica e um fazia uso regular. (Gráfico 8)

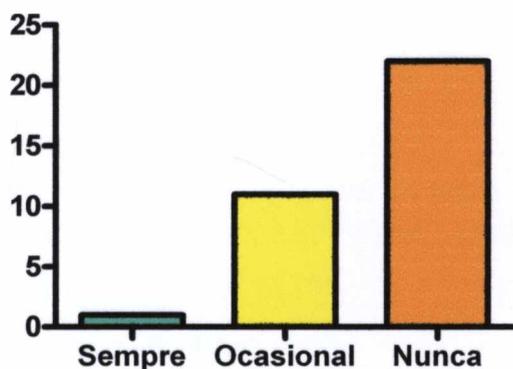


Gráfico 8: Frequência do uso de preservativos.

O compartilhamento de utensílios de higiene pessoal foi muito freqüente. Quatro casais (11,76%) mencionaram o uso comum de escovas de dente. Treze casais (38,23%) compartilhavam a mesma lâmina de barbear; 11 (32,53%) o mesmo alicate de unha e 24(70,58%) o mesmo cortador de unha. Sete (20,58%), não compartilhavam nenhum dos objetos de higiene pessoal e dois (5,88%) compartilhavam todos.(Gráfico 9).

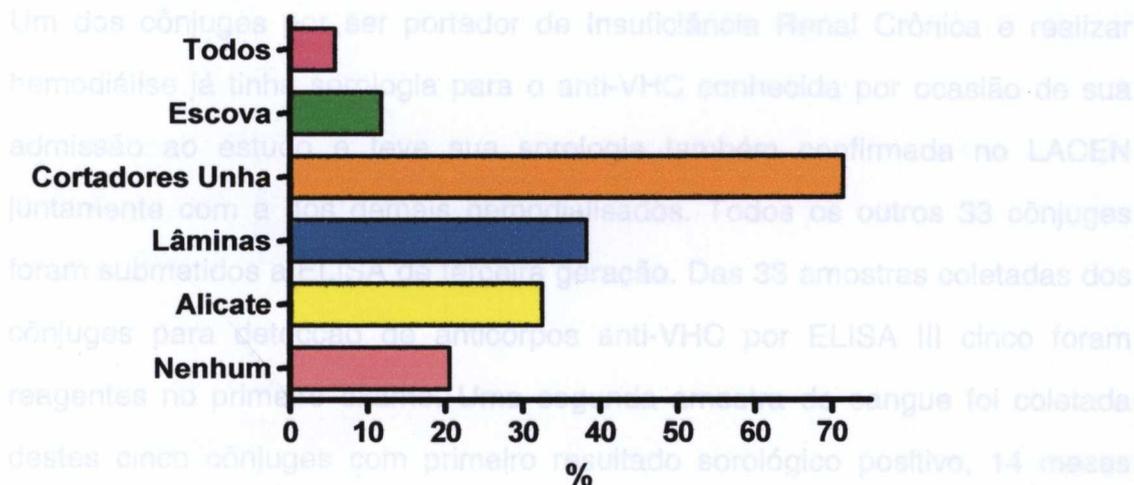


Gráfico 9: Proporção dos casais que compartilham objetos de higiene pessoal

Tabela 3 - Sorologia dos cônjuges com primeiro resultado de ELISA reagente - CSU Feira de Santana/Salvador - 2003 a 2004

CÔNJUGES	1º ELISA	2º ELISA	RIBA
1	R- 1,33	NR-0,43	NEGATIVO
2	R-1,22	NR- 0,3	NEGATIVO
3	R-5,09	R- 4,35	INDETERMINADO
4	R-4,12	NR- 0,31	NEGATIVO
5	R-2,21	NR - 0,63	NEGATIVO
6	Reagente

Sorologia

Conforme anteriormente mencionado o *status* sorológico dos pacientes era previamente conhecido e consistiu em critério de inclusão. Visando a padronização da metodologia a sorologia dos 34 pacientes foi repetida e confirmada no LACEN sem discordância em relação aos resultados anteriores. Um dos cônjuges por ser portador de Insuficiência Renal Crônica e realizar hemodiálise já tinha sorologia para o anti-VHC conhecida por ocasião de sua admissão ao estudo e teve sua sorologia também confirmada no LACEN juntamente com a dos demais hemodialisados. Todos os outros 33 cônjuges foram submetidos a ELISA de terceira geração. Das 33 amostras coletadas dos cônjuges para detecção de anticorpos anti-VHC por ELISA III cinco foram reagentes no primeiro exame. Uma segunda amostra de sangue foi coletada destes cinco cônjuges com primeiro resultado sorológico positivo, 14 meses depois, para confirmação através de novo ELISA III e RIBA. No segundo exame de ELISA, quatro das amostras inicialmente positivas negativaram e somente uma permaneceu positiva. O RIBA das quatro amostras que negativaram o ELISA foi negativo porém na amostra que permaneceu positiva, o resultado do RIBA indeterminado. O RIBA foi realizado com as duas amostras de cada indivíduo.(TABELA 3)

Tabela 3 - Sorologia dos cônjuges com primeiro resultado de ELISA reagente - CSB Feira de Santana/Salvador – 2003 a 2004

CÔNJUGES	1º ELISA	2º ELISA	RIBA
1	R- 1,33	NR-0,43	NEGATIVO
2	R-1,22	NR- 0,3	NEGATIVO
3	R-5,09	R- 4,35	INDETERMINADO
4	R-4,12	NR- 0,31	NEGATIVO
5	R-2,21	NR - 0,63	NEGATIVO
6	Reagente	*-	*-

Biologia Molecular

Dentre os 34 pacientes estudados, 26 (76,47%) tiveram viremia identificada por RT-PCR na primeira amostra coletada. Os pacientes com viremia indetectável na primeira amostra e que permaneceram em diálise na Clínica Senhor do Bomfim, foram submetidos a uma segunda coleta de sangue 12 meses após a primeira. Destes seis pacientes submetidos à nova coleta, dois tiveram viremia demonstrada pelo segundo exame. Os genótipos virais identificados no grupo de pacientes foram estão sumarizados no gráfico abaixo:

(Gráfico 10)

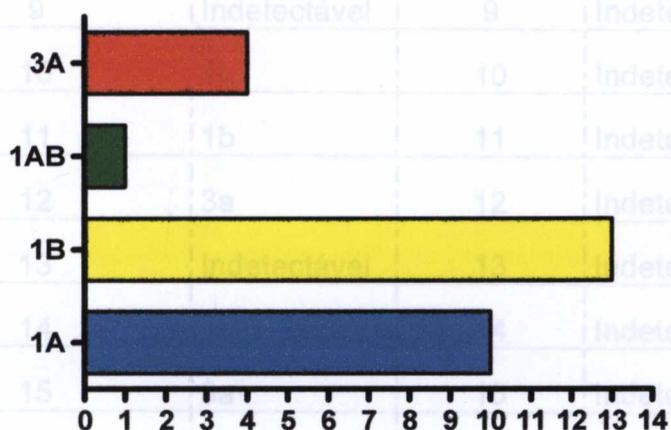


Gráfico 10: Perfil genotípico dos pacientes

O cônjuge portador de IRC em hemodiálise apresentou viremia detectável e o subtipo viral identificado foi o 3.

A descrição pormenorizada dos resultados de RT-PCR e genotipagem dos pacientes em diálise na unidade de Feira de Santana e seus respectivos cônjuges encontram-se melhor detalhados na tabela a seguir. (Tabela 4)

Tabela 4 - Resultados de RT-PCR e Genotipagem casais - CSB Feira de Santana – 2003 a 2004

Pacientes - FSA	Genótipo	Cônjuge	Genótipo
1	1b	1	Indetectável
2	1a	2	Indetectável
3	1b	3	Indetectável
4	1a/1b	4	Indetectável
5	1b	5	Indetectável
6	1b	6	Indetectável
7	Indetectável	7	Indetectável
8	1b	8	Indetectável
9	Indetectável	9	Indetectável
10	1b	10	Indetectável
11	1b	11	Indetectável
12	3a	12	Indetectável
13	Indetectável	13	Indetectável
14	1a	14	Indetectável
15	3a	15	Indetectável
16	1a\1b	16	Indetectável
17	1b	17	Indetectável
18	Indetectável	18	Indetectável
19	1b	19	Indetectável
20	1b	20	Indetectável
21	1a	21	Indetectável
22	3a	22	3
23	1b	23	Indetectável
24	Indetectável	24	Indetectável
25	Indetectável	25	Indetectável

Do mesmo modo os resultados de RT-PCR e genotipagem dos pacientes em tratamento em Salvador estão descritos na tabela abaixo.(Tabela 5)

Tabela 5 - Resultados de RT-PCR e Genotipagem casais - CSB Salvador – 2003 a 2004

Pacientes -SSA	Genótipo	Cônjuges	Genótipo
1	3	1	Indetectável
2	1a	2	Indetectável
3	1	3	Indetectável
4	1a	4	Indetectável
5	1	5	Indetectável
6	Indetectável	6	Indetectável
7	1b	7	Indetectável
8	Indetectável	8	Indetectável
9	1b	9	Indetectável

Discussão

Discussão

Considerações gerais sobre a prevalência e perfil genotípico do VHC na amostra estudada

Nossa casuística evidenciou uma maior soroprevalência para o anti-VHC na unidade de Feira de Santana (15,21%) em relação a Salvador (9,13%) em aparente discordância com os dados obtidos por SILVA et al, 1995, que encontraram uma maior prevalência do VHC na capital em relação ao interior do estado.

Nossos dados reforçam a proposição de que a prevalência do VHC nos diferentes centros de diálise nem sempre refletem unicamente o contexto epidemiológico da região e sim traduzem um conjunto de aspectos próprios, responsáveis pela disseminação viral naquele meio uma vez que em nossa casuística a prevalência da unidade localizada no interior do estado foi maior que a da capital. Neste caso cabe salientar que a unidade de Feira de Santana foi fundada em 1980 antes do diagnóstico sorológico da hepatite C e é bem anterior a unidade de Salvador fundada em 1992 quando este diagnóstico já era disponível. Por ser anterior ao diagnóstico sorológico da hepatite C os pacientes mais antigos de Feira de Santana, com mais de 12 anos de diálise, estavam expostos a um risco muito maior de aquisição do VHC por hemotransfusão e por transmissão nosocomial o que explicaria o maior contingente de soropositivos nesta unidade.

Por outro lado, como a unidade de Feira de Santana dialisa um número maior de renais crônicos, nossos dados estão de acordo com o evidenciado por BUSEK e al, 2002 que encontraram uma relação direta entre o número de pacientes por unidade e a proporção de anti-VHC positivos.

Em nossa amostra uma grande proporção dos pacientes anti-VHC positivos tiveram viremia identificada por RT-PCR sendo que 26 já na primeira amostra e 2 em uma segunda coleta realizada 12 meses após a primeira num total de 82,35% (28/34) de pacientes com infecção viral ativa. O genótipo 1 foi o mais prevalente, identificado em 24 pacientes (85,71%) seguido pelo genótipo 3 identificado em 4 pacientes (14,29%).

SILVA et al, 2003 estudando a população de hemodialisados anti-VHC positivos da cidade de Salvador evidenciou viremia por RT-PCR em 73,6% (92/125) dos pacientes estudados. Da mesma forma o genótipo 1 foi o mais freqüente (77,9%) seguido pelo genótipo 3 (10,5%) e genótipo 2 (4,6%), este último não identificado em nossa amostra.

CODES et al, 2003, estudando o perfil genotípico dos pacientes atendidos no ambulatório de doenças hepáticas do Hospital da Universidade Federal da Bahia encontrou uma proporção de 66,1% de portadores do genótipo 1 (30,7% genótipo 1a e 35,4% 1b) e 33,9% de portadores do genótipo 3a. Apesar de o genótipo 1 ter sido o mais freqüente, do mesmo modo que o evidenciado em nossa série, o genótipo 3 foi altamente prevalente na região e aparentemente não esteve relacionado ao uso de drogas endovenosas.

ZARIFE em estudo de base populacional realizado na cidade de Salvador, ao contrário dos estudos anteriores e de nossa casuística, onde foram avaliados grupos de risco com elevada prevalência do VHC, encontrou um predomínio do genótipo 3 seguido pelos genótipos 1 e 2. Levando-se em

conta que um estudo de base populacional não compartilha do viés de seleção dos estudos anteriores, é provável que traduza mais fielmente o perfil genotípico da região. Mais uma vez temos reforçada a idéia de que a prevalência dentro dos centros de hemodiálise nem sempre refletem o contexto epidemiológico da região.

BUSEK et al, 2002, avaliaram a soropositividade para infecção pelo VHC entre os hemodialisados na cidade de Belo Horizonte e encontraram uma prevalência global de 20,3%. O RNA viral foi identificado em 94,3% dos pacientes anti-VHC positivos. O genótipo 1 foi o mais comum (66,3%) seguido pelo genótipo 2 (24,1%) e pelo genótipo 3 (7,2%). O genótipo 4 foi isolado em um único paciente (1,2%).

Nossa preocupação com a determinação do perfil epidemiológico dos genótipos virais advem do fato de que os mesmos têm implicação direta na terapêutica e no prognóstico destes pacientes. Estudos demonstram que pacientes com genótipo 1 apresentam resposta viral sustentada em 42% a 46% dos casos e necessitam de 48 semanas de terapia medicamentosa enquanto pacientes com genótipos 2 e 3 têm taxas de resposta viral sustentada de 78 a 82% e necessitam de apenas 24 semanas de tratamento medicamentoso (STEVEN et FLAMN, 2003).

Nos pacientes renais crônicos devemos considerar outro aspecto muito importante. Nos casos de transplante renal a imunossupressão utilizada acelera a história natural da infecção pelo VHC, principalmente os corticosteróides e anticorpos antilinfocitários que aumentam a replicação viral e estão associados a uma evolução mais rápida para a cirrose. Desta forma a identificação do genótipo, a biópsia hepática e o tratamento antiviral estão indicados para todos os pacientes com viremia positiva no pré-transplante (MANFRO et al , 2004).

Em nossa casuística a quase totalidade dos pacientes, 88,32% (30/34 pacientes) tinha antecedente de hemotransfusão. Destes, 12 receberam mais de 10 unidades de hemoderivados e 10 foram hemotransfundidos antes de 1993 quando a triagem sorológica obrigatória para hepatite C foi instituída nos bancos de sangue no Brasil. O tempo em terapia dialítica relatado e confirmado nos prontuários foi longo, com média de $95,76 \pm 40,09$ meses, mínimo de 22 meses e máximo de 198 meses.

Dezesseis dos 34 pacientes receberam tratamento dialítico em mais de um centro. Vale considerar que exceto pelas hemotransfusões e pelo próprio tratamento dialítico apenas três pacientes relataram exposição a outros fatores de risco para aquisição do VHC, dois haviam usado drogas endovenosas e um tinha antecedente de permanência em penitenciária. Nenhum paciente era tatuado ou fora submetido a acupuntura.

Em consonância com nossa casuística, MEMON et MEMON, 2001 em trabalho de revisão apontaram uma correlação direta entre a duração do tratamento hemodialítico, o número de hemotransfusões e a incidência de infecção pelo VHC na população de renais crônicos. Referiram ainda que outros possíveis mecanismos de transmissão incluíam o compartilhamento das máquinas de diálise entre pacientes VHC positivos e negativos e a transmissão nosocomial pela equipe de saúde.

WASLEY et ALTER, 2000, também em artigo de revisão, afirmaram a existência de correlação entre o maior número de anos em diálise e a positividade para o anti-VHC. Ressaltaram a ocorrência de surtos de hepatite C devido a falhas na implementação dos procedimentos de controle de infecção como compartilhamento de equipamentos e materiais não devidamente

desinfetados e o compartilhamento de medicações como a heparina, cujos frascos contém múltiplas doses do medicamento.

YEN et al, 2003, em estudo sobre a epidemiologia da hepatite C comentaram que em adição ao número de transfusões, outros fatores de risco específicos incluíam o tempo em hemodiálise e a modalidade dialítica. O risco de aquisição do VHC em hemodiálise foi estimado em 10% ao ano sendo que para aqueles em diálise peritoneal, o período em tratamento dialítico não representaria um risco.

No Brasil, CARNEIRO et al, 2001, estudaram a prevalência e os fatores de risco para hepatite C na população de hemodialisados da cidade de Goiânia. Identificaram que o número de hemotransfusões, transfusões realizadas antes da triagem sorológica obrigatória para o anti-VHC, tempo em hemodiálise e tratamento em múltiplas unidades de diálise associaram-se a maior probabilidade de positividade para o VHC.

Verificamos, portanto, que em nossa série assim como em outros estudos os antecedentes de múltiplas transfusões, transfusões antes de 1993 e o tempo de permanência em hemodiálise se constituíram em fatores de risco para aquisição de hepatite C. Não podemos afastar a possibilidade de transmissão nosocomial tendo em vista que muitos pacientes compartilham o mesmo genótipo viral. Estudos de seqüenciamento viral e análise filogenética seriam úteis em confirmar esta proposição.

Considerações sobre a prevalência do VHC entre os casais estudados tendo em vista os exames sorológicos e de biologia molecular

Dos 34 cônjuges submetidos ao diagnóstico sorológico e molecular de hepatite C seis apresentaram resultado de ELISA terceira geração positivo na primeira coleta de sangue. Exceto pelo cônjuge que também realizava hemodiálise os outros cinco não tinham outro fator de risco para aquisição de hepatite C além do fato de serem parceiros sexuais estáveis de paciente anti-VHC positivo em hemodiálise. Antes mesmo de confirmarmos estes resultados sorológicos iniciais observamos se os cinco pacientes em hemodiálise, parceiros monogâmicos estáveis dos cônjuges com primeiro resultado de ELISA III positivo, apresentavam viremia detectável por RT-PCR condição necessária para aventarmos a possibilidade de transmissão sexual. Verificamos então que nestes cinco casos a viremia foi demonstrada.

Tal aspecto assume importância uma vez que estudos evidenciaram que a ocorrência que do VHC no sêmen, secreção cervical e sangue menstrual foi observada numa pequena proporção de pacientes com viremia sérica detectável.

LERUEZ et al, 2000, pesquisaram a presença do VHC-RNA em amostras de sêmen de 21 portadores do vírus. Foram realizadas modificações na técnica de RT-PCR para diminuir o efeito dos inibidores da amplificação viral presentes no líquido seminal. O VHC-RNA foi detectado em 8 das 21 amostras de sêmen testadas. A carga sérica viral dos pacientes com sêmen positivo era mais elevada que dos pacientes com sêmen negativo. Os autores concluíram que a presença do VHC-RNA no sêmen era um argumento favorável à transmissão

sexual do VHC, ponderaram, entretanto, que a baixa carga viral detectada no sêmen reduzia o risco de transmissão sexual.

CASSUTO et al, 2002, detectaram o VHC-RNA em 14% de 50 amostras de sêmen testadas. Da mesma forma que os autores anteriores, a carga viral das amostras de sêmen positivas foi baixa. Com base nestes achados os autores postularam que o risco da transmissão sexual existe, porém é pequeno, o que está em consonância com os dados epidemiológicos.

MANAVI et al, 2002 detectaram o VHC-RNA por RT-PCR em oito de 22 amostras (36,4%) de secreção cervical obtidas em exame de rotina de pacientes anti-VHC positivas com viremia presente.

Os cinco cônjuges com ELISA positivo na primeira amostra de sangue e sem outros fatores de risco para hepatite C exceto parceiro sexual portador do VHC foram submetidos a nova coleta, aproximadamente 12 meses após a primeira para confirmação dos resultados encontrados no primeiro exame através de novo ELISA terceira geração e RIBA. Não obstante o resultado destas cinco amostras terem sido positivos na primeira avaliação, em três os valores de DO/CO (densidade óptica da amostra/medida do cutoff) foram baixos sugerindo a possibilidade de falso positivo. O ELISA realizado na segunda amostra manteve-se positivo em apenas um dos cônjuges, justamente aquele com maior valor de DO/CO no primeiro exame. O RIBA destas cinco amostras foi negativo para os quatro cônjuges que negativaram o ELISA e indeterminado para a única amostra que permaneceu positiva no segundo ELISA.

A falta de acurácia que ocorre em relação à especificidade do ELISA III tem sido reportada na literatura. COLIN et al, 2001 em uma análise da literatura sobre a sensibilidade e especificidade dos ensaios imunoenzimáticos de terceira geração utilizados no diagnóstico da hepatite C referem que resultados

falso positivos nos testes de ELISA III podem ocorrer devido a um aumento das gamaglobulinas (africanos e descendentes, mieloma, fator reumatóide), doenças hepáticas (cirrose, câncer), doenças auto-imunes (colagenoses, hepatite auto-imune), outras infecções virais (HIV, hepatite B) e amostras de soro estocadas por um longo período de tempo em temperatura variável. Segundo os mesmos autores a classificação dos resultados indeterminados obtidos por RIBA como falsos positivos ou verdadeiros positivos é uma questão que ainda merece discussão especialmente nos pacientes de baixo risco.

Uma possível explicação para a diferença encontrada nos resultados do primeiro e segundo ELISA seria o fato das primeiras amostras terem permanecido congeladas por longo período antes da realização dos testes sorológicos. As alíquotas de soro permaneceram no Laboratório de Pesquisa e Biologia Molecular (LPBM) do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz por aproximadamente 10 meses onde foram inicialmente descongeladas para realização do RT-PCR e depois encaminhadas ao LACEN para realização dos testes sorológicos.

A prevalência final de anti-VHC positivo na população de cônjuges com base no segundo teste de ELISA foi de 5,88%(2/34). Ambos os cônjuges em questão eram do sexo feminino o que de alguma forma estaria em consonância com os dados de literatura que evidenciam uma maior probabilidade de transmissão das viroses sexualmente veiculadas no sentido homem-mulher, talvez pela ocorrência de lesões mucosas durante o intercuro sexual (TOMMY et al 2003).

A primeira esposa anti-VHC positiva no teste de ELISA teve resultado de RIBA indeterminado e viremia indetectável por RT-PCR. Como ponderado

anteriormente a interpretação do RIBA indeterminado é discutível. Poderíamos analisar o conjunto destes resultados basicamente de duas formas.

Na primeira estaríamos diante de um ELISA falso positivo e na segunda estes resultados indicariam uma infecção resolvida pelo VHC com títulos residuais de anticorpos (MEISEL et al, 1995). Reforçando a segunda interpretação temos que o sexo feminino, a faixa etária jovem e determinados alelos HLA estão associados a maior probabilidade de cura espontânea da viremia após episódio de hepatite C aguda (PEARLMAN, 2004). Vale a pena citar que a cónyuge em questão tinha 27 anos de idade por ocasião da coleta de sangue e realização da entrevista.

A segunda esposa anti-VHC positiva não necessitou confirmação sorológica por RIBA, pois apresentou viremia detectável por RT-PCR. O genótipo encontrado foi o 3, o mesmo de seu respectivo cónyuge. Neste caso, entretanto, a cónyuge apresentava outros fatores de risco para hepatite C, inclusive exposição parenteral ao VHC por ser ela própria hemodialisada e ter recebido mais de 10 unidades de hemoderivado. Como a maioria das evidências revela que o VHC é mais facilmente e rapidamente veiculado pela via parenteral que pela via sexual (FELDMAN et al, 2000) concluímos que a possibilidade de transmissão sexual seria menos provável neste caso, porém não nula. Contrapondo a maior possibilidade de aquisição do VHC por hemotransfusão ou transmissão nosocomial dentro da unidade de diálise temos que a cónyuge em questão apresentou infecção pelo genótipo mais raro, identificado em apenas quatro dos 28 pacientes com viremia detectável porém concordante com o de seu marido. Não obstante, temos ainda que sua soroconversão ocorreu após o casamento com o caso índice, já portador de hepatite C. O seqüenciamento viral e a análise filogenética seriam úteis em

demonstrar a origem comum da infecção no caso de serem encontradas elevadas taxas de similaridade.

Como em outras pesquisas nossos resultados mostraram uma pequena soroprevalência de anti-VHC positivos (5,88%) numa coorte composta pelos cônjuges de pacientes soropositivos em hemodiálise. Se a cônjuge com história de exposição parenteral (transfusão sangüínea e hemodiálise) for excluída a prevalência de anti-VHC positivo cai para 2,94%. Se levarmos em consideração que este único cônjuge sem história de exposição a outros fatores de risco parenterais para aquisição de hepatite C teve resultado de RIBA indeterminado e PCR indetectável, as evidências de transmissão sexual neste grupo tornam-se bastante questionáveis. Estes dados reforçam a literatura que, em sua maioria, concluem ser a transmissão heterossexual do VHC possível, porém rara entre parceiros sexuais monogâmicos estáveis.

Conforme já mencionado, TERRAULT, 2002, em trabalho de revisão, citando dados de estudos de soroprevalência que utilizaram genotipagem e seqüenciamento na avaliação da concordância entre os casais, estimou uma prevalência de VHC entre casais heterossexuais monogâmicos de 2,8% a 11% no sudeste da Ásia, de 0% a 6,3% no norte europeu e 2,7% nos Estados Unidos. No sudeste da Ásia a prevalência do VHC é maior e a exposição a outras fontes externas como acupuntura, medicamentos injetáveis no âmbito familiar talvez interfiram com interpretação dos resultados em relação a transmissão sexual de genótipos concordantes (NEUMAYR et al 1999).

AKARSU et al, 1999 avaliaram a positividade para o anti-VHC nos cônjuges de 82 pacientes anti-VHC positivos em hemodiálise. A sorologia resultou positiva em quatro dos parceiros (4,8%), uma taxa consideravelmente superior a da população local, estimada em 1,5%.

CAPORASO et al, 1998 estudando a transmissão domiciliar da hepatite C avaliaram 1379 contactantes familiares de 585 pacientes VHC-RNA positivos portadores de hepatopatia crônica confirmada histologicamente por biópsia hepática. A prevalência global de hepatite C nos familiares testados foi de 7,3%, sendo 15,6% nos cônjuges e 3,2% em outros parentes. Cônjuges com convívio superior a 20 anos tiveram prevalência significativamente maior (19,8% vs 8.0%; $p < 0,05$).

NEUMAYR et al, 1999, investigaram a soroprevalência do VHC em 80 cônjuges de pacientes portadores do vírus. Anticorpos foram identificados em cinco parceiros sendo que três tiveram viremia detectável. Estudos de genotipagem revelaram concordância em dois casais indicando um risco de transmissão para o cônjuge de 2,5%.

Estudos prospectivos que avaliaram a incidência de hepatite C nos cônjuges de portadores do VHC são unânimes em atribuir um pequeno risco de transmissão da doença.

KAO et al, 2000, conduziram um estudo prospectivo com objetivo de definir o risco de transmissão do VHC entre casais discordantes. Cento e doze pacientes portadores de hepatite crônica pelo vírus C e seus respectivos cônjuges soronegativos foram acompanhados por um período médio de 45,9 meses. Testes sorológicos para determinação do anti-VHC e de biologia molecular para identificação do RNA viral foram realizados anualmente. Soroconversão ocorreu em apenas um caso dois anos após o seguimento. Tanto o paciente como seu cônjuge apresentavam infecção pelo mesmo genótipo viral (1b). A comparação entre a seqüência de nucleotídeos da região hipervariável do genoma viral mostraram homologia de 98% e a análise

filogenética confirmou a origem comum da cepa isolada. De acordo com os dados obtidos, o risco anual de transmissão do VHC foi de 0,23% ao ano.

BROOK, 2002, em estudo de revisão sobre transmissão das hepatites virais concluiu que o VHC é sexualmente transmissível, porém a taxas relativamente baixas de 0,5 a 2% ao ano. Considerou taxas de transmissão mais elevadas para os cônjuges de pacientes com co-infecção pelo HIV.

MARINKOVICH et al, 2003, seguiram uma coorte composta por 171 indivíduos, 152 mulheres e 19 homens, que inicialmente não apresentavam infecção pelo VHC ou HIV, porém cujo parceiro heterossexual estável era portador das duas viroses. A cada seis meses informações sobre aspectos clínicos, epidemiológicos e sobre comportamentos de risco foram coletadas bem como, sorologia para as duas viroses. O período de seguimento foi de janeiro de 1991 a dezembro de 2001, porém considerando a janela imunológica os últimos testes sorológicos foram efetuados em julho de 2002. Durante este período 31 mulheres ficaram grávidas e uma soroconversão para HIV ocorreu em um parceiro do sexo feminino. Não houve transmissão do VHC entre os casais estudados. Os autores concluíram que os resultados obtidos não poderiam excluir a possibilidade de transmissão sexual do VHC, entretanto sugeriram que este mecanismo seria ineficiente mesmo em casos de co-infecção pelo HIV.

VANDELLI et al, 2004, avaliaram o risco de transmissão sexual do VHC entre 895 cônjuges monogâmicos heterossexuais estáveis de pacientes cronicamente infectados. O período de seguimento de 776 casais foi de 10 anos sendo que 119 parceiros de pacientes que eliminaram o vírus após tratamento ou que se separaram ou que ainda perderam seguimento contribuíram com 300 pessoas/ano para o cálculo do período de observação.

Ocorreram três infecções pelo VHC o que corresponde a uma taxa de incidência de 0,37 por 1000 pessoas/ano. Entretanto, o genótipo de um dos cônjuges foi diferente do exibido pelo seu parceiro (2a x 1b), excluindo a possibilidade de transmissão sexual. Os dois casais restantes tinham genótipos concordantes, porém o seqüenciamento da região NS5b do genoma viral em associação a análise filogenética evidenciaram que os respectivos cônjuges eram portadores de isolados virais diferentes, excluindo novamente a possibilidade de transmissão sexual.

Como se observa, a prevalência de hepatite C nos parceiros sexuais de pacientes anti-VHC positivos evidenciada nos estudos transversais e a incidência demonstrada nos estudos prospectivos é pequena, o que se encontra em consonância com os resultados obtidos no presente trabalho.

Considerando a coorte estudada poderíamos argumentar que por se tratar de casais nos quais um dos parceiros encontra-se acometido por insuficiência renal crônica e não raramente por outras comorbidades como hipertensão arterial poderiam ter uma vida sexual menos ativa o que contribuiria para reduzir o risco de transmissão sexual na amostra estudada. Nossos dados contradizem este argumento, pois apenas seis casais (18%) relataram relações sexuais ocasionais, ou seja, muito raras ou ausentes por longos períodos sendo que a grande maioria (34%) referiu relações cada 2/3 dias.

A comparação com outros dados da literatura mostra que mesmo sendo portadores de uma patologia crônica apresentam média de relações sexuais semelhantes a outros grupos pesquisados como a média citada por VANDELI et al, 2004 de 1,8 intercursos sexuais por semana.

ABDO, 2004, estudou o comportamento sexual do brasileiro e observou a frequência média de uma relação sexual a cada dois ou três dias, muito semelhante à encontrada em nosso estudo.

Como já citado alguns autores consideram que o risco de transmissão do VHC para o cônjuge heterossexual estável correlaciona-se diretamente com a duração do relacionamento. Quanto mais longo maior o risco de transmissão (ACKERMAN et al, 2000).

CAPORASO et al, 1998, evidenciaram que cônjuges casados há mais de 20 anos com portadores do VHC tiveram uma prevalência significativamente maior para o anti-VHC do que aqueles com tempo de relacionamento inferior a 20 anos (19,8% versus 8%; $p < 0,05$; OR 2,8; 95%IC 1,5-5,3).

Em nossa amostra o tempo médio de convivência entre os casais foi de $16,55 \pm 13,71$ anos com mediana de 10 anos e variação de três a 52 anos sendo que 10 casais estavam juntos há mais de 20 anos. A análise destes dados revela um tempo de relacionamento longo o suficiente para a transmissão do vírus entre os casais estudados. Mesmo considerando o casal com menor tempo de relacionamento, três anos, existe relato na literatura de transmissão do VHC entre parceiros sexuais com tempo de convívio menor que este, isto é, de dois anos (KAO et al, 2000). Desta forma, a baixa prevalência encontrada para o anti-VHC entre os cônjuges de nossa amostra não poderia ser atribuída a um curto período de convivência entre os casais. Outro aspecto que poderia influir na transmissão sexual do VHC seria o uso de preservativo. Em nossa casuística apenas um casal fazia uso regular de preservativo em todas as relações, 11 (32,35%) referiram uso esporádico e 22 (64,70%) nunca usavam. Estas taxas encontram-se abaixo das referidas por ABDO, 2004, em seu estudo sobre a vida sexual do brasileiro que relatou uso de preservativo em

todas as relações sexuais em 29,2% das mulheres e 36,6% dos homens sendo que as diferenças de porcentagem entre os gêneros eram devidas a relacionamentos homossexuais. Três fatores podem ter contribuído para o menor uso de preservativo em nossa amostra. O primeiro seria o baixo nível de escolaridade dos indivíduos estudados, em sua maioria analfabetos ou com ensino fundamental incompleto, o segundo seria a baixa renda familiar relatada cujo valor mediano foi de 480 reais e por último o fato de nossa série ser composta exclusivamente por casais com relacionamento estável sendo que o estudo sobre o comportamento sexual do brasileiro incluiu 37,5% de solteiros com relacionamentos eventuais.

Como ponderam alguns autores, a interpretação dos resultados dos estudos epidemiológicos que evidenciam uma maior transmissão do VHC quanto mais longo o relacionamento não é simples. É notório que os contatos sexuais são mais freqüentes nos primeiros anos do casamento e tornam-se mais espaçados com o tempo, então a maior taxa de infecção pelo VHC em casais com maior tempo de matrimônio não deve ser associada à exposição sexual unicamente. Uma explicação possível seria a exposição a outras formas de contato íntimo como o compartilhamento de objetos de higiene pessoal. Em nossa amostra pudemos constatar como este comportamento foi freqüente em nossa população uma vez que apenas sete (20,58%) dos 34 casais não compartilhavam nenhum dos objetos de higiene pessoal questionados durante a entrevista (escova de dentes, alicate de unha, cortador de unha e lâmina de barbear) sendo que dois casais compartilhavam todos os itens.

Conclusões

CONCLUSÕES

1. A prevalência de anti-VHC positivo por ELISA III entre os cônjuges de pacientes portadores de hepatite C em hemodiálise foi de 5,88% (2/34). Se excluirmos o cônjuge com outros fatores de risco para doença a prevalência é de 2,9%.
2. A exposição de um dos cônjuges soropositivos a outros fatores de risco parenterais (hemotransfusões e hemodiálise) dificulta a interpretação dos dados em relação à transmissão sexual do VHC, mesmo considerando que este casal apresentou infecção pelo mesmo genótipo viral.
3. O segundo cônjuge com anti-VHC positivo em dois testes de ELISA de terceira geração, apresentou resultado de RIBA indeterminado e viremia indetectável e pode corresponder a um falso positivo ou infecção pelo VHC que tenha evoluído para cura e mantido títulos residuais de anticorpos.
4. A prevalência global de anti-VHC positivo nas duas unidades estudadas foi de 12,92%, sendo de 9,1% em Salvador e de 15,21% em Feira de Santana.
5. A análise do perfil genotípico demonstrou uma maior frequência do genótipo 1 (85,72%), seguido pelo genótipo 3.(14,28%).

Anexos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Este documento tem como objetivo esclarecer-lhe sobre o estudo que estamos lhe convidando a participar na Fundação para o Desenvolvimento das Ciências e Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – Curso de Mestrado – Salvador (BA).

O estudo tem por objetivo saber se você tem anticorpos contra o vírus da hepatite C. Para isto você será entrevistado por um médico a respeito das possíveis causas de contágio pelo vírus. Posteriormente realizará os exames de sangue para identificação de anticorpos contra o vírus da hepatite C. Os resultados dos exames serão transmitidos por um médico que irá responder as suas perguntas sobre a doença.

Em caso de resultado positivo será oferecido além dos esclarecimentos, encaminhamento para um dos serviços de saúde da rede pública especializado nesta patologia se assim você desejar. No questionário respondido por você durante a entrevista preliminar não constará seu nome, apenas sua idade e sexo.

Em nenhuma hipótese sua identificação será revelada a terceiros.

Eu, _____, li o termo de consentimento livre e esclarecido e fui informado(a) de forma clara e detalhada dos objetivos e da justificativa da presente pesquisa assim como dos exames a que serei submetido. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Sei, também, que todas as informações e resultados obtidos durante o estudo serão mantidas em caráter confidencial.

_____ / / .

_____ / / .

Márcia Carvalho Bessa

Contato: Márcia Carvalho Bessa
Clínica Senhor do Bonfim
Telefones: (75) 625 0333
(75) 9131 5183

QUESTIONÁRIO

Nome:

Sexo: () 1- feminino Idade: anos

2- masculino Data: / /

Endereço: número:

Bairro: Cidade:

CEP: Telefone: ()

1)- Freqüentou escola? ()

1- sim 2- não

2) Nível de escolaridade: ()

1- 1º grau incompleto 2- 1º grau completo 3- 2º grau incompleto

4- 2º grau completo 5- universitário incompleto 6- universitário completo

3) Já esteve preso? () 1- sim 2- não

4) Profissão:

5). Já trabalhou em contato com sangue? () 1- sim 2- não

6) Já recebeu transfusão de sangue? () 1- sim () <10 () >10 2- não

7) Já usou droga injetável? () 1- sim 2- não

8) Já usou droga inalatória? () 1- sim 2- não

9) Faz diálise? () 1- sim 2- não

10) Seu marido (sua mulher) faz diálise? () 1- sim 2- não

11) Já teve hepatite sintomática? () 1- sim 2- não

12) Já fez acupuntura? () 1- sim 2- não

13) Já fez tatuagem? () 1- sim 2- não

14) Estado civil: () 1- solteiro 2- casado ou amigado há mais de 6 meses

3- Separado/ desquitado/ divorciado 4- viúvo

15) Se casado, há quantos anos? ()

16) Quanto parceiro sexual teve na vida? () 1- 1 a 5 2- 5 a 10 3- >10

17) Faz uso de preservativo? () 1- sempre 2- às vezes 3- nunca

18) Já teve relação sexual com prostituta (garoto de programa)? () 1- sim 2- não

19) Já teve alguma doença sexualmente transmissível? () 1- sim 2- não 3- não sabe

20) Costuma fazer sexo anal? () 1- sempre 2- às vezes 3- nunca

21) Já teve relação sexual com pessoa do mesmo sexo? () 1- sempre 2- às vezes 3- nunca

22) Frequência de relações sexuais: () 1- diariamente 2. duas a três vezes por semana
3- uma vez por semana 4- duas vezes ao mês 5- uma vez ao mês
6- esporadicamente

23) Compartilha com seu cônjuge: () escova de dentes () lâmina de barbear () cortador de unha ou tesourinha () utensílios de manicure () nenhum destes itens.

23) Renda familiar (média dos últimos 6 meses): R\$

24) Número de pessoas no mesmo domicílio:

Referências Bibliográficas

1. ABDO, CHN. Estudo da vida sexual do Brasileiro. 1 ed. São Paulo: Editora Bregantini; 2004.
2. ACKERMAN, Z, ACKERMAN, E, PALTIEL, O. Intrafamilial transmission of hepatitis C virus: a systematic review. *J Viral Hepat.* 2000;7(2):93-103.
3. AHMED, A, KEEFFE, E.B. Hepatitis C Virus Infection. In: Yamada T, Alpers, David H., Kaplowitz, Neil, Laine; Loren, Owyang, Chung, Powell, Don W, ed. *Textbook of Gastroenterology*. 4th Edition ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
4. AKARSU, E, ZEKI TONBUL, H, SELCUK, Y, KAYA, H. Transmission of hepatitis C virus infection to spouses of patients undergoing chronic hemodialysis. *Nephron.* 1999;82(4):359-360.
5. ALTER, HJ. New kit on the block: evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. *Hepatology.* 1992;15(2):350-353.
6. ALTER, HJ, PURCELL, RH, SHIH, JW, MELPOLDER, JC, HOUGHTON, M, , et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med.* 1989;321(22):1494-1500.
7. ALTER, HJ, PURCELL, RH, SHIH, JW, MELPOLDER, JC, HOUGHTON, M, CHOO, QL, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med.* 1989;321(22):1494-1500.
8. ALTER, MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin Liver Dis.* 1995;15(1):5-14.
9. ALTER, MJ, HADLER, SC, JUDSON, FN, MARES, A, ALEXANDER, WJ, HU, PY, et al. Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. *Jama.* 1990;264(17):2231-2235.
10. ANTUNES, SV. Haemophilia in the developing world: the Brazilian experience. *Haemophilia.* 2002;8(3):199-204.
11. ARAI, Y, NODA, K, ENOMOTO, N, ARAI, K, YAMADA, Y, SUZUKI, K, et al. A prospective study of hepatitis C virus infection after needlestick accidents. *Liver.* 1996;16(5):331-334.

12. ARIMA, T, MORI, C, TAKAMIZAWA, A, NAKAJIMA, T, KANAI, K. Cloning of serum RNA associated with hepatitis C infection suggesting heterogeneity of the agent(s) responsible for the infection. *Gastroenterol Jpn.* 1989;24(6):685-691.
13. BONACINI, M, PUOTI, M. Hepatitis C in patients with human immunodeficiency virus infection: diagnosis, natural history, meta-analysis of sexual and vertical transmission, and therapeutic issues. *Arch Intern Med.* 2000;160(22):3365-3373.
14. BRADLEY, DW. The agents of non-A, non-B viral hepatitis. *J Virol Methods.* 1985;10(4):307-319.
15. BRANDAO, AB, FUCHS, SC. Risk factors for hepatitis C virus infection among blood donors in southern Brazil: a case-control study. *BMC Gastroenterol.* 2002;2(1):18.
16. BRESEE, JS, MAST, EE, COLEMAN, PJ, BARON, MJ, SCHONBERGER, LB, ALTER, MJ, et al. Hepatitis C virus infection associated with administration of intravenous immune globulin. A cohort study. *Jama.* 1996;276(19):1563-1567.
17. BRETTLER, DB, ALTER, HJ, DIENSTAG, JL, FORSBERG, AD, LEVINE, PH. Prevalence of hepatitis C virus antibody in a cohort of hemophilia patients. *Blood.* 1990;76(1):254-256.
18. BROOK, MG. Sexually acquired hepatitis. *Sex Transm Infect.* 2002;78(4):235-240.
19. BUSEK, SU, BABA, EH, TAVARES FILHO, HA, PIMENTA, L, SALOMAO, A, CORREA-OLIVEIRA, R, et al. Hepatitis C and hepatitis B virus infection in different hemodialysis units in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97(6):775-778.
20. CAPELLI, C, PRATI, D, BOSONI, P, ZANUSO, F, PAPPALATTERA, M, MOZZI, F, et al. Sexual transmission of hepatitis C virus to a repeat blood donor. *Transfusion.* 1997;37(4):436-440.
21. CAPORASO, N, ASCIONE, A, STROFFOLINI, T. Spread of hepatitis C virus infection within families. Investigators of an Italian Multicenter Group. *J Viral Hepat.* 1998;5(1):67-72.
22. CARNEIRO, MA, MARTINS, RM, TELES, SA, SILVA, SA, LOPES, CL, CARDOSO, DD, 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):765-769.
23. CARVALHEIRO, NP. Hepatite C: Transmissão entre casais [Tese de Doutorado]. São Paulo, Universidade de São Paulo; 2004.

24. CASSUTO, NG, SIFER, C, FELDMANN, G, BOURET, D, MORET, F, BENIFLA, JL, et al. A modified RT-PCR technique to screen for viral RNA in the semen of hepatitis C virus-positive men. *Hum Reprod.* 2002;17(12):3153-3156.
25. CATALANO, D, POLLIO, F, ERCOLANO, S, ASCIONE, L, DESANTIS, B, RUSSO, C. [Maternal-fetal transmission of HCV. Role of HIV as a risk factor]. *Minerva Ginecol.* 1999;51(4):117-119.
26. CDC. Recommendations for prevention and control of Hepatitis c Virus(HCV) infection and HCV-related chronic disease.
27. CHADHA, MS, TUNGATKAR, SP, ARANKALLE, VA. Insignificant prevalence of antibodies to hepatitis C in a rural area of western Maharashtra. *Indian J Gastroenterol.* 1999;18(1):22-23.
28. 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(4902):359-362.
29. COCKAYNE, E. Catarrhal jaundice, sporadic and epidemic, and its relation to acute yellow atrophy of the liver. *Q. J. Med.* 1912;6:1.
30. CODES, L, DE FREITAS, LA, SANTOS-JESUS, R, VIVITSKI, L, SILVA, LK, TREPO, C, et al. Comparative study of hepatitis C virus genotypes 1 and 3 in Salvador, Bahia Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2003;7(6):409-417.
31. COLIN, C, LANOIR, D, TOUZET, S, MEYAUD-KRAEMER, L, BAILLY, F, TREPO, C. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat.* 2001;8(2):87-95.
32. CONRY-CANTILENA, C, VANRADEN, M, GIBBLE, J, MELPOLDER, J, SHAKIL, AO, VILADOMIU, L, et al. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 1996;334(26):1691-1696.
33. DANIEL, HD, WARIER, A, ABRAHAM, P, SRIDHARAN, G. Age-wise exposure rates to hepatitis e virus in a southern Indian patient population without liver disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;71(5):675-678.

34. DARWISH, MA, RAOUF, TA, RUSHDY, P, CONSTANTINE, NT, RAO, MR, EDELMAN, R. Risk factors associated with a high seroprevalence of hepatitis C virus infection in Egyptian blood donors. *Am J Trop Med Hyg.* 1993;49(4):440-447.
35. DAVIS, GL. Hepatitis C. In: Schiff ER, Sorrell, Michael F., Maddrey, Willis C., ed. *Schiff's Diseases of the Liver.* 9th Edition ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
36. DE PAULA, VS, ARRUDA, ME, VITRAL, CL, GASPAR, AM. Seroprevalence of viral hepatitis in riverine communities from the Western Region of the Brazilian Amazon Basin. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96(8):1123-1128.
37. DI BISCEGLIE, AM. Hepatitis C. *Lancet.* 1998;351(9099):351-355.
38. DIAGO, M, ZAPATER, R, TUSET, C, CARBONELL, P, GONZALEZ, C, CORS, R, et al. Intrafamily transmission of hepatitis C virus: sexual and non-sexual contacts. *J Hepatol.* 1996;25(2):125-128.
39. DIAZ MORANT, V, DE LA MATA, M, COSTAN, G, DELGADO, M, FRAGA, E, MONTERO, JL, et al. [Familial transmission of hepatitis C virus]. *Rev Esp Enferm Dig.* 1996;88(5):340-343.
40. DONAHUE, JG, MUNOZ, A, NESS, PM, BROWN, DE, JR., YAWN, DH, MCALLISTER, HA, JR., et al. The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 1992;327(6):369-373.
41. DORE, GJ, KALDOR, JM, MCCAUGHAN, GW. Systematic review of role of polymerase chain reaction in defining infectiousness among people infected with hepatitis C virus. *Bmj.* 1997;315(7104):333-337.
42. EDELENYI-PINTO, M, CARVALHO, AP, NOGUEIRA, C, FERREIRA JUNIOR, O, SCHECHTER, M. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in populations at low and high risk for sexually transmitted diseases in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1993;88(2):305-307.
43. ESTEBAN, JI, GOMEZ, J, MARTELL, M, CABOT, B, QUER, J, CAMPS, J, et al. Transmission of hepatitis C virus by a cardiac surgeon. *N Engl J Med.* 1996;334(9):555-560.
44. EYSTER, ME, ALTER, HJ, ALEDORT, LM, QUAN, S, HATZAKIS, A, GOEDERT, JJ. Heterosexual co-transmission of hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV). *Ann Intern Med.* 1991;115(10):764-768.

45. EYSTER, ME, FRIED, MW, DI BISCEGLIE, AM, GOEDERT, JJ. Increasing hepatitis C virus RNA levels in hemophiliacs: relationship to human immunodeficiency virus infection and liver disease. Multicenter Hemophilia Cohort Study. *Blood*. 1994;84(4):1020-1023.
46. FABRIZI, F, LUNGI, G, PAGLIARI, B, MANGANO, S, FARANNA, P, PAGANO, A, et al. Molecular epidemiology of hepatitis C virus infection in dialysis patients. *Nephron*. 1997;77(2):190-196.
47. FARRUGIA, A. Plasma for fractionation: safety and quality issues. *Haemophilia*. 2004;10(4):334-340.
48. FARRUGIA, A. Safety and supply of haemophilia products: worldwide perspectives. *Haemophilia*. 2004;10(4):327-333.
49. FELDMAN, JG, MINKOFF, H, LANDESMAN, S, DEHOVITZ, J. Heterosexual transmission of hepatitis C, hepatitis B, and HIV-1 in a sample of inner city women. *Sex Transm Dis*. 2000;27(6):338-342.
50. FLAMM, SL. Chronic hepatitis C virus infection. *Jama*. 2003;289(18):2413-2417.
51. FOCACCIA, R, DA CONCEICAO, OJ, SETTE, H, JR., SABINO, E, BASSIT, L, NITRINI, DR, et al. Estimated Prevalence of Viral Hepatitis in the General Population of the Municipality of Sao Paulo, Measured by a Serologic Survey of a Stratified, Randomized and Residence-Based Population. *Braz J Infect Dis*. 1998;2(6):269-284.
52. FOCACCIA, R, SICILIANO, RF, SANTOS, ED, BOCCARDO, E, CONCEICAO, OJ, BARBOSA, UO, et al. Hepatitis C: a critical analysis of therapeutic response predictors: *Braz J Infect Dis*; 2002.
53. FORNS, X, FERNANDEZ-LLAMA, P, PONS, M, COSTA, J, AMPURDANES, S, LOPEZ-LABRADOR, FX, et al. Incidence and risk factors of hepatitis C virus infection in a haemodialysis unit. *Nephrol Dial Transplant*. 1997;12(4):736-740.
54. GERBERDING, JL. Incidence and prevalence of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, hepatitis C virus, and cytomegalovirus among health care personnel at risk for blood exposure: final report from a longitudinal study. *J Infect Dis*. 1994;170(6):1410-1417.
55. GERMANAUD, J, BARTHEZ, JP, CAUSSE, X. The occupational risk of hepatitis C infection among hospital employees. *Am J Public Health*. 1994;84(1):122.
56. GIACCHINO, R, PICCIOTTO, A, TASSO, L, TIMITILLI, A, SINELLI, N. Vertical transmission of hepatitis C. *Lancet*. 1995;345(8957):1122-1123.

57. GRAKOU, A, MCCOURT, DW, WYCHOWSKI, C, FEINSTONE, SM, RICE, CM. Characterization of the hepatitis C virus-encoded serine proteinase: determination of proteinase-dependent polyprotein cleavage sites. *J Virol.* 1993;67(5):2832-2843.
58. GRANOVSKY, MO, MINKOFF, HL, TESS, BH, WATERS, D, HATZAKIS, A, DEVOID, DE, et al. Hepatitis C virus infection in the mothers and infants cohort study. *Pediatrics.* 1998;102(2 Pt 1):355-359.
59. GRETCH, D, LEE, W, COREY, L. Use of aminotransferase, hepatitis C antibody, and hepatitis C polymerase chain reaction RNA assays to establish the diagnosis of hepatitis C virus infection in a diagnostic virology laboratory. *J Clin Microbiol.* 1992;30(8):2145-2149.
60. GRETCH, DR. Use and interpretation of HCV diagnostic tests in the clinical setting. *Clin Liver Dis.* 1997;1(3):543-557, vi.
61. HAGAN, H, THIEDE, H, WEISS, NS, HOPKINS, SG, DUCHIN, JS, ALEXANDER, ER. Sharing of drug preparation equipment as a risk factor for hepatitis C. *Am J Public Health.* 2001;91(1):42-46.
62. HERSHOW, RC, KALISH, LA, SHA, B, TILL, M, COHEN, M. Hepatitis C virus infection in Chicago women with or at risk for HIV infection: evidence for sexual transmission. *Sex Transm Dis.* 1998;25(10):527-532.
63. HOU, CH, CHEN, WY, KAO, JH, CHEN, DS, YANG, Y, CHEN, JJ, et al. Intrafamilial transmission of hepatitis C virus in hemodialysis patients. *J Med Virol.* 1995;45(4):381-385.
64. HUTIN, YJ, HARPAZ, R, DROBENIUC, J, MELNIC, A, RAY, C, FAVOROV, M, et al. Injections given in healthcare settings as a major source of acute hepatitis B in Moldova. *Int J Epidemiol.* 1999;28(4):782-786.
65. IRISH, DN, BLAKE, C, CHRISTOPHERS, J, CRASKE, JE, BURNAPP, L, ABBS, IC, et al. Identification of hepatitis C virus seroconversion resulting from nosocomial transmission on a haemodialysis unit: implications for infection control and laboratory screening. *J Med Virol.* 1999;59(2):135-140.
66. JULLIEN, AM, COUROUCE, AM, MASSARI, V, MANIEZ, M, FINETTI, P, BREVIERE, D, et al. Impact of screening donor blood for alanine aminotransferase and antibody to hepatitis B core antigen on the risk of hepatitis C virus transmission. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1993;12(9):668-672.

67. KAO, JH, HWANG, YT, CHEN, PJ, YANG, PM, LAI, MY, WANG, TH, et al. Transmission of hepatitis C virus between spouses: the important role of exposure duration. *Am J Gastroenterol*. 1996;91(10):2087-2090.
68. KAO, JH, LIU, CJ, CHEN, PJ, CHEN, W, LAI, MY, CHEN, DS. Low incidence of hepatitis C virus transmission between spouses: a prospective study. *J Gastroenterol Hepatol*. 2000;15(4):391-395.
69. KATO, N, SEKIYA, H, OOTSUYAMA, Y, NAKAZAWA, T, HIJIKATA, M, OHKOSHI, S, et al. Humoral immune response to hypervariable region 1 of the putative envelope glycoprotein (gp70) of hepatitis C virus. *J Virol*. 1993;67(7):3923-3930.
70. KODA, T, YONAHA, M, HAYASHI, A, ISHIKAWA, K. Hepatitis C transmission between spouses. *J Gastroenterol Hepatol*. 1996;11(11):1001-1005.
71. KUDESIA, G, BALL, G, IRVING, WL. Vertical transmission of hepatitis C. *Lancet*. 1995;345(8957):1122.
72. KUMAR, RM, SHAHUL, S. Role of breast-feeding in transmission of hepatitis C virus to infants of HCV-infected mothers. *J Hepatol*. 1998;29(2):191-197.
73. KUO, G, CHOO, QL, ALTER, HJ, GITNICK, GL, REDEKER, AG, PURCELL, RH, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*. 1989;244(4902):362-364.
74. LAMDEN, KH, KENNEDY, N, BEECHING, NJ, LOWE, D, MORRISON, CL, MALLINSON, H, et al. Hepatitis B and hepatitis C virus infections: risk factors among drug users in Northwest England. *J Infect*. 1998;37(3):260-269.
75. LAWLOR, E, POWER, J, GARSON, J, YAP, P, DAVIDSON, F, COLUMB, G, et al. Transmission rates of hepatitis C virus by different batches of a contaminated anti-D immunoglobulin preparation. *Vox Sang*. 1999;76(3):138-143.
76. LERUEZ-VILLE, M, KUNSTMANN, JM, DE ALMEIDA, M, ROUZIOUX, C, CHAIX, ML. Detection of hepatitis C virus in the semen of infected men. *Lancet*. 2000;356(9223):42-43.
77. LINDENBACH, BD, RICE C.M. Flaviviridae: The Viruses and Their Replication. In: Knipe DM, Howley, Peter M., Griffin, Diane E., Lamb, Robert A., Martin, Malcolm A., Roizman, Bernard, Straus, Stephen E., ed. *Fields Virology*. 4th Edition ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.

78. LUBY, SP, QAMRUDDIN, K, SHAH, AA, OMAIR, A, PAHSA, O, KHAN, AJ, et al. The relationship between therapeutic injections and high prevalence of hepatitis C infection in Hafizabad, Pakistan. *Epidemiol Infect.* 1997;119(3):349-356.
79. MANAVI, M, BAGHESTANIAN, M, WATKINS-RIEDEL, T, BATTISTUTTI, W, PISCHINGER, K, SCHATTEN, C, et al. Detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in normal cervical smears of HCV-seropositive patients. *Clin Infect Dis.* 2002;35(8):966-973.
80. MANZIN, A, SOLFOROSI, L, PETRELLI, E, MACARRI, G, TOSONE, G, PIAZZA, M, et al. Evolution of hypervariable region 1 of hepatitis C virus in primary infection. *J Virol.* 1998;72(7):6271-6276.
81. MARINCOVICH, B, CASTILLA, J, DEL ROMERO, J, GARCIA, S, HERNANDO, V, RAPOSO, M, et al. Absence of hepatitis C virus transmission in a prospective cohort of heterosexual serodiscordant couples. *Sex Transm Infect.* 2003;79(2):160-162.
82. MAUSER-BUNSCHOTEN, EP, BRESTERS, D, VAN DRIMMELEN, AA, ROOSENDAAL, G, CUYPERS, HT, REESINK, HW, et al. Hepatitis C infection and viremia in Dutch hemophilia patients. *J Med Virol.* 1995;45(3):241-246.
83. MCKIERNAN, SM, HAGAN, R, CURRY, M, MCDONALD, GS, KELLY, A, NOLAN, N, et al. Distinct MHC class I and II alleles are associated with hepatitis C viral clearance, originating from a single source. *Hepatology.* 2004;40(1):108-114.
84. MEISEL, H, REIP, A, FALTUS, B, LU, M, PORST, H, WIESE, M, et al. Transmission of hepatitis C virus to children and husbands by women infected with contaminated anti-D immunoglobulin. *Lancet.* 1995;345(8959):1209-1211
85. MELE, A, STROFFOLINI, T, TOSTI, ME, CORONA, R, SANTONASTASI, F, GALLO, G, et al. Heterosexual transmission of hepatitis C in Italy. *J Med Virol.* 1999;57(2):111-113.
86. MEMON, MI, MEMON, MA. Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat.* 2002;9(2):84-100.
87. NEUMAYR, G, PROPST, A, SCHWAIGHOFER, H, JUDMAIER, G, VOGEL, W. Lack of evidence for the heterosexual transmission of hepatitis C. *Qjm.* 1999;92(9):505-508.
88. NIH. Management of Hepatitis C: a Guideline. 1997;No. 3:1-41. Located at: NIH Consensus Statement.
89. NIU, MT, COLEMAN, PJ, ALTER, MJ. Multicenter study of hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients and hemodialysis center staff members: *Am J Kidney Dis*; 1993.

90. NOGUCHI, S, SATA, M, SUZUKI, H, MIZOKAMI, M, TANIKAWA, K. Routes of transmission of hepatitis C virus in an endemic rural area of Japan. *Molecular epidemiologic study of hepatitis C virus infection. Scand J Infect Dis.* 1997;29(1):23-28.
91. OLIVEIRA, ML, BASTOS, FI, SABINO, RR, PAETZOLD, U, SCHREIER, E, PAULI, G, et al. Distribution of HCV genotypes among different exposure categories in Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 1999;32(3):279-282.
92. OLIVEIRA, ML, BASTOS, FI, TELLES, PR, YOSHIDA, CF, SCHATZMAYR, HG, PAETZOLD, U, et al. Prevalence and risk factors for HBV, HCV and HDV infections among injecting drug users from Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 1999;32(9):1107-1114.
93. OSMOND, DH, CHARLEBOIS, E, SHEPPARD, HW, PAGE, K, WINKELSTEIN, W, MOSS, AR, et al. Comparison of risk factors for hepatitis C and hepatitis B virus infection in homosexual men. *J Infect Dis.* 1993;167(1):66-71.
94. PANLILIO, AL, SHAPIRO, CN, SCHABLE, CA, MENDELSON, MH, MONTECALVO, MA, KUNCHES, LM, et al. Serosurvey of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infection among hospital-based surgeons. Serosurvey Study Group. *J Am Coll Surg.* 1995;180(1):16-24.
95. PARANA, R, LYRA, L, TREPO, C. Intravenous vitamin complexes used in sporting activities and transmission of HCV in Brazil. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(3):857-858.
96. PEARLMAN, BL. Hepatitis C Infection: A Clinical Review. *Southern Medical Journal.* 2004;97(4):365-373.
97. PEREIRA, BJ, MILFORD, EL, KIRKMAN, RL, QUAN, S, SAYRE, KR, JOHNSON, PJ, et al. Prevalence of hepatitis C virus RNA in organ donors positive for hepatitis C antibody and in the recipients of their organs. *N Engl J Med.* 1992;327(13):910-915.
98. PETROSILLO, N, PURO, V, IPPOLITO, G. Prevalence of hepatitis C antibodies in health-care workers. Italian Study Group on Blood-borne Occupational Risk in Dialysis. *Lancet.* 1994;344(8918):339-340.
99. PISTELLO, M, MAGGI, F, VATTERONI, L, CECCONI, N, PANICUCCI, F, BRESCI, GP, et al. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in Italy. *J Clin Microbiol.* 1994;32(1):232-234.
100. POL, S, CARNOT, F, NALPAS, B, LAGNEAU, JL, FONTAINE, H, SERPAGGI, J, et al. Reversibility of hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hum Pathol.* 2004;35(1):107-112.

101. POLISH, LB, TONG, MJ, CO, RL, COLEMAN, PJ, ALTER, MJ. Risk factors for hepatitis C virus infection among health care personnel in a community hospital. *Am J Infect Control*. 1993;21(4):196-200.
102. POWER, JP, LAWLOR, E, DAVIDSON, F, HOLMES, EC, YAP, PL, SIMMONDS, P. Molecular epidemiology of an outbreak of infection with hepatitis C virus in recipients of anti-D immunoglobulin. *Lancet*. 1995;345(8959):1211-1213.
103. PRU, CE, CUERVO, C, ARDILA, M, TERAN, M. Hepatitis C transmission through dialysis machines. *Asaio J*. 1994;40(3):M889-891.
104. PURO, V, PETROSILLO, N, IPPOLITO, G. Risk of hepatitis C seroconversion after occupational exposures in health care workers. Italian Study Group on Occupational Risk of HIV and Other Bloodborne Infections. *Am J Infect Control*. 1995;23(5):273-277.
105. QUER, J, MURILLO, P, ESTEBAN, JI, MARTELL, M, ESTEBAN, R, GUARDIA, J. Sexual transmission of hepatitis C virus from a patient with chronic disease to his sex partner after removal of an intrauterine device. *Sex Transm Dis*. 2003;30(5):470-471.
106. ROONEY, G, GILSON, RJ. Sexual transmission of hepatitis C virus infection. *Sex Transm Infect*. 1998;74(6):399-404.
107. SABATINO, G, RAMENGI, LA, DI MARZIO, M, PIZZIGALLO, E. Vertical transmission of hepatitis C virus: an epidemiological study on 2,980 pregnant women in Italy. *Eur J Epidemiol*. 1996;12(5):443-447.
108. SANTANA, GO, COTRIM, HP, MOTA, E, PARANA, R, SANTANA, NP, LYRA, L. [Antibodies to hepatitis C virus in patients undergoing hemodialysis in Salvador, BA, Brazil]. *Arq Gastroenterol*. 2001;38(1):24-31.
109. SANTANA, N. Significado do anti-VHC em doadores de sangue na cidade do Salvador-Bahia. [Dissertação de Mestrado]. Salvador-BA, Universidade Federal da Bahia.; 1995.
110. SARRAZIN, C, TEUBER, G, KOKKA, R, RABENAU, H, ZEUZEM, S. Detection of residual hepatitis C virus RNA by transcription-mediated amplification in patients with complete virologic response according to polymerase chain reaction-based assays. *Hepatology*. 2000;32(4 Pt 1):818-823.
111. SARTORI, M, LA TERRA, G, AGLIETTA, M, MANZIN, A, NAVINO, C, VERZETTI, G. Transmission of hepatitis C via blood splash into conjunctiva. *Scand J Infect Dis*. 1993;25(2):270-271.

112. SAWYER L, LUNG K, FIRESENHALM M. Clinical laboratory evaluation of a new sensitive and specific assay for qualitative detection of Hepatitis C virus RNA in clinical specimens. *J Hepatol.* 2000;32(Suppl A):116A.
113. SCHLIPKOTER, U, GLADZIWA, U, CHOLMAKOV, K, WEISE, A, RASSHOFER, R, LORBEER, B, et al. Prevalence of hepatitis C virus infections in dialysis patients and their contacts using a second generation enzymed-linked immunosorbent assay. *Med Microbiol Immunol (Berl).* 1992;181(3):173-180.
114. SCHMID, M, WIMMER, E. IRES-controlled protein synthesis and genome replication of poliovirus. *Arch Virol Suppl.* 1994;9:279-289.
115. SCHREIBER, GB, BUSCH, MP, KLEINMAN, SH, KORELITZ, JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. *N Engl J Med.* 1996;334(26):1685-1690.
116. SHAPIRO, CN, TOKARS, JI, CHAMBERLAND, ME. Use of the hepatitis-B vaccine and infection with hepatitis B and C among orthopaedic surgeons. The American Academy of Orthopaedic Surgeons Serosurvey Study Committee. *J Bone Joint Surg Am.* 1996;78(12):1791-1800.
117. SHERMAN, KE, ROUSTER, SD, CHUNG, RT, RAJICIC, N. Hepatitis C Virus prevalence among patients infected with Human Immunodeficiency Virus: a cross-sectional analysis of the US adult AIDS Clinical Trials Group. *Clin Infect Dis.* 2002;34(6):831-837.
118. SILVA, L, PARANA, R, MOTA, E, COTRIM, HP, BOENNEC-MCCURTEY, ML, VITVITINSKY, L, et al. [Prevalence of hepatitis C virus in urban and rural populations of northeast Brazil-pilot study]. *Arq Gastroenterol.* 1995;32(4):168-171.
119. SILVA, LK, PARANA, R, SOUZA, SP, BERBY, F, KAY, A, TREPO, C, et al. Hepatitis C virus genotypes in a northeastern area of Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;62(2):257-260.
120. SIMMONDS, P, ALBERTI, A, ALTER, HJ, BONINO, F, BRADLEY, DW, BRECHOT, C, et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology.* 1994;19(5):1321-1324.
121. SMITH, DB, LAWLOR, E, POWER, J, O'RIORDAN, J, MCALLISTER, J, LYCETT, C, et al. A second outbreak of hepatitis C virus infection from anti-D immunoglobulin in Ireland. *Vox Sang.* 1999;76(3):175-180.
122. SODEYAMA, T, KIYOSAWA, K, URUSHIHARA, A, MATSUMOTO, A, TANAKA, E, FURUTA, S, et al. Detection of hepatitis C virus markers and hepatitis C virus genomic-RNA after needlestick accidents. *Arch Intern Med.* 1993;153(13):1565-1572.

123. SOUTO, FJ, DA SILVA, AG, YONAMINE, F. Risk of hepatitis C among Brazilian ex-soccer players. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98(8):1025-1026.
124. STROFFOLINI, T, LORENZONI, U, MENNITI-IPPOLITO, F, INFANTOLINO, D, CHIARAMONTE, M. Hepatitis C virus infection in spouses: sexual transmission or common exposure to the same risk factors? *Am J Gastroenterol*. 2001;96(11):3138-3141.
125. SULKOWSKI, MS, THOMAS, DL. Hepatitis C in the HIV-Infected Person. *Ann Intern Med*. 2003;138(3):197-207.
126. SUN, CA, CHEN, HC, LU, CF, YOU, SL, MAU, YC, HO, MS, et al. Transmission of hepatitis C virus in Taiwan: prevalence and risk factors based on a nationwide survey. *J Med Virol*. 1999;59(3):290-296.
127. TAGARIELLO, G, GEROTTO, M, PONTISSO, P, BELVINI, D, SALVIATO, R, RADOSI, P, et al. Hepatitis C virus quasispecies in the natural course of HCV-related disease in patients with haemophilia. *Haemophilia*. 2004;10(1):81-86.
128. TAGARIELLO, G, PONTISSO, P, DAVOLI, PG, RUVOLETTO, MG, TRALDI, A, ALBERTI, A. Hepatitis C virus genotypes and severity of chronic liver disease in haemophiliacs. *Br J Haematol*. 1995;91(3):708-713.
129. TAKANO, S, NAKAMURA, K, KAWAI, S, YOKOSUKA, O, SATOMURA, Y, OMATA, M. Prospective assessment of donor blood screening for antibody to hepatitis C virus by first- and second-generation assays as a means of preventing posttransfusion hepatitis. *Hepatology*. 1996;23(4):708-712.
130. TANAKA, T, KATO, N, CHO, MJ, SUGIYAMA, K, SHIMOTOHNO, K. Structure of the 3' terminus of the hepatitis C virus genome. *J Virol*. 1996;70(5):3307-3312.
131. TELFER, P, SABIN, C, DEVEREUX, H, SCOTT, F, DUSHEIKO, G, LEE, C. The progression of HCV-associated liver disease in a cohort of haemophilic patients. *Br J Haematol*. 1994;87(3):555-561.
132. TENGAN, FM, ELUF-NETO, J, CAVALHEIRO, NP, BARONE, AA. Sexual transmission of hepatitis C virus. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2001;43(3):133-137.
133. TERRAULT, NA. Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36(5 Suppl 1):S99-105.

134. THOMAS, DL, ZENILMAN, JM, ALTER, HJ, SHIH, JW, GALAI, N, CARELLA, AV, et al. Sexual transmission of hepatitis C virus among patients attending sexually transmitted diseases clinics in Baltimore--an analysis of 309 sex partnerships. *J Infect Dis.* 1995;171(4):768-775.
135. THORPE, L, OUELLET, L, HERSHOW, R, BAILEY, S, WILLIAMS, II, MONEROSSO, E. The multiperson use of non-syringe injection equipment and risk of hepatitis c infection in a cohort of young adult injection drug users, chicago 1997-1999. *Ann Epidemiol.* 2000;10(7):472-473.
136. THORPE, LE, OUELLET, LJ, HERSHOW, R, BAILEY, SL, WILLIAMS, IT, WILLIAMSON, J, et al. Risk of hepatitis C virus infection among young adult injection drug users who share injection equipment. *Am J Epidemiol.* 2002;155(7):645-653.
137. TOKARS, JI, MILLER, ER, ALTER, MJ, ARDUINO, MJ. National surveillance of dialysis associated diseases in the United States, 1995. *Asaio J.* 1998;44(1):98-107.
138. TOZ, H, OK, E, YILMAZ, F, AKARCA, US, ERENDOY, S, ZEYTINOGLU, A, et al. Clinicopathological features of hepatitis C virus infection in dialysis and renal transplantation. *J Nephrol.* 2002;15(3):308-312.
139. VAN DER POEL, CL, EBELING, F. Hepatitis C virus: epidemiology, transmission and prevention. *Curr Stud Hematol Blood Transfus.* 1998(62):208-236.
140. VANDELLI, C, RENZO, F, ROMANO, L, TISMINETZKY, S, DE PALMA, M, STROFFOLINI, T, et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study. *Am J Gastroenterol.* 2004;99(5):855-859.
141. VILLANO, SA, VLAHOV, D, NELSON, KE, LYLES, CM, COHN, S, THOMAS, DL. Incidence and risk factors for hepatitis C among injection drug users in Baltimore, Maryland. *J Clin Microbiol.* 1997;35(12):3274-3277.
142. VRIELINK, H, REESINK, HW, VAN DEN BURG, PJ, ZAAIJER, HL, CUYPERS, HT, LELIE, PN, et al. Performance of three generations of anti-hepatitis C virus enzyme-linked immunosorbent assays in donors and patients. *Transfusion.* 1997;37(8):845-849.
143. WALSH, K, ALEXANDER, GJ. Update on chronic viral hepatitis. *Postgrad Med J.* 2001;77(910):498-505.

144. WASLEY, A, ALTER, MJ. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis.* 2000;20(1):1-16.
145. WU, JC, LIN, HC, JENG, FS, MA, GY, LEE, SD, SHENG, WY. Prevalence, infectivity, and risk factor analysis of hepatitis C virus infection in prostitutes. *J Med Virol.* 1993;39(4):312-317.
146. WYLD, R, ROBERTSON, JR, BRETTELE, RP, MELLOR, J, PRESCOTT, L, SIMMONDS, P. Absence of hepatitis C virus transmission but frequent transmission of HIV-1 from sexual contact with doubly-infected individuals. *J Infect.* 1997;35(2):163-166.
147. YEN, T, KEEFFE, EB, AHMED, A. The epidemiology of hepatitis C virus infection. *J Clin Gastroenterol.* 2003;36(1):47-53.
148. ZAAIJER, HL, CUYPERS, HT, REESINK, HW, WINKEL, IN, GERKEN, G, LELIE, PN. Reliability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. *Lancet.* 1993;341(8847):722-724.
149. ZARIFE, MAS. Prevalência da infecção pelo vírus da Hepatite C (VHC) em Salvador, Bahia [Dissertação de Mestrado]. Salvador Universidade Federal da Bahia-Fiocruz; 2002.
150. ZHAO, WD, WIMMER, E, LAHSER, FC. Poliovirus/Hepatitis C virus (internal ribosomal entry site-core) chimeric viruses: improved growth properties through modification of a proteolytic cleavage site and requirement for core RNA sequences but not for core-related polypeptides. *J Virol.* 1999;73(2):1546-1554.
151. ZYLBERBERG, H, THIERS, V, LAGORCE, D, SQUADRITO, G, LEONE, F, BERTHELOT, P, et al. Epidemiological and virological analysis of couples infected with hepatitis C virus. *Gut.* 1999;45(1):112-116.