

***Bruno Galperim***

**Identificação de marcadores de infecção  
pelo vírus da hepatite C (VHC) em pacientes em hemodiálise:  
comparação entre o teste imunológico (anti-VHC)  
e o teste molecular (reação em cadeia da polimerase – PCR)  
e avaliação do *pool* da PCR do VHC**

Porto Alegre

2007

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

BRUNO GALPERIM

**Identificação de marcadores de infecção  
pelo vírus da hepatite C (VHC) em pacientes em hemodiálise:  
comparação entre o teste imunológico (anti-VHC)  
e o teste molecular (reação em cadeia da polimerase – PCR)  
e avaliação do *pool* da PCR do VHC**

*Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em  
Medicina: Hepatologia, da Fundação Faculdade  
Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, para a  
obtenção do título de Doutor em Medicina.*

**Orientador:** Angelo Alves de Mattos

Porto Alegre

2007

*À minha esposa Fernanda,  
pelo amor e companheirismo.*

*Aos meus filhos Fabiana, Letícia e Lucas,  
para que lhes possa servir de estímulo.*

## **AGRADECIMENTOS**

Este trabalho é fruto do esforço e da dedicação de muitos. Desejo agradecer aos que colaboraram para que esta tarefa chegasse ao final.

Inicialmente, ao meu orientador, Prof. Dr. Angelo Alves de Mattos, pelo conhecimento e espírito científico que qualificaram este trabalho, e pela amizade e sensibilidade que me conduziram no aprendizado.

Aos Profs. Drs. Mario Wagner e Airton Stein, pela realização das análises estatísticas.

À Dra. Nuttiane Camargo Schneider, ao biomédico André Buriol e à acadêmica Francisca Moselle, pelo interesse e inestimável auxílio em todas as etapas deste estudo.

Ao Laboratório Simbios Biotecnologia, representado pelo Dr. Vagner Ricardo Lunge, pela participação na elaboração do projeto e na realização dos exames moleculares.

Ao Dr. Alberto Kaemmerer, diretor médico do Hospital Mãe de Deus, pela amizade, entusiasmo e apoio a este projeto assim como na obtenção de subsídios.

Ao Laboratório do Hospital Mãe de Deus, representado pelo Dr. Galton Albuquerque, e em especial à enfermeira Imara Froes Davila, pela organização e realização dos exames.

À Gerência de Ensino e Pesquisa do Grupo Hospitalar Conceição, pelo apoio e pelos subsídios, com especial gratidão à Sra Angélica Aguiar.

Aos médicos, enfermeiros, técnicos de enfermagem e demais funcionários das unidades de hemodiálise dos hospitais Mãe de Deus, Ernesto Dornelles, Grupo Hospitalar Conceição e Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, pelo apoio, auxílio na coleta das amostras de sangue e acesso aos pacientes.

Finalmente, quero agradecer aos pacientes com quem e para quem realizamos este estudo.

# SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Epidemiologia do VHC em pacientes em hemodiálise.....	2
1.1.1. Incidência e prevalência.....	2
1.1.2. Transmissão.....	3
1.2. História natural da infecção do VHC em pacientes em hemodiálise e em transplantados de rim.....	5
1.3. O tratamento do VHC em pacientes em hemodiálise e transplantados de rim.....	7
1.4. Prevenção e controle da infecção por VHC em pacientes em hemodiálise.....	8
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. Objetivo geral.....	14
2.2. Objetivos específicos.....	14
3. PACIENTES E MÉTODOS.....	15
3.1. Delineamento.....	15
3.2. Pacientes.....	15
3.3. Métodos.....	16
3.3.1. Variáveis.....	16
3.3.2. Testes laboratoriais.....	17
3.4. Considerações éticas.....	21
3.5. Análise estatística.....	21
4. RESULTADOS.....	23
4.1. Casuística.....	23

4.2. Prevalência e relação entre os marcadores imunológicos e moleculares de infecção pelo VHC na amostra .....	24
4.3. <i>Pool</i> da PCR do VHC.....	25
4.4. Comparação das características demográficas, epidemiológicas e de marcadores de infecção entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise com e sem anti-VHC reagente e com e sem PCR positiva.....	26
4.4.1. Comparação entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise com e sem anti-VHC reagente .....	26
4.4.2. Comparação entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise com e sem PCR positiva .....	28
4.5. Comparação entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise, anti-VHC reagentes, com o índice sinal/ <i>cut-off</i> do teste imunológico (quimioluminescência ampliada) maior ou igual <i>versus</i> menor do que oito.....	31
4.6. Distribuição dos genótipos na amostra .....	33
4.7. Concordância entre os resultados das PCR, medidos em dois momentos, com intervalo médio de 9 meses .....	33
4.8. Soroconversão do anti-VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise, em 12 meses .....	33
5. DISCUSSÃO .....	34
5.1. Prevalência e relação entre os marcadores imunológicos e moleculares de infecção pelo VHC na amostra .....	34
5.2. Comparação das características demográficas e fatores de risco para infecção pelo VHC entre os pacientes em hemodiálise, anti-VHC reagentes, e os não-reagentes e entre os que apresentaram PCR positiva e os de PCR negativa.....	41
5.3. Comparação entre pacientes de hemodiálise anti-VHC reagentes, com o índice sinal/ <i>cut-off</i> maior ou igual <i>versus</i> menor do que oito.....	47
5.4. Distribuição dos genótipos na amostra .....	49
5.5. Concordância entre os resultados da PCR medida em dois momentos, com intervalo médio de 9 meses .....	51

5.6. Soroconversão do anti-VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise, em 12 meses .....	52
6. CONCLUSÕES .....	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55
ANEXO 1 - Termo de consentimento livre e esclarecido .....	71
ANEXO 2 - Questionário estruturado .....	73
ANEXO 3 - Aprovação do Grupo Hospitalar Conceição.....	75
ANEXO 4 - Aprovação do Hospital Mãe de Deus .....	76
ANEXO 5 - Aprovação do Hospital Ernesto Dornelles .....	78
ANEXO 6 - Aprovação da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre .....	79
ANEXO 7 - Nanograma.....	81
ANEXO 8 - Resultado do teste Kappa: concordância entre os testes.....	83

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALT = alanino-aminotransferase

anti-VHC = anticorpos contra o VHC

CDC = *Centers for Disease Control and Prevention*

DP = desvio padrão

ELISA = enzima-imunoensaio

HD = hemodiálise

HIV = vírus da imunodeficiência humana

IC 95% = intervalo de confiança de 95%

m = média

OR = *odds ratio*

PCR = reação em cadeia da polimerase

RFLP = *restriction fragment length polymorphism*

RIBA = *recombinant immunoblot assay*

RNA = ácido ribonucléico

RPC = razão dos produtos cruzados

RT-PCR = transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase

s/co = sinal/*cut-off*

SBN = Sociedade Brasileira de Nefrologia

VHB = vírus da hepatite B

VHC = vírus da hepatite C

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Descrição das variáveis, tipo de variável e suas características. ....	17
Quadro 2. Esquema proposto para os <i>pools</i> . .....	18
Tabela 1. Distribuição dos marcadores imunológicos e moleculares de infecção pelo VHC na amostra. ....	25
Tabela 2. Comparação entre pacientes em hemodiálise, com e sem anti- VHC reagente. ....	27
Tabela 3. Regressão logística de fatores de risco para anti-VHC reagente. ....	28
Tabela 4. Comparação entre pacientes em hemodiálise, com e sem a PCR positiva. ....	29
Tabela 5. Regressão logística de fatores de risco para PCR positiva. ....	30
Tabela 6. Comparação entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise, anti-VHC reagentes, com o índice sinal/ <i>cut-off</i> do teste imunológico (quimioluminescência ampliada) maior ou igual <i>versus</i> menor do que oito. ....	32

## RESUMO

Este estudo tem por objetivo identificar a prevalência do vírus da hepatite C (VHC) e a razão de probabilidade positiva e negativa do teste imunológico para o VHC de infecção em comparação com o teste molecular em portadores de doença renal crônica em hemodiálise (HD), bem como estimar a concordância da técnica do *pool* da reação em cadeia da polimerase (PCR) com a PCR realizada individualmente na detecção da infecção pelo VHC. Durante um período de 12 meses, a partir de agosto de 2005, foram estudados prospectivamente 325 pacientes de HD, que responderam a questionário estruturado para a obtenção de dados demográficos, informações clínicas e de tratamento. Foram realizados os seguintes exames laboratoriais: alanino-aminotransferase (ALT), anti-VHC e PCR-VHC qualitativa. Os pacientes com resultados positivos tiveram seus genótipos determinados. Em outra etapa, 6 a 12 meses após, os pacientes anti-VHC reagentes repetiram o exame molecular, e os não-reagentes repetiram o exame imunológico. Para a formação dos *pools*, seria adicionado 0,1 mL de cada amostra, formando *pools* de até 10 amostras. O nível de significância adotado foi de 5%.

Os resultados foram a seguir apresentados e discutidos, considerando-se que:

- A prevalência do anti-VHC na população estudada foi de 32,9%, sendo que em 21% a PCR-VHC foi positiva. A razão de probabilidade de um portador de doença renal crônica em HD com anti-VHC reagente estar infectado pelo VHC foi

6,56 vezes maior do que para os que têm teste negativo, sendo quase nula para pacientes com teste não-reagente.

- A não identificação de pacientes anti-VHC não-reagentes mas PCR positivos nos impossibilitou estimar a concordância da técnica do *pool* da PCR com a PCR individual na detecção da infecção pelo VHC.

- Realizar HD por mais de 5 anos, submeter-se a transfusão de sangue e ter referido o uso de drogas injetáveis mostraram-se fatores independentes de risco para a infecção pelo VHC em portadores de doença renal crônica em HD.

- Em portadores de doença renal crônica em HD com teste imunológico positivo e índice sinal/*cut-off* abaixo de oito, deve-se aventar a possibilidade de falso-positivos e sempre considerar a realização de testes confirmatórios.

- A distribuição dos genótipos do VHC em pacientes de HD foi a que segue: 64,7% genótipo 1; 1,5% genótipo 2; e 33,8% genótipo 3.

- Foi muito boa a força de concordância entre os testes moleculares realizados em dois momentos, com um intervalo médio de 9 meses.

- A incidência cumulativa do anti-VHC foi de 1,3% em 12 meses.

Conclui-se ser a infecção pelo VHC muito freqüente em pacientes em HD, sendo que a realização do teste imunológico se mostrou extremamente útil para o diagnóstico, tornando desnecessária a realização do *pool* da PCR.

**Unitermos:** hemodiálise, hepatite C, diagnóstico.

## ABSTRACT

The purposes of this study were to investigate the prevalence of hepatitis C virus (HCV) and the positive and negative likelihood ratio of the anti-HCV enzyme immunoassay in comparison with molecular testing of patients with chronic kidney disease undergoing hemodialysis (HD), and to estimate agreement of the pooled polymerase chain reaction (PCR) and individual PCR techniques in the detection of HCV infection. For 12 months starting in August 2005, 325 patients undergoing HD were prospectively studied. Patients answered a structured questionnaire about demographic data and clinical and treatment information. The following laboratory studies were performed: alanine aminotransferase (ALT), anti-HCV and qualitative HCV-PCR. The genotypes for patients with positive results were determined. Six to 12 months later, patients with positive anti-HCV results repeated molecular testing, and patients with negative results repeated anti-HCV immunoassays. Pools were prepared with up to 10 samples by the addition of a 0.1 ml aliquot from each sample. Level of significance was established at 5%.

Results were presented and discussed according to the following:

- The prevalence of anti-HCV positivity in the population under study was 32.9%, and 21% had positive HCV-PCR results. The likelihood ratio for HCV infection of patients with chronic kidney disease undergoing HD and positive anti-HCV results was 6.56 times greater than for patients with a negative test, and it was almost null for patients with negative anti-HCV results.

- No patients with negative anti-HCV results but positive PCR results were identified, which made it impossible to estimate agreement of the pooled and individual PCR techniques in the detection of HCV infection.

- HD for longer than 5 years, blood transfusion and self-reported use of injection drugs were independent risk factors for HCV infection in patients with chronic kidney disease undergoing HD.

- For patients with chronic kidney disease undergoing HD, positive immunoassay results and cut-off point below 8, false positive results should be considered, and confirmation assays should be performed.

- Results of HCV genotyping of patients undergoing HD were: genotype 1 - 64.7%; genotype 2 - 1.5%; and genotype 3 - 33.8%.

- The strength of agreement between molecular testing at two time points, at a mean 9-month interval, was very good.

- The cumulative incidence of positive anti-HCV results in 12 months was 1.3%.

HCV infection is very frequent in patients undergoing HD, and this study showed that immunoassays were extremely useful in establishing diagnoses, which should make the use of the pooled PCR technique unnecessary.

**Keywords:** hemodialysis, hepatitis C, diagnosis.

## 1. INTRODUÇÃO

Pacientes em hemodiálise (HD) crônica apresentam alto risco para infecções. Dentre os fatores que propiciam esse evento, destacam-se os mais comuns: necessidade de acesso vascular por longo período de tempo e tratamentos simultâneos compartilhando o mesmo ambiente, oportunizando a transmissão de agentes infecciosos via contaminação de aparelhos, acessórios, superfícies ou mãos do pessoal de enfermagem. Ressalte-se que esses pacientes são doentes imunossuprimidos que freqüentemente necessitam de hospitalizações e cirurgias e, conseqüentemente, apresentam maior probabilidade para infecções<sup>1,2</sup>.

Pacientes submetidos à HD apresentam elevado risco de contaminação pelos vírus da hepatite B (VHB) e C (VHC)<sup>3</sup>. A doença hepática decorrente é uma importante causa de morbidade e mortalidade, e, atualmente, infecções pelo VHC constituem o principal fator causal de hepatopatias<sup>4</sup>. Em transplantados de rim, foi demonstrada associação entre infecção pelo VHC e aumento de mortalidade após 10 anos de doença<sup>5,6</sup>. Dessa forma, entendemos que o diagnóstico desse vírus merece especial atenção.

## 1.1. Epidemiologia do VHC em pacientes em hemodiálise

### 1.1.1. Incidência e prevalência

A incidência da infecção pelo VHC em pacientes em HD está diretamente relacionada com a prevalência. Em estudo europeu avaliando 5.774 pacientes em 71 unidades, foi descrito que, em locais de prevalência inferior a 19%, a incidência cumulativa anual foi de 2,5%, e onde a prevalência era superior a 60%, a incidência ficou em torno de 35%<sup>7</sup>.

Com a melhora da identificação dos fatores de risco e dos modos de transmissão e a implementação de estratégias de controle, houve redução nas taxas de infecção. Na Bélgica, o índice passou de 1,7% para menos de 0,5% ao ano; em Portugal, reduziu de 9,9% para 5,1%; e nos EUA, passou de 2,6% para 0,73%<sup>7-10</sup>.

A prevalência de anticorpos contra o VHC (anti-VHC) em pacientes de HD, além de ser mais elevada do que na população geral, apresenta grande variação entre os diversos países ou entre diferentes unidades de um mesmo país, o que, ao menos em parte, pode ser explicado pelos diversos tipos de testes empregados<sup>4,11,12</sup>. Estudo de revisão<sup>13</sup> analisando pesquisas realizadas em países europeus até 1995, utilizando-se de testes de segunda geração, e que envolveram 5.615 pacientes de HD, relatou prevalência média de 25,6%, variando entre 7% e 54%. Fissel et al.<sup>14</sup>, em estudo recente que envolveu 8.615 pacientes de diversos países (a maioria europeus), relataram prevalência de 13,5%, variando entre 2,6% e 22,9%. Nos EUA, dois censos nacionais<sup>1,15</sup> sinalizaram taxas de 8,1% e 8,9%, ressaltando que alguns centros apresentaram taxas

superiores a 40%. Nos países asiáticos, entre 4.024 pacientes estudados, observou-se prevalência média de 46,2%, variando entre 23% e 68%<sup>13,16</sup>.

No Brasil, a média da prevalência relatada no censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), considerando 54.523 pacientes (89,6% em HD), foi de 15,4%, variando entre 5,3% e 24,7%<sup>17</sup>. Outros autores, analisando 2.258 pacientes de 36 unidades de HD situadas em diversas cidades do país, mostraram taxas que variaram entre 7,4% e 90,4%<sup>18-24</sup>. No Rio Grande do Sul, o referido censo envolveu 4.847 pacientes (90,8% em HD), constatando média de prevalência de 23,3%<sup>17</sup>. Em Porto Alegre, em 735 pacientes testados por enzima-imunoensaio de segunda ou terceira geração (ELISA 2 ou 3), atendidos em diversas unidades da região metropolitana, a taxa de anti-VHC reagente variou entre 29,8% e 41,6% dos casos<sup>25-28</sup>.

Quanto à incidência, taxa de 3,1:1.000 pacientes/mês foi descrita em estudo realizado na cidade de São Paulo<sup>18</sup>.

De qualquer forma, podemos observar que a prevalência de infecção pelo VHC é alta em pacientes de HD no Brasil.

### *1.1.2. Transmissão*

O VHC é eficientemente transmitido por exposição percutânea ao sangue infectado. À semelhança do VHB, o indivíduo cronicamente infectado é o agente central<sup>1</sup>.

Os principais fatores de risco associados à infecção do VHC entre os pacientes em HD incluem: história de transfusão de sangue, volume de sangue

transfundido, período de tempo em diálise e história de uso de drogas injetáveis<sup>3,29</sup>.

As normas atuais de seleção e testes em doadores de sangue diminuíram em muito os riscos relacionados às transfusões de sangue e derivados e transformaram o tempo em diálise no principal fator de risco, tendo sido relatada uma prevalência de 12% nos que realizaram HD por menos de 5 anos e de 37% nos que permaneceram em HD por período maior. Tal associação foi verificada independentemente de realização de transfusões de sangue e/ou uso de drogas injetáveis, sugerindo que a transmissão do VHC deva ocorrer no ambiente de tratamento<sup>1,3,10,29,30</sup>.

Recentemente, tem sido valorizada a presença de infecção pelo VHC quando da inclusão para tratamento hemodialítico, face à diminuição do risco das transfusões de sangue, ao melhor manejo da anemia com a utilização de eritropoietina e à ampliação das medidas gerais de prevenção<sup>31</sup>.

As infecções no ambiente de HD estão associadas a uso de equipamentos contaminados, reutilização de seringas e agulhas descartáveis, contaminação de frascos de medicações, desobediência às regras de preparo das medicações e não-utilização de luvas (ou o fato de não trocá-las) sempre que o paciente ou o equipamento tenham sido manuseados<sup>1,3,10,29,30,32</sup>. Estudo recente analisando o comportamento de enfermeiros e técnicos no atendimento de pacientes em HD demonstrou que apenas 36% dos entrevistados seguem sempre as recomendações para higiene das mãos e uso de luvas<sup>33</sup>.

Há controvérsia com relação à reutilização dos filtros e capilares e ao uso de máquinas e salas separadas para os pacientes contaminados. Enquanto

alguns autores vêem relevância nessas práticas, outros consideram que apenas a estrita obediência às rotinas estabelecidas seria suficiente para o controle da infecção pelo VHC<sup>1,3,7,34</sup>.

## **1.2. História natural da infecção do VHC em pacientes em hemodiálise e em transplantados de rim**

Dois estudos prospectivos, realizados com pacientes em HD nos EUA e no Japão, demonstraram associação entre presença de marcadores de infecção do VHC e aumento da mortalidade. Stehman-Breen et al.<sup>35</sup> estudaram 200 pacientes com infecção pelo VHC, diagnosticada pela positividade do anti-VHC ou pela identificação do vírus através de reação em cadeia da polimerase (PCR). Na análise dessa população de doentes, os marcadores de infecção se mostraram fatores independentes de mortalidade. No mesmo sentido, Nakayama et al.<sup>36</sup>, acompanhando 1.470 pacientes por 6 anos e testando-os por ELISA 2, relataram que mortalidade por cirrose e/ou carcinoma hepatocelular foram significativamente maiores entre os portadores de anti-VHC reagente do que nos doentes que apresentavam marcadores negativos.

Da mesma forma, a infecção pelo VHC tem sido apontada como uma das principais causas de morbidade e mortalidade em transplantados de rim<sup>37</sup>. Estudos com seguimentos longos demonstraram uma associação entre presença de anti-VHC e redução da sobrevida<sup>5,6,38</sup>. Mathurin et al.<sup>6</sup> acompanharam 834 pacientes e constataram uma prevalência de 28% de anti-VHC reagentes. Após 5 anos, os autores não encontraram diferença na sobrevida; no entanto, 10 anos após o transplante, apenas 65% dos infectados estavam vivos, em comparação

com 85% do grupo controle. Resultados diversos, mas não contraditórios, foram relatados por Hanafusa et al.<sup>5</sup>, que analisaram retrospectivamente informações coletadas durante um período de 23 anos de 280 pacientes, dos quais 34% eram portadores de anti-VHC. Em 10 anos pós-transplante, os autores não encontraram diferença, mas, após 20 anos, a diferença se mostrou significativa, sendo que apenas 64% dos infectados estavam vivos, em comparação com 88% dos demais.

Em São Paulo, em um total de 1.511 pacientes submetidos a transplantes de rim durante o período de 1965 a 1990, 41 (6,9%) foram a óbito por hepatopatia, em média 10 anos após o transplante; desses óbitos, apenas 17% ocorreram nos primeiros 5 anos<sup>38</sup>.

Em nosso meio, Zamin Jr. et al.<sup>39</sup> acompanharam 43 pacientes em HD reagentes ao anti-VHC por um período médio de 47 meses (13 realizaram transplante renal). Em nove pacientes, foram diagnosticadas hepatite crônica ou cirrose e, nos demais, alterações inespecíficas ou histologia normal. Ocorreram 13 óbitos nesse período; entretanto, o comprometimento hepático não contribuiu para óbito entre os pacientes em HD ou mesmo entre os que realizaram transplante renal.

É importante ressaltar que apenas com seguimentos longos foi possível identificar a associação entre infecção por VHC e aumento da mortalidade nessa população<sup>5,6</sup>.

### **1.3. O tratamento do VHC em pacientes em hemodiálise e transplantados de rim**

O tratamento dos pacientes com hepatite C em HD com alfa-interferon tem sido problemático. Fabrizi et al.<sup>4</sup>, em trabalho de revisão, apresentam estudos que, via de regra, são constituídos por pequeno número de pacientes (de 11 a 37 pacientes) e reportam respostas sustentadas entre 16% e 64%.

Infelizmente, os efeitos adversos são mais freqüentes e graves em pacientes com insuficiência renal<sup>40</sup>. Assim, estudo multicêntrico, realizado na França, planejado para medir o impacto do tratamento com alfa-interferon em 120 pacientes em HD, foi suspenso, por razões éticas, face aos efeitos adversos, após a tentativa de tratar apenas 37 (31%) pacientes. Nos 18 (49%) que completaram o tratamento, a resposta sustentada foi obtida em sete (19% dos tratados)<sup>41</sup>.

Estudo brasileiro<sup>42</sup>, em 46 pacientes de HD tratados com alfa-interferon, descreve resposta sustentada em 10 (22%) casos. Os efeitos adversos levaram à suspensão do tratamento em 11 (24%) pacientes.

A ribavirina tem sido contra-indicada em portadores de nefropatias. Excretada pelos rins, não é removida por diálise, permitindo o surgimento de anemia grave, que, em presença de insuficiência renal, induz a risco de vida<sup>40</sup>. A sua utilização, em doses reduzidas e associada ao alfa-interferon, foi analisada em seis pacientes sem resultados animadores<sup>43</sup>.

As perspectivas com a utilização do interferon peguilado se mostram mais promissoras. Kokoglu et al.<sup>44</sup> reportaram o emprego, por 48 semanas, de interferon peguilado em 12 pacientes de HD infectados pelo VHC genótipo 1. A

maioria apresentou efeitos adversos, porém todos completaram o tratamento, e a resposta sustentada foi obtida em 75% dos casos.

Após transplante de rim, o emprego de alfa-interferon se mostrou problemático, aparentemente por indução à rejeição dos enxertos, não estando autorizada sua utilização nesse tipo de paciente<sup>40,45</sup>.

#### **1.4. Prevenção e controle da infecção por VHC em pacientes em hemodiálise**

Visando a redução do risco de contaminação aos pacientes em HD, além das medidas de controle de infecção relativas à utilização de sangue e derivados, máquinas de HD, filtros e demais elementos, as autoridades sanitárias definiram como estratégia de prevenção da infecção por VHC a realização periódica de testes bioquímicos (alanino-aminotransferase – ALT) e imunológicos (anti-VHC).

Nos EUA, a recomendação do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) é a realização mensal da ALT e semestral do anti-VHC<sup>1</sup>. No Brasil, da mesma forma, a norma emitida pelo Ministério da Saúde prevê a realização mensal da ALT e semestral do anti-VHC<sup>46</sup>. Não existe, no entanto, conduta uniforme por parte dos centros de HD, tendo em vista as adaptações assumidas pelos serviços conforme sua capacidade de disciplina e respeito às regras de prevenção de infecções.

Atualmente, a prevalência média do anti-VHC reagente em serviços de HD nos países desenvolvidos varia entre 8,9% e 13,5%<sup>1,14</sup>. No Brasil, censo nacional e diversas publicações sinalizam prevalências mais elevadas<sup>17,19,23,25-28</sup>, sugerindo que a tática de prevenção através da detecção precoce de marcadores de

infecção pelo VHC, como determinado pelo Ministério da Saúde, deva ser melhorada.

A utilização da ALT como marcador de infecção nessa população apresenta limitações: o valor em urêmicos é menor do que em outros indivíduos infectados, além do que a elevação da enzima pode apresentar um padrão de flutuação<sup>9,47</sup>. Alguns autores têm propugnado que, modificando o padrão de normalidade do método utilizado para sua determinação, poderia tornar-se mais operacional seu uso<sup>22,47,48</sup>.

Saab et al.<sup>49</sup>, em elegante estudo epidemiológico contemplando 2.440 pacientes em HD, relataram que a elevação da ALT teria valor preditivo positivo de apenas 4% para infecção pelo VHC, salientando as limitações do método para prevenção de infecção pelo VHC.

Ao considerarmos os testes imunológicos, sabe-se que a “janela imunológica” entre a infecção pelo VHC e a detecção dos anticorpos específicos varia na dependência do paciente e do teste empregado. Com o advento dos testes de última geração, houve redução do período de “janela imunológica”, ocorrendo a soroconversão entre 7 e 8 semanas após a infecção em população de não-urêmicos<sup>50,51</sup>. Os pacientes urêmicos têm alterações imunológicas que podem afetar a sua capacidade de apresentar uma resposta ao VHC<sup>2</sup>. Foi demonstrado, utilizando o teste ELISA 2, que esse período pode ser maior, tendo a detecção dos anticorpos anti-VHC ocorrido, em média, 6,9 meses após a infecção já ter sido diagnosticada pelo método molecular. Vale ressaltar que, nessa população, o anti-VHC, uma vez presente, pode tornar-se indetectável,

apesar da replicação crônica do vírus, uma vez que se trata de população com comprometimento do sistema imunológico<sup>50-53</sup>.

O diagnóstico da infecção por VHC através da detecção do ácido ribonucléico (RNA) viral pode ser realizado pela determinação qualitativa do VHC-RNA, utilizando técnicas de amplificação molecular<sup>54</sup>. Pode ser detectado 1 a 2 semanas após a exposição e semanas antes de ocorrer elevação da ALT ou surgimento do anti-VHC<sup>1</sup>. A detecção do VHC-RNA pode ser o único método capaz de identificar infecção nos pacientes em HD com inadequada resposta imunológica<sup>55</sup>.

Vários estudos que utilizaram testes moleculares<sup>55-61</sup> visaram identificar pacientes virêmicos não detectados pelos testes imunológicos, tanto de segunda como de terceira geração (falso-negativos). No entanto, os resultados foram díspares, em função da prevalência de infecção e do tipo de teste utilizado.

Em locais de baixa prevalência, falso-negativos do anti-VHC foram identificados em taxas de 0,23% a 2,6% dos pacientes<sup>55-57</sup>, enquanto que, em amostras oriundas de pacientes de unidades com elevadas prevalências, os falso-negativos ocorreram em taxas que variaram de 6,1% a 28,2% dos casos<sup>58-61</sup>. Publicação do CDC reconhece a presença de falso-negativos numa taxa mediana de 3,4%, com variação entre 0% e 28%, e comenta que essa taxa pode estar supra-estimada<sup>1</sup>. No Brasil, foram encontrados falso-negativos em taxas de 2,3% e 8,2% em Porto Alegre<sup>27,28</sup> e de 10,3% em Goiânia<sup>19</sup>.

Os testes ELISA 3 apresentam um desempenho melhor na identificação de pacientes em HD anti-VHC negativos com PCR positiva. Assim, estudos recentes, comparando o teste ELISA 2 com o ELISA 3 em pacientes de HD, relataram

capacidade superior, embora discreta, dos de última geração<sup>50,62-64</sup>. Algumas publicações, utilizando-se do ELISA 3, relataram que o método imunológico foi capaz de identificar todos os pacientes com a PCR positiva, não detectando casos de falso-negativos<sup>24,62,65,66</sup>. Entretanto, sabe-se que a plena identificação dos “falso-negativos” através dos métodos imunológicos, mesmo os de última geração, não é ainda consenso<sup>66</sup>.

Tendo em vista que essa situação (presença de falso-negativos em testes imunológicos) também ocorre em indivíduos imunocompetentes, alguns estudos<sup>67,68</sup> avaliaram populações em bancos de sangue, buscando identificar o VHC em doações de indivíduos infectados. No sentido de obter uma relação custo/benefício mais saudável, avaliaram a técnica de *pool* da PCR. Este teste consiste no exame de amostras de diversos indivíduos (cada *pool* pode ser constituído por até 100 amostras), preparadas por técnicas laboratoriais, de tal sorte que, mesmo quando apenas um caso é positivo, a técnica pode detectá-lo, permitindo, em análises futuras, a identificação específica do indivíduo infectado.

A técnica de *pool* da PCR tem se mostrado útil como estratégia para a redução do risco de transmissão viral em bancos de sangue. Roth et al.<sup>67</sup> testaram, por *pools* da PCR (1:96), mais de 370.000 amostras de doadores de sangue e identificaram 113 casos, dos quais 111 apresentaram teste imunológico positivo. Stramer et al.<sup>68</sup>, em estudo prospectivo, testaram, por *pools* de 1:16 a 1:24, mais de 39 milhões de amostras de doadores de sangue que reagiram negativamente ao teste imunológico e, nestas, encontraram 170 casos positivos, que foram confirmados pela PCR individual.

Schneeberger et al.<sup>55</sup>, testando 2.574 pacientes anti-VHC não-reagentes em HD com *pools* da PCR de 1:5, detectaram 1,1% de positividade, posteriormente confirmada por PCR individual. Salama et al.<sup>57</sup>, em aproximadamente 1.000 pacientes não-reagentes testados por *pools* de 1:10, detectaram 0,5% de positivos. Garinis et al.<sup>69</sup>, em 200 pacientes de HD, não selecionados, testados por *pools* de 1:10, demonstraram que 8% eram positivos, confirmados a seguir por PCR individual. Esses estudos sugerem que essa estratégia possa auxiliar na prevenção da transmissão do VHC em pacientes de HD.

Tendo em vista as elevadas prevalências do VHC em unidades de HD no Brasil, é possível considerar que as taxas de falso-negativos do anti-VHC possam ser elevadas.

Dois estudos nacionais, publicados recentemente, em pacientes de HD e utilizando o ELISA 3, apresentam resultados díspares. Enquanto em um estudo<sup>24</sup> foram relatados falso-negativos do anti-VHC numa taxa de 8,2%, no outro<sup>28</sup> o mesmo foi de 0%.

Diante de tal realidade, valeria questionar se a realização de testes utilizando a técnica do *pool* de PCR teria capacidade de identificar os casos de falso-negativos oriundos das técnicas do ELISA, uma vez que o papel da PCR individualizada no conjunto de estratégias para prevenir infecção pelo VHC em HD permanece indefinido.

Do exposto, podemos constatar que as estratégias empregadas, de momento, na prevenção de infecção pelo VHC, com utilização de testes bioquímicos e imunológicos, definidas por organismos internacionais e

nacionais<sup>1,46</sup>, ainda permitem questionamentos relativos ao uso da PCR como ferramenta de prevenção. O emprego de exames moleculares, embora melhor para o diagnóstico, apresenta limitações técnicas e de custos, não sendo, então, consenso sua utilização.

O presente estudo pretende avaliar os testes imunológico e molecular de diagnóstico de infecção do VHC em pacientes com doença renal crônica em HD. Assim, propõe-se a definir características de desempenho do teste imunológico, bem como testar a utilização do *pool* da PCR nessa população de enfermos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Identificar a prevalência do VHC e a razão de probabilidade positiva e negativa do teste imunológico de infecção para o VHC (anti-VHC) em comparação com o molecular (PCR) em portadores de doença renal crônica em HD, bem como estimar a concordância da técnica do *pool* da PCR com a PCR realizada individualmente na detecção da infecção pelo VHC.

### 2.2. Objetivos específicos

- Comparar as características demográficas e epidemiológicas de infecção para o VHC em portadores de doença renal crônica em HD com teste imunológico positivo e negativo e com teste molecular positivo e negativo.

- Avaliar a importância do índice sinal/*cut-off* do teste imunológico positivo para o diagnóstico da infecção pelo VHC em portadores de doença renal crônica em HD.

- Verificar a distribuição dos genótipos do VHC em portadores de doença renal crônica em HD.

- Estimar a concordância do teste molecular, realizado em dois momentos, com intervalo médio de 9 meses, em portadores de doença renal crônica em HD.

- Verificar a incidência, em 12 meses, de anti-VHC reagente em portadores de doença renal crônica em HD.

## **3. PACIENTES E MÉTODOS**

### **3.1. Delineamento**

Foi realizado estudo de coorte contemporâneo. O enfoque desse estudo foi diagnóstico.

### **3.2. Pacientes**

Foram estudados, prospectivamente, durante o período de 1º de agosto de 2005 a 30 de agosto de 2006, pacientes com o diagnóstico de doença renal crônica submetidos a tratamento de HD.

Os critérios para inclusão no estudo foram: estar em tratamento de HD há mais de 6 meses, ter mais do que 18 anos de idade, concordar em participar do estudo, assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1) e ter condições cognitivas para responder ao questionário estruturado (Anexo 2). Todos os pacientes que preenchiam os critérios de inclusão foram entrevistados.

O tamanho da amostra estimado foi de 300 pacientes, considerando uma frequência de virêmicos de 3% dos anti-VHC negativos, com um erro aceitável de 1,5% e para um intervalo de confiança de 95% (IC 95%).

Entre as 13 unidades de HD situadas na cidade de Porto Alegre, escolheu-se quatro distintas, de grande e pequeno porte. Os 13 centros foram divididos em dois grupos (com mais ou com menos de 70 pacientes, que era a média de pacientes atendidos por unidade). De cada grupo, escolheu-se, por sorteio, duas

unidades, que seriam representativas do todo, tendo em vista o número de pacientes e as características físicas e funcionais dos centros.

### **3.3. Métodos**

Os pacientes incluídos no estudo foram entrevistados para responder ao questionário e permitiram a coleta de amostras de sangue para realização dos testes laboratoriais.

#### *3.3.1. Variáveis*

Os dados demográficos e as características clínicas foram coletados por entrevistadores diretamente com os pacientes, sendo, para este fim, desenvolvido questionário estruturado. As entrevistas foram realizadas nas unidades de HD, sendo preservada a privacidade das informações. Os pesquisadores, previamente treinados, estavam “cegos” com relação aos resultados dos exames laboratoriais.

Dados complementares foram obtidos dos prontuários dos pacientes.

No Quadro 1, é apresentada a lista de variáveis estudadas. Considera-se como dados primários aqueles obtidos a partir da entrevista com o paciente e como secundários as informações obtidas dos prontuários.

**Quadro 1.** Descrição das variáveis, tipo de variável e suas características.

Variável	Tipo de variável	Características
Idade do paciente	Contínua	Dados primários
Sexo	Categórica	Dados primários
Etiologia da insuficiência renal crônica	Categórica	Dados secundários
Tempo de hemodiálise	Contínua	Dados secundários
Realização de transfusões de sangue e/ou derivados	Categórica	Dados primários e secundários
Número de transfusões realizadas	Contínua	Dados primários e secundários
História de uso de drogas injetáveis	Categórica	Dados primários e secundários
Presença de anti-VHC ao iniciar a hemodiálise	Categórica	Dados primários e secundários

### 3.3.2. Testes laboratoriais

Todos os pacientes, antes da sessão de HD, foram submetidos a coleta de sangue para realização dos exames laboratoriais ALT e anti-VHC.

Simultaneamente, foi realizada a PCR qualitativa, método *in house* com limite de detecção de 200 UI/mL. Aqueles pacientes com resultados positivos tiveram o genótipo do vírus determinado pela técnica de *restriction fragment length polymorphism* (RFLP).

Em outra etapa, 6 a 12 meses após, todos os pacientes que permaneceram em HD e que eram anti-VHC reagentes repetiram o exame molecular. Os demais, não-reagentes, repetiram o exame imunológico 12 meses após.

### 3.3.2.1 A constituição dos *pools* e estratégia de análise

Na eventualidade de identificar-se pacientes anti-VHC não-reagentes, mas PCR positivos nos testes iniciais, todas as amostras seriam, novamente, submetidas a testes moleculares através de *pools*. Para a formação dos *pools*, seria adicionado 0,1 mL de cada amostra de sangue coletado, compondo *pools* com 10 amostras.

Os *pools* constituídos e identificados seriam tabulados em linhas e colunas (cada “célula” consistiria de uma amostra), o que possibilitaria analisar 100 amostras com 20 testes. Dessa forma, o esquema proposto seria diagramado como se observa no quadro 2.

**Quadro 2.** Esquema proposto para os *pools*.

	<i>Pool A</i>	<i>Pool B</i>	<i>Pool C</i>	<i>Pool D</i>	<i>Pool E</i>	<i>Pool F</i>	<i>Pool G</i>	<i>Pool H</i>	<i>Pool I</i>	<i>Pool J</i>
<i>Pool K</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Pool L</i>	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>Pool M</i>	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
<i>Pool N</i>	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
<i>Pool O</i>	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
<i>Pool P</i>	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
<i>Pool Q</i>	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
<i>Pool R</i>	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
<i>Pool S</i>	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
<i>Pool T</i>	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100

### 3.3.2.2. As técnicas dos testes laboratoriais

As amostras foram coletadas por técnicos de enfermagem dos centros de HD.

Nas análises bioquímicas e imunológicas, foram utilizadas as seguintes técnicas:

a) Para dosagem da ALT, foi utilizado o método de química seca que emprega o equipamento VITROS 950 (Johnson & Johnson). Os valores considerados normais para indivíduos do sexo masculino variam entre 17-56 U/L e, para o feminino, entre 14-36 U/L.

b) No teste do anti-VHC, foi utilizado método de quimioluminescência ampliada (*enhanced chemiluminescence immunoassay* – terceira geração), que emprega equipamento VITROS ECI (Johnson & Johnson). O resultado do teste expressa a relação entre o sinal da amostra e o valor do *cut-off* (índice sinal/*cut-off*), que são calculados automaticamente pelo sistema VITROS. Resultado  $\geq 1$  indica amostra reagente.

Publicação do CDC<sup>70</sup> informa que testes com índice sinal/*cut-off* superior ou igual a oito predizem positividade do teste suplementar em 95% a 98% dos casos.

Os *kits* foram adquiridos com fins precípuos para a realização deste estudo, permitindo uma adequada padronização.

c) Os pacientes infectados com HIV e/ou VHB foram identificados por testes rotineiramente realizados pelas unidades de HD.

d) Os testes moleculares (PCR e genotipagem) foram realizados no laboratório Simbios Biotecnologia, e os técnicos que os realizaram eram “cegos” com relação ao resultado dos exames imunológicos.

Utilizou-se, na etapa de extração do RNA viral, centrífugas, termoblocos e estufas; nas etapas de transcrição reversa e amplificação, termociclador (marca Applied Biosystem 9700); e, na etapa de detecção dos produtos amplificados, fonte para eletroforese vertical em gel de poliacrilamida.

Foram obedecidas as seguintes técnicas:

a) Para extração do RNA viral: metodologia de extração por sílica adaptada de Boom et al.<sup>71</sup>.

b) Para amplificação do RNA viral: *RT-PCR nested* (dupla amplificação), conforme descrito por Lunge et al.<sup>72</sup>.

c) Para detecção dos produtos amplificados: eletroforese em gel de poliacrilamida, visualizados após coloração com nitrato de prata, conforme descrito por Sanguinetti et al.<sup>73</sup>.

d) Para identificação dos genótipos do VHC pela técnica de RFLP, baseou-se na publicação original de McOmish et al.<sup>74</sup> e adaptada por Fonseca et al.<sup>75</sup>: após transcrição reversa e amplificação (RT-PCR), alíquotas de 2-5 mL do produto amplificado foram submetidas à clivagem com cinco enzimas de restrição (Rsa I, Hae III, Bstn I, Hinf I e Acc II). Após a digestão, o material foi submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida 12,5% e visualizado por coloração com nitrato de prata<sup>73</sup>. O padrão de bandas obtido foi analisado, e a confirmação do genótipo, realizada por comparação com dados publicados e seqüências dos

genótipos e subtipos obtidas em banco de dados de genes (DDBJ, GenBank-NCBI, EMBL).

### **3.4. Considerações éticas**

Este estudo incluiu análise de informações clínico-laboratoriais obtidas através de entrevista dirigida e de testes em amostras de sangue, que rotineiramente são coletados nos pacientes em HD, não implicando em risco adicional aos incluídos no estudo.

Foi fornecido, a todos, o termo de consentimento livre e esclarecido e obtida sua aquiescência através de assinatura do paciente (ou de seu representante legal) antes da entrevista e da coleta das amostras de sangue. No termo de consentimento livre e esclarecido, constavam informações ao paciente sobre os objetivos do trabalho, a utilização e o sigilo dos dados e de que não haveria qualquer custo adicional ao mesmo.

O presente estudo foi aprovado pelos comitês de ética em pesquisa das seguintes instituições da cidade de Porto Alegre: Grupo Hospitalar Conceição (Anexo 3), Hospital Mãe de Deus (Anexo 4), Hospital Ernesto Dornelles (Anexo 5) e Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (Anexo 6).

### **3.5. Análise estatística**

Na avaliação da acurácia do teste diagnóstico anti-VHC em relação ao da PCR, foram utilizadas as medidas de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, IC 95% e razão de probabilidade (*likelihood ratio*) (Anexo 7). Para verificar a força de concordância entre o anti-VHC e a PCR e entre os

resultados das PCR, medidas em dois momentos distintos, foi utilizado o teste Kappa (Anexo 8).

Utilizou-se métodos descritivos para realizar a análise univariada. Foi realizada, também, análise bivariada, na qual se obteve a razão de produto cruzado (*odds ratio* – OR) e o IC 95%. Quando houve necessidade de realizar análise estratificada, utilizou-se o teste qui-quadrado de Mantel-Haenszel na análise de regressão logística. Considerou-se diferença estatisticamente significativa p menor do que 0,05.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Casuística

Estavam em tratamento de hemodiálise 389 pacientes, dos quais 64 (16%) foram excluídos: 35 realizavam tratamento há menos de 6 meses, sete tinham idade menor do que 18 anos, quatro não apresentavam condições cognitivas de responder ao questionário, seis estavam temporariamente afastados da unidade de HD por hospitalização ou viagem e 12 foram perdas por recusa.

A amostra constituiu-se de 325 pacientes, com média de idade de  $54,4 \pm 15$  anos, variando entre 22 e 90 anos, sendo 189 (58,2%) do sexo masculino.

Estavam em HD, em média, há  $56,2 \pm 57$  meses e tinham o valor médio da creatinina de  $9,6 \pm 3,2$  mg/dL.

As etiologias da doença renal crônica tiveram a seguinte distribuição: hipertensão arterial sistêmica em 194 (59,7%), diabetes melito em 56 (17,2%), glomerulopatias em 36 (11,1%), rins policísticos em 16 (4,9%), uropatia obstrutiva em 10 (3,1%), nefropatia por ciclosporina em três (0,9%), etiologia desconhecida em cinco (1,5%) e não informada em cinco (1,5%).

Infecções mistas do VHC, considerando o anti-VHC reagente, com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e/ou com o VHB, foram encontradas em 16 (4,9%) casos: em dois (0,6%), infecções pelo HIV, VHB e VHC; em nove (2,7%), pelo HIV e VHC; e em cinco (1,5%), pelo VHB e VHC.

Infecções isoladas pelo VHB foram observadas em quatro pacientes (1,2%), e pelo HIV, em um (0,3%). Em todos, o anti-VHC foi não-reagente, e a

PCR, negativa. Por terem se mostrado negativos ao teste imunológico e molecular, foram considerados como verdadeiros negativos e não foram excluídos do presente estudo.

#### **4.2. Prevalência e relação entre os marcadores imunológicos e moleculares de infecção pelo VHC na amostra**

Dos 325 pacientes estudados, 107 (32,9%) eram anti-VHC reagentes e 217 (66,7%) eram não-reagentes.

Em um caso (0,3%), o resultado do anti-VHC foi indeterminado; neste, a PCR foi negativa (este caso foi excluído da amostra quando as análises envolviam os testes imunológicos).

A PCR foi positiva em 68 pacientes (63,5% dos anti-VHC reagentes), o que representou 21% do total da amostra.

Em 68 (21%), encontramos anti-VHC reagente e PCR positiva; em 39 (12%), anti-VHC reagente e PCR negativa; em 217 (67%), anti-VHC não-reagente e PCR negativa; e não foi detectado nenhum paciente anti-VHC não-reagente e com PCR positiva. Esses dados podem ser observados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Distribuição dos marcadores imunológicos e moleculares de infecção pelo VHC na amostra.

	PCR positiva	PCR negativa	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
Anti-VHC reagente	68 (21)	39 (12)	107 (33)
Anti-VHC não-reagente	0	217 (67)	217 (67)
Total	68 (21)	256 (79)	324

Kappa = 0,68 (0,60-0,77).

A análise das características do anti-VHC em relação à PCR mostrou sensibilidade de 100% (IC 95% 100 a 100) e especificidade de 85% (IC 95% 81 a 89). O valor preditivo positivo do achado de anti-VHC reagente como indicativo de PCR positiva foi de 64% (IC 95% 58 a 69), enquanto que o valor preditivo negativo do achado de anti-VHC não-reagente como indicativo de PCR negativa foi de 100% (IC 95% 100 a 100). O cálculo da razão de probabilidade (*likelihood ratio*) positiva foi de 6,56, e da negativa, inferior a 0,01; o resultado do teste Kappa foi de 0,68 (0,60 a 0,77).

#### **4.3. Pool da PCR do VHC**

A utilização de *pools* da PCR na identificação de pacientes anti-VHC não-reagentes, mas virêmicos (“falso-negativos”), foi inviabilizada, pois, neste estudo, não foi detectado nenhum paciente com essas características.

#### **4.4. Comparação das características demográficas, epidemiológicas e de marcadores de infecção entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise com e sem anti-VHC reagente e com e sem PCR positiva**

##### *4.4.1. Comparação entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise com e sem anti-VHC reagente*

Na amostra de 324 pacientes, comparou-se os 107 (33%) anti-VHC reagentes com os 217 (67%) não-reagentes quanto aos seguintes aspectos, respectivamente: 1) Sexo masculino: 68 (63%) *versus* 120 (55%) (razão dos produtos cruzados ou RPC = 1,4; IC 95% 0,8 a 2,3) ( $p = 0,19$ ); 2) Idade (anos): 23 a 83 (média:  $51,4 \pm 13,9$ ) *versus* 22 a 90 (média:  $55,8 \pm 14,9$ ) ( $p < 0,01$ ); 3) Tempo médio de tratamento em HD (meses):  $82,6 \pm 72,5$  *versus*  $43,4 \pm 42,7$  ( $p < 0,01$ ); 4) Transfusão de sangue: 96 (90%) *versus* 72 (69%) ( $p < 0,01$ ); 5) Número de transfusões de sangue:  $5,4 \pm 3,4$  *versus*  $3,1 \pm 4,2$  ( $p < 0,01$ ); 6) Uso de droga injetável: 10 (9%) *versus* 1 (0,4%) (RPC = 22,2; IC 95% 2,9 a 479,4) ( $p < 0,01$ ); 7) Valor médio da ALT (U/L):  $33,2 \pm 18$  *versus*  $27,4 \pm 27,5$  ( $p < 0,01$ ). Estes dados podem ser observados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Comparação entre pacientes em hemodiálise, com e sem anti-VHC reagente.

<b>Variável</b>	<b>Anti-VHC reagente</b>	<b>Anti-VHC não-reagente</b>	<b>p</b>
Amostra, n (%)	107 (33)	217 (67)	
Sexo masculino, n (%)	68 (63)	120 (55)	0,19
Idade, m $\pm$ DP	51,4 $\pm$ 13,9	55,8 $\pm$ 14,9	< 0,01
Tempo de hemodiálise, meses, m $\pm$ DP	82,6 $\pm$ 72,5	43,4 $\pm$ 42,7	< 0,01
Transfusão de sangue, n (%)	96 (90)	72 (69)	< 0,01
Numero de transfusões, m $\pm$ DP	5,4 $\pm$ 3,4	3,1 $\pm$ 4,2	< 0,01
Uso de drogas injetáveis, n (%)	10 (9)	1 (0,4)	< 0,01
Valor da ALT (U/L), m $\pm$ DP	33,2 $\pm$ 18	27,4 $\pm$ 27,5	< 0,01

m = média; DP = desvio padrão.

Como se pode depreender, os pacientes anti-VHC reagentes tinham média de idade significativamente menor. Encontrou-se associação entre todos os fatores de risco considerados com o marcador imunológico de infecção. A ALT se mostrou significativamente mais elevada entre os infectados.

Para avaliar a participação de cada fator no desfecho, utilizou-se da regressão logística, contemplando no modelo as seguintes variáveis: sexo, idade, tempo de tratamento em HD por mais de 5 anos, ter realizado transfusão de sangue e relato de uso de drogas injetáveis. Não se observou diferença para o sexo (OR = 1,5; IC 95% 0,9 a 2,5) (p = 0,15) e idade (OR = 1,8; IC 95% 0,4 a 1,2) (p = 0,18), enquanto tempo de tratamento em HD por mais de 5 anos (OR = 3,2; IC 95% 1,9 a 5,5) (p < 0,01), ter realizado transfusão de sangue (OR = 3,8; IC

95% 1,7 a 8,1) ( $p < 0,01$ ) e história de uso de drogas injetáveis (OR = 25,5; IC 95% 2,9 a 225,3) ( $p < 0,01$ ) se mostraram fatores independentes de risco para anti-VHC reagente. A análise aqui referida pode ser observada na Tabela 3.

**Tabela 3.** Regressão logística de fatores de risco para anti-VHC reagente.

Variável	OR ajustado	IC 95%	p
Sexo	1,5	0,9 a 2,5	0,15
Idade	1,8	0,4 a 1,2	0,18
Hemodiálise > de 5 anos	3,2	1,9 a 5,5	<0,01
Transfusão de sangue	3,8	1,7 a 8,1	<0,01
Uso de drogas injetáveis	25,5	2,9 a 225,3	<0,01

OR = *odds ratio*.

Como se pode depreender, as variáveis que se mostraram associadas independentes ao desfecho foram: realizar tratamento de HD por mais de 5 anos, ter realizado transfusão de sangue e ter referido uso de drogas injetáveis.

#### 4.4.2. Comparação entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise com e sem PCR positiva

Na amostra de 325 pacientes, comparou-se os 68 pacientes (21%) com PCR positiva com os 257 (79%) em que a mesma foi negativa quanto aos seguintes aspectos, respectivamente: 1) Sexo masculino: 41 (62%) *versus* 148 (57%) (RPC = 1,3 IC 95% 0,7 a 2,4) ( $p = 0,46$ ); 2) Idade (anos): 23 a 83 (média:  $53,2 \pm 14,2$ ) *versus* 22 a 90 (média:  $54,6 \pm 14,8$ ) ( $p = 0,30$ ); 3) Tempo médio de tratamento em HD (meses):  $71 \pm 65$  *versus*  $52,4 \pm 54,6$  ( $p = 0,02$ ); 4) Transfusão

de sangue: 60 (92%) *versus* 187 (72%) ( $p < 0,01$ ); 5) Número médio de transfusões de sangue:  $4,9 \pm 3$  *versus*  $3,6 \pm 4,2$  ( $p < 0,01$ ); 6) Uso de droga injetável: 9 (13%) *versus* 2 (0,7%) (RPC = 19,4; IC 95% 3,7 a 135,9) ( $p < 0,01$ ); 7) Anti-VHC reagente ao iniciar HD: 33 (60%) (pesquisado em 55 casos) *versus* 10 (4%) (pesquisado em 247 casos) (RPC = 35,5; IC 95% 14,5 a 89,6) ( $p < 0,01$ ); 8) Valor médio da ALT (U/L):  $39,8 \pm 18,9$  *versus*  $26,5 \pm 25,5$  ( $p < 0,01$ ). Podemos observar os dados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Comparação entre pacientes em hemodiálise, com e sem a PCR positiva.

Variável	PCR positiva	PCR negativa	p
Amostra, n (%)	68 (21)	257 (79)	
Sexo masculino, n (%)	41 (62)	148 (57)	0,46
Idade, m $\pm$ DP	$53,2 \pm 14,2$	$54,6 \pm 14,8$	0,30
Tempo de hemodiálise, meses, m $\pm$ DP	$71 \pm 65$	$52,4 \pm 54,6$	0,02
Transfusão de sangue, n (%)	60 (92)	187 (72)	< 0,01
Numero de transfusões, m $\pm$ DP	$4,9 \pm 3$	$3,6 \pm 4,2$	< 0,01
Uso de droga injetável, n (%)	9 (13)	2 (0,7)	< 0,01
Anti-VHC reagente ao iniciar a hemodiálise, n (%)	33/55 (60)	10/247 (4)	< 0,01
Valor da ALT (U/L), m $\pm$ DP	$39,8 \pm 18,9$	$26,5 \pm 25,5$	< 0,01

m = média; DP = desvio padrão.

Como se pode depreender, os grupos não diferiram com relação aos dados demográficos. Encontrou-se associação entre os fatores de risco com a viremia. A

presença do anti-VHC reagente ao iniciar o tratamento e a média da ALT mais elevada também se associaram com a infecção.

Para avaliar a participação de cada fator no desfecho, utilizou-se da regressão logística, contemplando, no modelo, as seguintes variáveis: sexo, idade, tempo de tratamento em HD por mais de 5 anos, ter realizado transfusão de sangue e relato de uso de drogas injetáveis. Não se observou diferença para o sexo (OR = 1,2; IC 95% 0,6 a 2,1) ( $p = 0,58$ ) e idade (OR = 1; IC 95% 0,9 a 1) ( $p = 0,89$ ), enquanto que as variáveis tempo de tratamento em HD por mais de 5 anos (OR = 2,1; IC 95% 1,2 a 3,8) ( $p < 0,01$ ), ter realizado transfusão de sangue (OR = 3,7; IC 95% 1,4 a 9,5) ( $p < 0,01$ ) e história de uso de drogas injetáveis (OR = 22,6; IC 95% 4,2 a 119,6) ( $p < 0,01$ ) se mostraram fatores independentes de risco para PCR positiva. Podemos observar os dados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Regressão logística de fatores de risco para PCR positiva.

Variável	OR ajustado	IC 95%	p
Sexo	1,2	0,6 a 2,1	0,58
Idade	1	0,9 a 1	0,89
Hemodiálise > de 5 anos	2,1	1,2 a 3,8	< 0,01
Transfusão de sangue	3,7	1,4 a 9,5	< 0,01
Uso de drogas injetáveis	22,6	4,2 a 119,6	< 0,01

OR = *odds ratio*.

Como se pode depreender, as variáveis que se mostraram associadas independentes ao desfecho foram: realizar tratamento de HD por mais de 5 anos, ter realizado transfusão de sangue e ter referido uso de drogas injetáveis.

**4.5. Comparação entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise, anti-VHC reagentes, com o índice sinal/*cut-off* do teste imunológico (quimioluminescência ampliada) maior ou igual versus menor do que oito**

Na amostra de 107 pacientes anti-VHC reagentes, comparou-se os 94 (88%) com o índice sinal/*cut-off* do teste maior ou igual a oito com os 13 (12%) menor do que oito, quanto aos seguintes aspectos, respectivamente: 1) Sexo masculino: 61 (65%) *versus* 7 (53%) (RPC = 1,58; IC 95% 0,43 a 5,84) ( $p = 0,43$ ); 2) Idade (anos): 23 a 83 (média:  $51,9 \pm 14$ ) *versus* 23 a 73 (média:  $47,7 \pm 12,9$ ) ( $p = 0,34$ ); 3) Tempo médio de tratamento em HD (meses):  $84,1 \pm 73,5$  *versus*  $71,2 \pm 65,5$  ( $p = 0,58$ ); 4) Transfusão de sangue: 85 (90%) *versus* 11 (84%) ( $p = 0,43$ ); 5) Número médio de transfusões de sangue:  $5,3 \pm 3,4$  *versus*  $5,4 \pm 2,8$  ( $p = 0,68$ ); 6) Uso de droga injetável: 10 (10,6%) *versus* 0 (0%) (RPC = indefinido) ( $p = 0,25$ ); 7) Anti-VHC reagente ao iniciar HD: 39 (53,4%, pesquisado em 73 casos) *versus* 3 (25%, pesquisado em 12 casos) (RPC = 3,44; IC 95% 0,76 a 17,61) ( $p = 0,06$ ); 8) Valor médio da ALT (U/L):  $34,5 \pm 18,6$  *versus*  $24 \pm 9$  ( $p = 0,02$ ); 9) PCR positiva: 67 (71,2%) *versus* 1 (7,6%) (RPC = 29,8 IC 95% 3,69 a 643,14) ( $p < 0,01$ ). Os dados podem ser observados na Tabela 6.

**Tabela 6.** Comparação entre portadores de doença renal crônica em hemodiálise, anti-VHC reagentes, com o índice sinal/*cut-off* do teste imunológico (quimioluminescência ampliada) maior ou igual *versus* menor do que oito.

Variável	Índice s/co ≥ 8	Índice s/co < 8	p
	n (%)	n (%)	
Amostra, n (%)	94 (88)	13 (12)	
Sexo masculino, n (%)	61 (65)	7 (53)	0,43
Idade, m ± DP	51,9 ± 14	47,7 ± 12,9	0,34
Tempo de hemodiálise, meses, m ± DP	84,1 ± 73,5	71,2 ± 65,5	0,58
Transfusão de sangue, n (%)	85 (90)	11 (84)	0,43
Numero de transfusões, m ± DP	5,3 ± 3,4	5,4 ± 2,8	0,68
Uso de droga injetável, n (%)	10 (10,6)	0 (0)	0,25
Anti-VHC reagente ao iniciar a hemodiálise, n (%)	39/73 (53,4)	3/12 (25)	0,06
Valor da ALT (U/L), m ± DP	34,5 ± 18,6	24 ± 9	0,02
PCR positiva, n (%)	67 (71,2)	1 (7,6)	< 0,01

m = média; DP = desvio padrão; s/co = sinal/*cut-off*.

Como se pode depreender, a despeito do tamanho da amostra, os grupos não diferem com relação aos dados demográficos e à presença de fatores de risco. Anti-VHC reagente ao iniciar o tratamento apresentou uma tendência, enquanto a média mais elevada da ALT e a presença da viremia associaram-se de forma significativa aos que tinham o teste imunológico com índice sinal/*cut-off* igual ou acima de oito. Ressalte-se que somente em 7,6% dos pacientes anti-VHC reagentes com índice abaixo de oito a PCR-VHC foi positiva.

#### **4.6. Distribuição dos genótipos na amostra**

A determinação dos genótipos foi realizada nos 68 pacientes PCR positivos e revelou a seguinte distribuição: genótipo 1 em 44 (64,7%); genótipo 2 em um (1,5%); e genótipo 3 em 23 (33,8%) pacientes.

#### **4.7. Concordância entre os resultados das PCR, medidos em dois momentos, com intervalo médio de 9 meses**

Dos 107 pacientes anti-VHC reagentes, após período de 6 a 12 meses, tivemos 14 (13%) óbitos, um (1%) transplante de rim, uma (1%) modificação do tratamento para diálise peritoneal, quatro (3,7%) transferências para outro local de tratamento, um (1%) abandono e uma (1%) recusa. Em 85 (79%), repetimos a PCR em um período médio de 9 meses e tivemos o mesmo resultado em 81 (95%). Em dois (2,3%), o resultado positivo tornou-se negativo, e o inverso ocorreu em outros dois (2,3%) casos, em que resultados negativos tornaram-se positivos. O resultado do teste Kappa foi de 0,89 (0,79-1,00).

#### **4.8. Soroconversão do anti-VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise, em 12 meses**

Dos 217 não-reagentes, estudamos os 106 que ingressaram na fase inicial do estudo; destes, após 12 meses, tivemos 18 (17%) óbitos, quatro (3,5%) transplantes de rim, duas (2%) conversões para diálise peritoneal e seis (5,5%) transferências para outro local de tratamento. Nos 76 (72%) restantes, testamos o anti-VHC, dos quais um (1,3%) tornou-se reagente. O índice sinal/*cut-off* do teste foi de 1,17, e a PCR foi negativa.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Prevalência e relação entre os marcadores imunológicos e moleculares de infecção pelo VHC na amostra

Os pacientes em HD crônica são de alto risco para infecções<sup>1,2</sup>, tornando de importância aquelas que contribuem para a morbi-mortalidade dessa população de doentes. No presente estudo, priorizamos a avaliação do VHC, por entendermos ser ele um dos que maior impacto traz à história natural destes pacientes.

Para tanto, avaliamos de forma prospectiva uma coorte de 325 pacientes. A seleção da coorte traduz a realidade dos enfermos das unidades de HD de Porto Alegre, uma vez que se trata de uma amostra representativa da mesma.

Estudos realizados em unidades de HD de vários países, utilizando testes de primeira, segunda e terceira geração, apresentaram grande variabilidade na prevalência do anti-VHC. Revisão realizada considerando estudos com ELISA 1 relatou prevalências entre 1% e 54% em diversos países<sup>11</sup>. Os testes de segunda e terceira geração se mostraram mais sensíveis para detectar infecção<sup>62-64</sup>. Utilizando-se desses testes, dois estudos<sup>13,14</sup> que envolveram mais de 18 mil pacientes de HD de diversos países relataram prevalências de infecções pelo VHC que variaram entre 2,6% e 68% dos casos.

De qualquer maneira, os testes imunológicos de terceira geração, de grande sensibilidade e especificidade, nesse peculiar tipo de paciente com

comprometimento do sistema imunológico, podem apresentar resultados falso-positivos e falso-negativos<sup>18,63,76</sup>.

No presente estudo, utilizamos a quimioluminescência ampliada como teste para a detecção do anti-VHC. A comparação dos testes enzima-imunoensaio (ELISA 3) com os da quimioluminescência ampliada em estudo de Dufour et al.<sup>77</sup> apresentou resultados semelhantes, ou seja: sensibilidade de 100% e 99,9%, especificidade de 97,3% e 99,2% e valor preditivo positivo de 93% e 98%, respectivamente. Ao avaliarmos essa população de doentes, encontramos anti-VHC reagente em 33% dos casos, iguais aos 33,3% de Ono-Nita et al.<sup>23</sup> em Santa Catarina, mas superior à prevalência média de 15,4% expressa no censo nacional<sup>17</sup>. Quando considerados, no mesmo relatório, apenas os pacientes de HD tratados no Rio Grande do Sul, a prevalência foi de 23,5%<sup>17</sup>, mais próxima da descrita nesta pesquisa.

Em diversas cidades brasileiras, foram relatadas taxas que variaram entre 7,4% e 90,4%<sup>18-24</sup>, e, em Porto Alegre, entre 29,8% e 41,6% dos casos, onde mais de 700 pacientes foram estudados<sup>25-28</sup>.

Quando observada a prevalência média, com testes de última geração, em países desenvolvidos, a taxa descrita é em torno de 10%. A maior prevalência aqui descrita, consistente com outros autores nacionais, pode expressar a qualidade da assistência prestada a essa população de enfermos.

As taxas encontradas em HD foram muito superiores às de 1,7% em doadores de sangue da cidade de Porto Alegre<sup>78</sup>.

A prevalência de PCR do VHC positiva no estudo em foco foi de 21% da amostra.

Pacientes em HD reagentes aos testes imunológicos apresentam PCR positiva, em percentagens que variam entre 53% e 100% dos casos<sup>1</sup>. Tal flutuação pode ocorrer face ao clareamento viral, flutuação da viremia ou viremia abaixo do limite de detecção da PCR empregada. Fatores específicos do processo de HD devem ser considerados. Assim, a heparina utilizada no procedimento pode interferir no teste, bem como a adsorção de partículas virais pelos dialisadores ou a destruição pela pressão hidráulica exercida<sup>4,11,63</sup>. Por outro lado, deve ser considerada a possibilidade de falso-positivos nos testes imunológicos, na decorrência de maior sensibilidade dos testes de última geração<sup>18,63,76</sup>. Sabe-se que os testes imunológicos entre populações de imunodeprimidos, como pacientes de HD, podem apresentar taxas de falso-positivos de até 15%. Ressalte-se que considerar um indivíduo infectado por VHC unicamente com o teste imunológico é crítico, por isso recomenda-se que os testes positivos sejam verificados com testes suplementares específicos, principalmente quando apresentarem índice sinal/*cut-off* baixo<sup>50,70</sup>.

Na Espanha, em 134 doentes em HD, dos quais 12 eram anti-VHC reagentes, a PCR foi positiva em 42% dos casos<sup>66</sup>. Em estudo multicêntrico, na França<sup>57</sup>, em 1.323 pacientes, foi observado anti-VHC reagente em 216, e a PCR foi positiva em 70%. Na Holanda<sup>55</sup>, em mais de 2.000 pacientes, a PCR foi positiva em 72% dos casos em que o anti-VHC foi reagente. Nos EUA<sup>35,56,64</sup>, taxas entre 77% e 96% de PCR positiva foram observadas entre pacientes reagentes aos testes imunológicos.

No presente estudo, a PCR resultou positiva em 63,5% dos pacientes anti-VHC reagentes, semelhantes aos 62% e 63,5%, respectivamente, encontrados

em 813 pacientes do estado de Santa Catarina<sup>23</sup> e em 428 da cidade de Goiânia<sup>19</sup> e muito próximos aos 69% e 73,6%, respectivamente, relatados em 74 e 125 pacientes das cidades de Curitiba<sup>79</sup> e Salvador<sup>80</sup>. Por outro lado, essa percentagem foi inferior aos 87% a 100% encontrados em quase 1.200 pacientes descritos por outros estudos realizados no Brasil<sup>18,20,21,27</sup>.

A diferença observada poderia ser explicada pela utilização, em nosso estudo, de técnica da PCR com limite de detecção de 200 UI/mL, menos sensível, considerando as características da amostra.

Os testes imunológicos em pacientes em HD podem falhar na detecção dos doentes virêmicos. A fraca resposta imune a uma variedade de estímulos antigênicos que os portadores de doença renal crônica apresentam seria a provável explicação<sup>81</sup>. Sabe-se, também, que o período de “janela imunológica” nessa população tende a ser maior, propiciando, assim, o surgimento de falso-negativos do teste imunológico<sup>2</sup>.

Em locais de baixa prevalência de infecção, falso-negativos do anti-VHC foram identificados em taxas de 0,23% a 2,6% dos pacientes<sup>56-57</sup>, enquanto que, em amostras com elevadas prevalências, os falso-negativos ocorreram entre 6,1% e 28,2% dos casos<sup>58-61</sup>.

No Brasil, falso-negativos em taxas entre 1,8% e 3,0% foram descritos em amostras com prevalências de marcadores de infecção inferiores a 14%<sup>18,21</sup>, e onde foram superiores aos 30%, os falso-negativos ocorreram entre 2,3% e 10,3% dos casos<sup>19,27,28</sup>.

No presente estudo, não detectamos nenhum caso de viremia entre os anti-VHC negativos testados por quimioluminescência ampliada de terceira

geração, dados que vão ao encontro dos apresentados por Albuquerque et al.<sup>24</sup>, que, ao estudar 250 pacientes testados por ELISA 3, não relataram casos de falso-negativos. Semelhantes achados foram descritos em outros países, onde, em amostras de 74 a 134 pacientes testados por ELISA 3, nenhum paciente anti-VHC não-reagente apresentou positiva a PCR<sup>62,65,66</sup>.

De qualquer maneira, a inexistência de falso-negativos no presente estudo foi visto como surpresa, uma vez que a prevalência de infecção na população avaliada foi elevada, indo de encontro às idéias anteriormente expostas<sup>18,19,21,27,28</sup>.

Sabe-se que a forma de identificação dos “falso-negativos” através dos métodos imunológicos, mesmo os de última geração, não é ainda consenso. Enquanto alguns consideram a PCR como indispensável no conjunto de medidas empregadas para prevenção de infecção pelo VHC em pacientes em HD<sup>18,57,61,62,81-83</sup>, outros consideram que essa necessidade se reporta a estudos mais antigos, que utilizaram testes de primeira e segunda geração. Assim, com a boa *performance* dos testes de terceira geração, questionam e até consideram desnecessária a realização do teste molecular<sup>1,4,62,63,65,66</sup>.

No presente trabalho, ao confrontarem-se os resultados do teste imunológico com os do molecular, verificou-se que a presença de anti-VHC reagente apresenta elevada sensibilidade para o achado de PCR positiva; entretanto, o real benefício do teste imunológico foi obtido a partir da análise do valor preditivo negativo, uma vez que, na totalidade dos pacientes anti-VHC não-reagentes, a PCR foi negativa.

O valor da razão de probabilidades, utilizando um modelo teórico<sup>84</sup>, aplicado a uma amostra com prevalência de 33% de testes alterados (anti-VHC

reagente), indica a probabilidade de doença (viremia) em aproximadamente 65% dos que apresentam teste alterado. Como se pode constatar, esse percentual é muito próximo à taxa de PCR positiva descrita na presente amostra. Por outro lado, o valor da razão de probabilidades negativo (inferior a 0,001) também se mostra consistente com nossos resultados, onde a totalidade dos pacientes que não reagiram ao anti-VHC tiveram a PCR negativa.

O melhor conhecimento das características operacionais do teste imunológico poderá, em algumas situações, prescindir do teste molecular para pacientes com características semelhantes aos desta amostra.

Recorremos ao teste Kappa para medir a força da concordância entre o teste imunológico e o molecular<sup>85</sup>. Neste estudo, o resultado do teste Kappa (0,68) conferiu uma boa força de concordância entre os testes em questão. Nossos achados foram consistentes com o Kappa de 0,71 relatado por Moreira et al.<sup>18</sup> em 281 pacientes de HD da cidade de São Paulo, porém inferior ao de 0,94 relatado por Albuquerque et al.<sup>24</sup>. No mesmo sentido, vale referir os achados de Arenas et al.<sup>86</sup> em 50 pacientes, onde os resultados dos testes imunológicos e moleculares foram concordes em 98% dos casos.

Neste estudo, não detectamos em nenhum paciente a situação de anti-VHC não-reagente e a PCR positiva (falso-negativa), premissa básica para testar a estratégia da utilização do *pool* da PCR na prevenção de transmissão do VHC em HD. Esse achado, embora não fosse freqüente, era sinalizado na literatura nacional<sup>19,24,27,28</sup> e estrangeira<sup>1,56-61</sup>. Os resultados deste estudo vão ao encontro dos de outros pesquisadores, que, utilizando-se de testes imunológicos de última

geração, descrevem taxas de falso-negativos muito baixas ou ausentes<sup>24,55,57,62,65,66</sup>.

A utilização de teste imunológico de terceira geração (que no presente estudo houve-se muito bem) e de teste molecular com limite de detecção de 200 UI/mL, talvez pouco sensível para a tarefa a que se propunha, em amostra com viremias baixas e, não raro, flutuantes, talvez possa justificar a ausência de falso-negativos na presente amostra. A esta assertiva, opõem-se os resultados de dois estudos nacionais que utilizaram a PCR com distintos níveis de detecção. O que empregou a PCR com nível de 100 cópias/mL não detectou nenhum caso de falso-negativo<sup>24</sup>, enquanto o que utilizou o teste com nível de 350 cópias/mL detectou 8,2% de falso-negativos<sup>28</sup>.

Vale lembrar que, a despeito de poder representar uma limitação do presente estudo, o fato de que este se propunha à pesquisa clínica, limitando-se a recursos disponíveis na prática habitual, sem quaisquer modificações das técnicas em uso rotineiramente, retrata a realidade em nosso meio.

Tendo em vista a ausência de resultados falso-negativos no presente estudo, a estratégia de utilizar a técnica do *pool* da PCR no sentido de identificar pacientes virêmicos não detectados por outros métodos talvez se torne desnecessária. Dessa forma, parece ser pouco útil a utilização de outros testes na detecção do VHC com intuito de identificar pacientes portadores ou para ser incluído em diretrizes de prevenção dessa infecção. Deve-se, no entanto, realizar a PCR naqueles casos em que o anti-VHC for positivo, uma vez que estratégias terapêuticas e de controle só deverão ser ofertadas aos pacientes comprovadamente infectados.

## **5.2. Comparação das características demográficas e fatores de risco para infecção pelo VHC entre os pacientes em hemodiálise, anti-VHC reagentes, e os não-reagentes e entre os que apresentaram PCR positiva e os de PCR negativa**

Os estudos que analisam transmissão e fatores de risco para infecção pelo VHC em HD têm como discriminador, em sua maioria, o teste imunológico. Nesta pesquisa, utilizou-se os métodos imunológico e molecular, que analisaremos em conjunto.

No presente estudo, o sexo e a idade não se mostraram variáveis independentes para a presença de infecção pelo VHC, detectada tanto pelo método imunológico como pelo molecular, semelhante ao descrito por Kumagai et al.<sup>83</sup>, estudando por PCR, prospectivamente e por 4 anos, 2.744 pacientes de HD. Em sua análise, encontraram discreta elevação da prevalência com o aumento da idade nos homens, sem, entretanto, alcançar significância. No estudo aqui realizado, quando avaliamos o teste imunológico, na análise bivariada, observamos uma menor idade relacionada com a presença do anti-VHC. No entanto, essa associação não se manteve quando da análise por regressão logística.

Santana et al.<sup>87</sup>, na cidade de Salvador, estudando por ELISA 2 395 pacientes de HD, observaram que a média de idade e a distribuição por sexo entre os indivíduos anti-VHC reagentes e não-reagentes não mostraram diferença significativa, dados também observados por Carvalho et al.<sup>79</sup>, na cidade de

Curitiba, que, ao utilizar análise de regressão logística, não encontraram associação entre sexo e idade e a presença do RNA do VHC no soro.

Diferentes foram os resultados descritos por Bergman et al.<sup>31</sup> nos EUA, estudando prospectivamente 860 pacientes de HD por ELISA 2 e 3, 89% negros, onde a idade inferior a 50 anos, o sexo masculino e a raça negra se mostraram preditores independentes para o anti-VHC reagente.

Entre os principais fatores de risco para infecção pelo VHC em pacientes de HD, incluem-se: tempo em diálise, transfusão de sangue, volume de sangue transfundido e história de uso de drogas injetáveis<sup>3,29</sup>.

O tempo em diálise tem sido descrito como o principal fator independente de risco para a transmissão do VHC em pacientes de HD, sugerindo que a transmissão do mesmo deva ocorrer no ambiente de tratamento<sup>1,3,10,11,29,30</sup>. Le Pogam et al.<sup>88</sup> demonstraram, em elegante estudo de biologia molecular, quatro casos de transmissão do VHC genótipo 4 a partir de uma única fonte; todos realizavam tratamento na mesma unidade de HD.

Hardy et al.<sup>89</sup>, estudando 87 pacientes em HD com ELISA 1, compararam a taxa de anti-VHC reagente entre os que realizavam HD há menos ou há mais de 2 anos. Encontraram 15% e 59% de positividade no teste, respectivamente, observando aumento do risco de infecção em 10% por ano de tratamento, semelhante aos 13% de aumento de risco por ano de tratamento relatados por Fissel et al.<sup>14</sup>, ao analisar 8.615 pacientes de HD em seis países.

No presente estudo, verificou-se que permanecer em tratamento de HD por mais de 5 anos se mostrou fator independente de risco para infecção pelo VHC, fato este consistente com o resultado de outras pesquisas, onde tempo de

tratamento em HD maior do que 3 anos se mostrou fator independente de risco para infecção, com razão de chances (OR) de 2,5, 2,8 e 4,8 descritos na França<sup>57</sup>, Irã<sup>90</sup> e EUA<sup>8</sup>, respectivamente.

Hinrichsen et al.<sup>82</sup>, ao estudar 2.800 pacientes pelos métodos imunológico e molecular, descreveram o tempo de tratamento em HD como fator independente de risco para infecção pelo VHC, porém tendo atingido significância somente após 10 anos de tratamento, independente do método considerado.

Pesquisas realizadas no Brasil encontraram, no tempo de tratamento em HD, uma variável onde a medida de associação se mostrou mais robusta em comparação à de outros países. Carneiro et al., em dois estudos<sup>19,91</sup> realizados na cidade de Goiânia, envolvendo mais de 1.200 pacientes, relataram tempo de tratamento em HD como fator independente de risco para infecção, com OR de 24,6, e 13,6, para períodos de tempo maiores do que 5 e 3 anos, respectivamente. No estado do Tocantins, em 100 pacientes de HD, o tempo de tratamento maior do que 3 anos também se mostrou fator independente de risco, com OR de 19,2 em análise bivariada<sup>21</sup>.

Karohl et al.<sup>25</sup>, em 242 pacientes da cidade de Porto Alegre, utilizando-se de análise multivariada, consideraram o tempo de tratamento em HD como fator independente de risco para infecção pelo VHC.

No sentido oposto, vão os dados de Albuquerque et al.<sup>24</sup>, que, a despeito de relatarem que o tempo de tratamento foi significativamente superior entre os infectados em comparação com os demais, não observaram a manutenção dessa diferença quando o modelo de regressão logística foi empregado. Carvalho et al.<sup>79</sup>

não descreveram o tempo em tratamento como fator independente de risco para a presença do RNA do VHC no soro.

De qualquer forma, parece que o tempo de tratamento em HD se mantém como fator importante para transmissão do VHC<sup>3,29</sup>. Esse fato é de fácil compreensão, uma vez que a melhora de controles nos bancos de sangue, associada à diminuição do emprego de sangue e derivados em renais crônicos em HD, diminuiu os riscos desses fatores, enquanto a rigorosa observação das medidas gerais de controle de infecções é tarefa ainda longe de ser alcançada por muitos.

As normas atuais de seleção e de testes realizados em doadores de sangue diminuíram em muito os riscos relacionados às transfusões de sangue e derivados, sendo descritas taxas inferiores a 1 por 3.000 unidades transfundidas<sup>11</sup>. Em pesquisas realizadas até 1990, nos EUA, os 10% atribuídos a transfusões de sangue como “porta de entrada” para a infecção pelo VHC reduziram-se a próximo de zero, quando se consideram os dados mais recentes<sup>30</sup>.

No presente estudo, ter realizado transfusão de sangue, independente do volume transfundido, mostrou-se fator independente de risco para infecção pelo VHC, consistente com os resultados de Hinrichsen et al.<sup>82</sup>, quando avaliaram 2.800 pacientes na Alemanha, e com os de Alavian et al.<sup>90</sup>, que, em mais de 800 pacientes, relataram associação entre transfusão de sangue e infecção pelo VHC, com OR de 1,6 e 1,9 para os que realizaram menos ou mais do que cinco transfusões, respectivamente.

Diferentes foram os relatos de três estudos<sup>8,57,89</sup> que envolveram 1.909 pacientes da França e EUA, onde as transfusões de sangue associaram-se significativamente com infecção pelo VHC apenas na análise bivariada; entretanto, quando da análise multivariada, a mesma não se mostrou fator independente de risco para infecção.

Carneiro et al. desenvolveram dois estudos<sup>19,91</sup> na cidade de Goiânia. No primeiro, estudando em torno de 400 pacientes, relataram a transfusão de sangue como preditor independente para infecção pelo VHC, com razões de chances de 6,5. Quatro anos após, em estudo com desenho semelhante, avaliando em torno de 800 pacientes, a medida de razão de chances foi de 3,5 para essa mesma variável. Albuquerque et al.<sup>24</sup> também observaram associação entre transfusão de sangue e infecção pelo VHC.

Outros estudos nacionais<sup>20,87</sup>, utilizando-se de análises bivariadas, encontraram associação entre transfusões de sangue e infecção pelo VHC em pacientes de HD.

No sentido oposto, vão os relatos de Karohl et al.<sup>25</sup> e de Carvalho et al.<sup>79</sup> nas cidades de Porto Alegre e Curitiba, que, ao utilizar análise multivariada, não lograram demonstrar ser a transfusão de sangue fator independente de risco para infecção.

Nossos resultados, consistentes com os da literatura<sup>19,24,82,90,91</sup>, estão a atestar que, mesmo com os atuais recursos disponíveis, a transfusão de sangue ainda acarreta um risco residual para infecção pelo VHC (é relevante considerar a incapacidade dos testes utilizados de detectarem doadores infectados ainda no período de “janela imunológica”). Na medida em que melhoram os controles, essa

variável tem se mostrado menos robusta como fator de risco. Em nosso meio, como são mais recentes esses cuidados, é possível que os resultados obtidos neste estudo possam expressar exposições ocorridas no passado, quando as medidas de seleção de doadores e realização de testes ainda estavam em implementação.

Estudos de vários países, utilizando-se de testes imunológicos de diferentes gerações, têm demonstrado prevalência do VHC em usuários de drogas injetáveis entre 62% e 97%<sup>92-101</sup>. Atualmente, o uso de drogas injetáveis é responsável por 68% dos novos casos de infecção pelo VHC<sup>30</sup>.

O uso de drogas injetáveis também tem sido identificado como importante fator de risco para infecção pelo VHC em pacientes de HD, sendo referido por 30% dos pacientes anti-VHC reagentes em HD na cidade de Seattle e por mais de 70% em Miami, EUA<sup>11,35</sup>.

No presente estudo, verificou-se que o uso de drogas injetáveis se mostrou fator independente de risco para infecção pelo VHC, consistente com o descrito por Bergman et al.<sup>31</sup>, que, estudando prospectivamente 860 pacientes de HD, demonstraram ser o uso de drogas injetáveis um fator independente de risco para infecção pelo VHC, com OR ajustado de 6,6.

No mesmo sentido, embora sem tratamento estatístico, são os achados de Niu et al.<sup>8</sup>, que relataram o uso de drogas injetáveis em 13,5% de seus pacientes infectados pelo VHC, assim como Hardy et al.<sup>89</sup>, que descreveram, em 19% dos pacientes com marcadores de infecção, o uso de drogas injetáveis.

Jadoul<sup>10</sup> refere-se ao uso de drogas injetáveis como agente para infecção pelo VHC em pacientes de HD de forma peculiar; considera-o fator de risco para

amostras de pacientes dos EUA, no que é corroborado por publicação do CDC<sup>29</sup>. Por outro lado, considera esse fator de menor importância quando se trata de pacientes europeus, consistente com estudos realizados na Alemanha, França e Bélgica, onde o uso de drogas injetáveis não se mostra fator de risco para infecção pelo VHC em pacientes de HD<sup>34,57,82</sup>. A atestar a singularidade dessa informação, vale referir que, em oito publicações nacionais, envolvendo mais do que 2.700 pacientes de diversas regiões do país, o uso de drogas injetáveis não foi analisado como agente para infecção em nenhuma<sup>19-21,24,25,79,87,91</sup>.

Na população em geral, o uso de drogas injetáveis ampliou sua participação como fator de risco para infecção, quando consideramos pesquisas mais recentes<sup>30</sup>. É possível que o mesmo tenha ocorrido em pacientes de HD, justificando nossos achados, onde esta variável se mostrou de forma robusta. Dessa forma, entendemos ter trazido dados adicionais na cadeia de transmissão do VHC, em comparação a estudos nacionais prévios, e espera-se que possam ser corroborados por futuras pesquisas. Nesse sentido, vale ressaltar a necessidade de avaliação do impacto da inclusão em HD de indivíduos já infectados na transmissão do VHC.

### **5.3. Comparação entre pacientes de hemodiálise anti-VHC reagentes, com o índice sinal/*cut-off* maior ou igual versus menor do que oito**

As recomendações do Ministério da Saúde do Brasil para prevenção de infecção pelo VHC em pacientes de HD determinam a realização do anti-VHC sempre que houver elevação da ALT estando descartadas outras causas, ou semestralmente independentemente de qualquer motivo. A continuidade dessa

prática é considerada desnecessária após três resultados positivos consecutivos<sup>46</sup>.

Publicação do CDC, específica para testes diagnósticos para hepatite C, considera que os testes imunológicos entre populações de imunodeprimidos, como pacientes de HD, podem apresentar taxas de falso-positivos de até 15%. Alerta que, nesse cenário, considerar um indivíduo infectado por VHC unicamente com o teste imunológico é crítico, recomendando que os testes positivos sejam verificados com testes suplementares específicos, principalmente quando apresentarem índice sinal/*cut-off* baixos<sup>50,70</sup>.

Quando se utiliza a quimioluminescência ampliada, como no presente estudo, deve-se realizar testes suplementares principalmente para os casos positivos, com o índice sinal/*cut-off* inferior a oito. Dufour et al.<sup>77</sup>, em 129 casos positivos com índice inferior a oito, encontraram teste *recombinant immunoblot assay* (RIBA) positivo em apenas 10% dos casos. Por outro lado, com índices superiores a oito, têm sido descritas taxas de concordância com testes suplementares da ordem de 95% a 98% dos casos<sup>70</sup>.

No presente estudo, entre os pacientes anti-VHC regentes, comparou-se os que apresentaram o índice sinal/*cut-off* superior ou igual a oito com os que o tinham inferior a oito. Os grupos se mostraram semelhantes na maioria das variáveis, porém média mais elevada da ALT associou-se significativamente com os que tinham o índice maior ou igual a oito, em consonância com a viremia expressa pela PCR positiva, presente 10 vezes mais nesse grupo do que entre os que tinham o índice inferior.

Mesmo com a limitação do tamanho da amostra e da desproporção de pacientes em cada “braço” do estudo, é possível considerar que, entre os pacientes anti-VHC reagentes e com índice abaixo de oito, deveremos encontrar resultados falso-positivos. Esses achados são consistentes com o descrito por Fabrizi et al.<sup>63</sup>, que, a despeito de utilizarem o ELISA 3, observaram, com frequência, resultados falso-positivos. Esses autores questionam se o acréscimo de sensibilidade proporcionado pelos testes de última geração não seria às expensas de uma perda de especificidade, com um aumento de resultados falso-positivos. Trabalhos de revisões de Pereira e Levey<sup>11</sup> e Moreira et al.<sup>81</sup> também fazem referência à possibilidade de surgimento de falso-positivos dos testes imunológicos em pacientes de HD.

Para pacientes de HD com teste imunológico positivo, mas com índice sinal/*cut-off* baixo, é fundamental a realização de testes suplementares, enquanto que, para os que apresentam índices elevados, a decisão poderia ser tomada caso a caso, levando em conta também outros aspectos epidemiológicos.

Espera-se que futuras pesquisas possam trazer mais esclarecimento a essas indagações.

#### **5.4. Distribuição dos genótipos na amostra**

As unidades de HD são consideradas um bom exemplo de transmissão hospitalar de infecção pelo VHC<sup>102</sup>. As técnicas de genotipagem disponíveis discriminam os tipos do VHC, sendo baixa sua sensibilidade em pacientes de HD<sup>50</sup>. Estudos europeus realizados na Itália, Alemanha e Grécia descreveram distribuição dos genótipos em amostras de pacientes infectados pelo VHC em

HD, semelhante ao descrito em amostras de tipos distintos de pacientes ou da população em geral<sup>82,103,104</sup>.

No Brasil, Fonseca et al.<sup>105</sup>, em estudo patrocinado pela Sociedade Brasileira de Hepatologia, examinando 15.000 amostras de sangue de portadores do VHC em quatro regiões do país, demonstraram ser o genótipo 1 o mais prevalente em todas as regiões. Focaccia et al.<sup>106</sup>, estudando, retrospectivamente, quase 5.000 amostras, em sua maioria das regiões sudeste e sul do país, encontraram genótipo 1 e 3 em 64% e 33% dos casos, respectivamente. No mesmo sentido, Oliveira et al.<sup>107</sup>, em diversas regiões do país, observaram genótipo 1 e 3 em 72% e 25% dos casos, respectivamente.

No presente estudo, determinamos os genótipos de todos os pacientes com PCR positivo, sendo o genótipo 1 o mais prevalente (64,7%), seguido pelo 3 (33,8%). Esses achados foram consistentes com os 55% e 37% para os genótipos 1 e 3, respectivamente, descrito por Krug et al.<sup>108,109</sup> na população geral da cidade de Porto Alegre. Quando avaliamos amostras de usuários de cocaína aspirada e alcoolistas estudados na mesma cidade, também observamos serem os genótipos 1 e 3 os mais prevalentes<sup>110,111</sup>.

Nossos dados foram consistentes com distribuição de genótipos descrita em 19 pacientes de HD na cidade de Recife, onde o genótipo 1 foi descrito em 63%, e o genótipo 3, em 36% dos casos<sup>24</sup>. Busek et al.<sup>20</sup>, em 83 pacientes de HD na cidade de Belo Horizonte, relataram a presença do genótipo 1 em 66% dos casos, resultado próximo ao do presente estudo, diferentemente do que ocorreu com os genótipos 2 e 3, relatados em 24% e 7,2% dos casos, respectivamente. Silva et al.<sup>80</sup> relataram, em 125 pacientes de HD da cidade de Salvador, genótipo

1 em 77,9% e genótipo 3 em 10,5% dos casos. Moreira et al.<sup>18</sup>, em 30 pacientes de HD na cidade de São Paulo, relataram presença do genótipo 1 em 83% e do genótipo 3 em 10% dos casos.

### **5.5. Concordância entre os resultados da PCR medida em dois momentos, com intervalo médio de 9 meses**

Em pacientes de HD infectados pelo VHC, tanto por características virais como por fatores específicos do tratamento, podem ocorrer flutuações na viremia<sup>4,11,63</sup>. No estudo em foco, a PCR qualitativa foi realizada, em 85 pacientes, em dois momentos, com intervalo médio de 9 meses. Entendíamos ser de importância esta proposta, uma vez que se utilizou teste molecular *in house*, e seria de fundamental relevância verificar a consistência dos resultados. Encontramos uma força de concordância muito boa, aqui expressa pelo teste Kappa (0,89), com 95% dos resultados concordes. Esses dados assemelham-se aos de Nolte et al.<sup>112</sup>, da Universidade de Atlanta, EUA, que, comparando a técnica da PCR *in house* com o *kit* (AMPLICOR HCV Test, Roche) em 99 portadores de hepatopatia crônica, referiram resultados concordes em 97% dos casos, assim como Farma et al.<sup>113</sup>, que, estudando 111 pacientes, compararam três técnicas de PCR *in house* e encontraram concordância em 100% dos resultados.

Limitados a testes qualitativos, o que não nos permite comparações, apenas inferimos que os presentes achados possam assemelhar-se aos de Halfon et al.<sup>114</sup>, que, estudando 64 pacientes de HD, mediram a viremia do VHC em dois momentos, com intervalo de 9 meses ( $3,65 \times 10^6$  e  $4,01 \times 10^6$  cópias/ml,

respectivamente), e não encontraram diferença significativa entre as duas medidas. Da mesma forma, nossos achados são similares aos de Angelico et al.<sup>115</sup>, na Itália, que, estudando prospectivamente 41 pacientes de HD, mediram a viremia, em dois momentos, com intervalo de 6 a 12 meses, e obtiveram um coeficiente de variação inferior a 10% na média dos valores, a indicar uma baixa variação da viremia.

#### **5.6. Soroconversão do anti-VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise, em 12 meses**

O controle da infecção pelo VHC em pacientes em HD pode ser expresso pelo surgimento de novos casos. Santos et al.<sup>7</sup>, em Portugal, relataram uma incidência cumulativa anual de 2,5% em unidades onde a prevalência era inferior a 19% e de 36,3% onde superava os 60%. Na década passada, as taxas anuais de incidência variavam entre 0,4% e 6% nos países europeus; eram de 1,7% nos EUA; 15% no Brasil; e de 38% na Venezuela (a maior descrita)<sup>1,11,59</sup>.

Nos últimos anos, a incidência de infecção pelo VHC tem apresentado diminuição significativa, em resposta à melhor seleção de doadores e controles nos bancos de sangue, diminuição do número de transfusões de sangue e maior aderência às medidas gerais de controle de infecções<sup>13</sup>.

No presente estudo, encontramos taxa de soroconversão de 1,3/100 pacientes-ano, consistente com taxas de soroconversão ajustadas que variaram entre 1,2 e 3,9/100 pacientes-ano, relatadas em unidades de diversos países dos três continentes<sup>14</sup>.

Taxas superiores, da ordem de 6,2/100 pacientes-ano, foram relatadas por Sypsa et al.<sup>116</sup> na Grécia.

No Brasil, na cidade de São Paulo, taxas de incidência cumulativa de 15/100 pacientes-ano foram relatadas por Cendoroglo Neto et al.<sup>117</sup> e de 3,1/1000 pacientes-mês por Moreira et al.<sup>14</sup>.

Devemos ressaltar, entretanto, que o caso por nós observado possivelmente trate-se de resultado falso-positivo, uma vez que o índice sinal/*cut-off* foi baixo, e a PCR, negativa. De qualquer forma, esse resultado, limitado ao estudo de pequena amostra, permite-nos inferir que os cuidados atualmente dispensados aos pacientes de HD, em nosso meio, são eficazes para evitar a transmissão do VHC.

Do exposto, pode depreender-se que é ainda elevada a prevalência do VHC em pacientes de HD e que os testes atualmente utilizados na rotina clínica permitem uma seleção adequada daqueles pacientes infectados. Quando utilizados testes imunológicos, é fundamental atentar para o índice sinal/*cut-off*, uma vez que teste positivo com índice baixo com muita probabilidade reflete um resultado falso-positivo. Apesar da eficiência das rotinas de prevenção atualmente empregadas, ainda são relevantes como fatores de risco o tempo em HD, a realização de transfusões de sangue e o uso de drogas injetáveis. Acreditamos que os dois primeiros fatores ainda são reflexo de um passado recente, porém o uso de drogas ainda permanece um flagelo a ser combatido.

## 6. CONCLUSÕES

- A prevalência do anti-VHC na população estudada foi de 32,9%, sendo que em 21% (63,5% dos anti-VHC reagentes) a PCR-VHC foi positiva. A razão de probabilidade de um portador de doença renal crônica em HD com anti-VHC reagente estar infectado pelo VHC foi 6,56 vezes maior do que para os que têm teste negativo, sendo quase nula para pacientes com teste não-reagente.

- A não-identificação de pacientes anti-VHC não-reagentes, mas PCR positivos, impossibilitou-nos de estimar a concordância da técnica do *pool* da PCR com a PCR, realizada individualmente, na detecção da infecção pelo VHC.

- Realizar HD por mais de 5 anos, ter sido submetido à transfusão de sangue e ter referido o uso de drogas intravenosas mostraram-se fatores independentes de risco para a infecção pelo VHC em portadores de doença renal crônica em HD.

- Em portadores de doença renal crônica em HD com teste imunológico positivo e índice sinal/*cut-off* abaixo de oito, deve-se aventar a possibilidade de falso-positivos e sempre considerar a realização de testes confirmatórios.

- A distribuição dos genótipos do VHC em pacientes de HD foi a que segue: 64,7% genótipo 1; 1,5% genótipo 2; e 33,8% genótipo 3..

- Foi muito boa a força de concordância entre os testes moleculares realizados em dois momentos, com intervalo médio de 9 meses.

- A incidência cumulativa do anti-VHC foi de 1,3% em 12 meses.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR Recomm Rep.* 2001;50(RR-5):1-43.
2. Hörl WH. Neutrophil function and infections in uremia. *Am J Kidney Dis.* 1999;33:xliv-xlviii.
3. Kellerman S, Alter MJ. Preventing hepatitis B and hepatitis C virus infections in end-stage renal disease patients: back to basics. *Hepatology.* 1999;29:291-3.
4. Fabrizi F, Poordad FF, Martin P. Hepatitis C infection and patient with end-stage renal disease. *Hepatology.* 2002;36:3-10.
5. Hanafusa T, Ichikawa Y, Kishikawa H, Kyo M, Fukunishi T, Kokado Y, et al. Retrospective study on the impact of hepatitis C virus infection on kidney transplant patients over 20 years. *Transplantation.* 1998;66:471-6.
6. Mathurin P, Mouquet C, Poynard T, Sylla C, Benalia H, Fretz C, et al. Impact of hepatitis B and C virus on kidney transplantation outcome. *Hepatology.* 1999;29:257-63.
7. dos Santos JP, Loureiro A, Cendoroglo Neto M, Pereira BJ. Impact of dialysis room and reuse strategies on the incidence of hepatitis C virus infection in haemodialysis units. *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11:2017-22.
8. 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;22:568-73.

9. Fabrizi F, Martin P, Dixit V, Brezina M, Cole MJ, Gerosa S, et al. Acquisition of hepatitis C virus in hemodialysis patients: a prospective study by branched DNA signal amplification assay. *Am J Kidney Dis.* 1998;31:647-54.
10. Jadoul M. Epidemiology and mechanisms of transmission of the hepatitis C virus in haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15 Suppl 8:39-41.
11. Pereira BJ, Levey AS. Hepatitis C virus infection in dialysis and renal transplantation. *Kidney Int.* 1997;51:981-99.
12. Pereira BJ. Hepatitis C virus infection in dialysis: a continuing problem. *Artif Organs.* 1999;23:51-60.
13. Sampietro M, Badalamenti S, Graziani G. Nosocomial hepatitis C in dialysis units. *Nephron.* 1996;74:251-60.
14. Fissell RB, Bragg-Gresham JL, Woods JD, Jadoul M, Gillespie B, Hedderwick SA, et al. Patterns of hepatitis C prevalence and seroconversion in hemodialysis units from three continents: the DOPPS. *Kidney Int.* 2004;65:2335-42.
15. Tokars JI, Alter MJ, Favero MS, Moyer LA, Miller E, Bland LA. National surveillance of dialysis associated diseases in the United States, 1992. *ASAIO J.* 1994;40:1020-31.
16. Huraib S, al-Rashed R, Aldrees A, Aljefry M, Arif M, al-Faleh FA. High prevalence of and risk factors for hepatitis C in haemodialysis in patients in Saudi Arabia: a need for new dialysis strategies. *Nephrol Dial Transplant.* 1995;10:470-4.

17. Romão Jr. JE, Pinto SWL, Canziani ME, Praxedes JN, Santello JL, Moreira JCM. Censo SBN 2002: informações epidemiológicas das unidades de diálise do Brasil. *J Bras Nefrol.* 2003;25:187-98.
18. Moreira R, Pinho JR, Fares J, Oba IT, Cardoso MR, Saraceni CP, et al. Prospective study of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients by monthly analysis of HCV RNA and antibodies. *Can J Microbiol.* 2003;49:503-7.
19. 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;96:765-9.
20. Busek SU, Babá EH, Tavares Filho HA, Pimenta L, Salomão A, Corrêa-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;97:775-8.
21. Souza KP, Luz JA, Teles SA, Carneiro MA, Oliveira LA, Gomes AS, et al. Hepatitis B and C in the hemodialysis unit of Tocantins, Brazil: serological and molecular profiles. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98:599-603.
22. Gouveia EC, Lopes EPA, Moura I, Cruz MP, Kosminsky LB, Pernambuco JR. Identificação de ponto de corte no nível sérico de alanina aminotransferase para rastreamento da hepatite C em pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004;37:18-21.
23. Ono-Nita SK, de Moraes CR, Carrilho FJ, Pinho JR, Bassit L, da Silva LC. A prospective study of the prevalence of hepatitis B and C virus co-infection

among patients with chronic renal disease under hemodialysis. *J Hepatol.* 2004;40:715-6.

24. Albuquerque AC, Coelho MR, Lopes EP, Lemos MF, Moreira RC. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients from one center in Recife, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100:467-70.
25. Karohl C, Manfro RC, Senger MB, Thomé FS, Gonçalves LFS, Rigatto M, et al. Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica de Porto Alegre. *J Bras Nefrol.* 1995;17:40-6.
26. Flores AL, Mattos AA, Goldani JC, Garcia V, Garcia E, Becker M, et al. Marcadores virais da hepatite em uma unidade de hemodiálise [resumo]. *GED.* 1997;16:190.
27. Dotta MA, Chequer H, Pereira JPM, Schimitt VM, Krug L, Saitovitch D. Métodos molecular e imunológico no diagnóstico de hepatite C em pacientes em hemodiálise. *J Bras Nefrol.* 2003;25:86-94.
28. Lopes CV, Karnopp T, Burmeister J, Campos BM, Costa MG, Melere R. Detecção do vírus da hepatite C pela reação em cadeia da polimerase em pacientes renais crônicos em hemodiálise e com anti-VHC não-reagente. *GED.* 2005;24:1-5.
29. Moyer LA, Alter MJ. Hepatitis C virus in the hemodialysis setting: a review with recommendations for control. *Semin Dial.* 1994;7:124-7.
30. Alter MJ. Prevention of spread of hepatitis C. *Hepatology.* 2002;36(5 Suppl 1):S93-8.
31. Bergman S, Accortt N, Turner A, Glaze J. Hepatitis C infection is acquired pre-ESRD. *Am J Kidney Dis.* 2005;45:684-9.

32. Okuda K, Hayashi H, Kobayashi S, Irie Y. Mode of hepatitis C infection not associated with blood transfusion among chronic hemodialysis patients. *J Hepatol.* 1995;23:28-31.
33. Shimokura G, Weber DJ, Miller WC, Wurtzel H, Alter MJ. Factors associated with personal protection equipment use and hand hygiene among hemodialysis staff. *Am J Infect Control.* 2006;34:100-7.
34. Jadoul M, Cornu C, van Ypersele de Strihou C. Incidence and risk factors for hepatitis C seroconversion in hemodialysis: a prospective study. The UCL Collaborative Group. *Kidney Int.* 1993;44:1322-6.
35. Stehman-Breen CO, Emerson S, Gretch D, Johnson RJ. Risk of death among chronic dialysis patients infected with hepatitis C virus. *Am J Kidney Dis.* 1998;32:629-34.
36. Nakayama E, Akiba T, Marumo F, Sato C. Prognosis of anti-hepatitis C virus antibody-positive patients of regular hemodialysis therapy. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11:1896-902.
37. Goral S, Helderman JH. Hepatitis C and renal transplantation: the controversy continues. *Kidney Int.* 1998;53:1419-20.
38. Ianhez LE, da Fonseca JA, de Paula FJ, David Neto E, Saldanha LB, Sabbaga E. Hepatopatia como causa de óbito pós-transplante renal. *J Bras Nefrol.* 1997;19:138-42.
39. Zamin Junior I, Mattos AA, Goldani JC, Malysz A, Almeida PL. Comprometimento hepático e evolução de pacientes com insuficiência renal crônica com anti-HCV reagente e com ALT elevada. *GED.* 2001;20:163-8.

40. Strader DB. Understudied populations with hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36(5 Suppl 1):S226-36.
41. Degos F, Pol S, Chaix ML, Laffite V, Buffet C, Bernard PH, et al. The tolerance and efficacy of interferon- $\alpha$  in haemodialysis patients with HCV infection: a multicentre, prospective study. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16:1017-23.
42. Rocha CM, Perez RM, Ferreira AP, Carvalho-Filho RJ, Pace FH, Silva IS, et al. Efficacy and tolerance of interferon-alpha in the treatment of chronic hepatitis C in end-stage renal disease patients on hemodialysis. *Liver Int*. 2006;26:305-10.
43. Bruchfeld A, Stahle L, Andersson J, Schvarcz R. Ribavirin treatment in dialysis patients with chronic hepatitis C virus infection – a pilot study. *J Viral Hepat*. 2001;8:287-92.
44. Kokoglu OF, Ucmak H, Hosoglu S, Cetinkaya A, Kantarceken B, Buyukbese MA, et al. Efficacy and tolerability of pegylated-interferon alpha-2a in hemodialysis patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21:575-80.
45. Rostaing L. Treatment of hepatitis C virus infection after renal transplantation: new insights. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15 Suppl 8:74-6.
46. Brasil, Ministério da Saúde. Diário Oficial da União. Portaria nº 154, de 15 de junho de 2004. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2004.
47. Espinosa M, Martin-Malo A, Alvarez de Lara MA, Soriano S, Aljama P. High ALT levels predict viremia in anti-HCV-positive HD patients if a modified normal range of ALT is applied. *Clin Nephrol*. 2000;54:151-6.

48. Milotic I, Pavic I, Maleta I, Troselj-Vukic B, Milotic F. Modified range of alanine aminotransferase is insufficient for screening of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *Scand J Urol Nephrol*. 2002;36:447-9.
49. Saab S, Martin P, Brezina M, Gitnick G, Yee HF Jr. Serum alanine aminotransferase in hepatitis c screening of patients on hemodialysis. *Am J Kidney Dis*. 2001;37:308-15.
50. Pawlotsky J-M. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36(5 Suppl 1):S65-73.
51. Fabrizi F, de Vecchi AF, Como G, Lunghi G, Martin P. De novo HCV infection among dialysis patients: a prospective study by HCV core antigen ELISA assay. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;21:861-9.
52. Furusyo N, Hayashi J, Kakuda K, Aruyama I, Kanamoto-Tanaka Y, Shimizu C, et al. Acute hepatitis C among Japanese hemodialysis patients: a prospective 9-year study. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:1592-600.
53. Schroeter M, Zoellner B, Polywka S, Laufs R, Feucht HH. Prolonged time until seroconversion among hemodialysis patients: the need for HCV PCR. *Intervirology*. 2005;48:213-5.
54. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep*. 1998;47(RR-19):1-39.
55. Schneeberger PM, Keur I, van der Vliet W, van Hoek K, Boswijk H, van Loon AM, et al. Hepatitis C virus infection in dialysis centers in the Netherlands: a national survey by serological and molecular methods. *J Clin Microbiol*. 1998;36:1711-15.

56. Bukh J, Wantzin P, Krogsgaard K, Knudsen F, Purcell RH, Miller RH. High prevalence of hepatitis C virus (HCV) RNA in dialysis patients: failure of commercially available antibody tests to identify a significant number of patients with HCV infection. Copenhagen Dialysis HCV Study Group. *J Infect Dis.* 1993;168:1343-8.
57. Salama G, Rostaing L, Sandres K, Izopet J. Hepatitis C virus infection in French hemodialysis units: a multicenter study. *J Med Virol.* 2000;61:44-51.
58. Sakamoto N, Enomoto N, Marumo F, Sato C. Prevalence of hepatitis C virus infection among long-term hemodialysis patients: detection of hepatitis C virus RNA in plasma. *J Med Virol.* 1993;39:11-5.
59. Pujol FH, Ponce JG, Lemma MG, Capriles F, Devesa M, Sirit F, et al. High incidence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients in units with high prevalence. *J Clin Microbiol.* 1996;34:1633-6.
60. Caramelo C, Bartolome J, Albalade M, de Sequera P, Navas S, Bermejillo T, et al. Undiagnosed hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: value of HCV RNA and liver enzyme levels. *Kidney Int.* 1996;50:2027-31.
61. Hanuka N, Sikuler E, Tovbin D, Mostoslavsky M, Hausman M, Orgel M, et al. Hepatitis C virus infection in renal failure patients in the absence of anti-hepatitis C virus antibodies. *J Viral Hepat.* 2002;9:141-5.
62. Courouce AM, Bouchardeau F, Chauveau P, Le Marrec N, Girault A, Zins B, et al. Hepatitis C virus (HCV) infection in haemodialysed patients: HCV-RNA and anti-HCV antibodies (third-generation assays). *Nephrol Dial Transplant.* 1995;10:234-9.

63. Fabrizi F, Lunghi G, Raffaele L, Guarnori I, Bacchini G, Corti M, et al. Serologic survey for control of hepatitis C in haemodialysis patients: third-generation assays and analysis of costs. *Nephrol Dial Transplant.* 1997;12:298-303.
64. de Medina M, Hill M, Sullivan HO, Leclercq B, Pennell JP, Jeffers L, et al. Detection of anti-hepatitis C virus antibodies in patients undergoing dialysis by utilizing a hepatitis C virus 3.0 assay: correlation with hepatitis C virus RNA. *J Lab Clin Med.* 1998;132:73-5.
65. Dalekos GN, Boumba DS, Katopodis K, Zervou E, Sferopoulos G, Elisaf M, et al. Absence of HCV viraemia in anti-HCV-negative haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 1998;13:1804-6.
66. Garcia F, Mateos ML, Garcia-Valdecasas J, Teruel JL, Bernal C, Fernandez-Lucas M. Relevance of investigating the presence of hepatitis C virus RNA in HCV antibody-negative hemodialysis patients. *Am J Nephrol.* 2000;20:166-7.
67. Roth WK, Weber M, Seifried E. Feasibility and efficacy of routine PCR screening of blood donations for hepatitis C virus, hepatitis B virus, and HIV-1 in a blood-bank setting. *Lancet.* 1999;353:359-63.
68. Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, et al. Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. *N Engl J Med.* 2004;351:760-8.
69. Garinis G, Patrinos GP, Menounos P, Spanakis N, Gorgoulis VG, Theodorou V, et al. Evaluation of a minipool reverse transcription-PCR screening method for the detection of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *Clin Chem.* 2000;46:583-4.

70. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep. 2003;52(RR-3):1-13, 15.
71. Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dilen PM, van der Noordaa J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. J Clin Microbiol. 1990;28:495-503.
72. Lunge VR, Ikuta N, Fonseca ASK, Marques EK, Cheinquer H. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in North and Northeast regions from Brazil. In: Melo E. XX World Congress of Pathology and Laboratory Medicine, São Paulo (Brazil), 17-21 September, 1999. Bologna: Monduzzi; 1999. p. 81-6.
73. Sanguinetti CJ, Dias Neto E, Simpson AJ. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. Biotechniques. 1994;17:914-21.
74. McOmish F, Yap PL, Dow BC, Follett EA, Seed C, Keller AJ, et al. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey. J Clin Microbiol. 1994;32:884-92.
75. Fonseca ASK, Lunge VR, Ikuta N, Marques EK, Cheinquer N, Coelho-Borges S, Cheinquer H. New genotype of hepatitis C virus (HCV) in Brazil. In: Melo E. XX World Congress of Pathology and Laboratory Medicine, São Paulo (Brazil), 17-21 September, 1999. Bologna: Monduzzi; 1999. p. 69-74.
76. Dussol B, de Lamballerie X, Brunet P, Roubicek C, Chicheportiche C, Cantaloube JF, et al. Is hepatitis C virus-RNA detection by nested polymerase chain reaction clinically relevant in hemodialysis patients? Clin Nephrol. 1996;45:257-60.

77. Dufour DR, Talastas M, Fernandez MD, Harris B. Chemiluminescence assay improves specificity of hepatitis C antibody detection. *Clin Chem.* 2003;49(6 Pt 1):940-4.
78. Almeida PRL, Alves de Mattos A, Ulbrich-Kutczynski J, Czerski CT, Geyer G. Prevalência e impacto histopatológico da infecção pelo vírus C em doadores de sangue. *GED.* 1998;17:121-8.
79. Carvalho M, Branco PB, Luvizotto ML, Valderrama DE, Rabone S, Doi E, et al. High prevalence of hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients. *Braz J Infect Dis.* 1999;3:144-8.
80. Silva LK, Silva MB, Rodart IF, Lopes GB, Costa FQ, Melo ME, et al. Prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV genotypes of hemodialysis patients in Salvador, Northeastern Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 2006;39:595-602.
81. Moreira RC, Lemos MF, Longui CA, Granato C. Hepatitis C and hemodialysis: a review. *Braz J Infect Dis.* 2005;9:269-75.
82. Hinrichsen H, Leimenstoll G, Stegen G, Schrader H, Folsch UR, Schmidt WE, et al. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in haemodialysis patients: a multicentre study in 2796 patients. *Gut.* 2002;51:429-33.
83. Kumagai J, Komiya Y, Tanaka J, Katayama K, Tatsukawa Y, Yorioka N, et al. Hepatitis C virus infection in 2,744 hemodialysis patients followed regularly at nine centers in Hiroshima during November 1999 through February 2003. *J Med Virol.* 2005;76:498-502.

84. Deeks JJ, Altman DG. Diagnostic tests 4: likelihood ratios. *BMJ*. 2004;329:168-9.
85. Altman DB. *Practical statistics for medical research*. London: Chapman and Hall; 1991.
86. Arenas MD, Sanchez-Paya J, Munoz C, Egea JJ, Martin F, Gil MT, et al. Transmisión nosocomial del virus de la hepatitis C en hemodiálisis: ¿ monitores, personal o ambos? *Nefrologia*. 2001;21:476-84.
87. Santana GO, Cotrim HP, Mota E, Parana R, Santana NP, Lyra L. Anticorpo contra o vírus C da hepatite em pacientes sob programa de hemodiálise em Salvador, BA, Brasil. *Arq Gastroenterol*. 2001;38:24-31.
88. Le Pogam S, Le Chapois D, Christen R, Dubois F, Barin F, Goudeau A. Hepatitis C in a hemodialysis unit: molecular evidence for nosocomial transmission. *J Clin Microbiol*. 1998;36:3040-3.
89. Hardy NM, Sandroni S, Danielson S, Wilson WJ. Antibody to hepatitis C virus increases with time on hemodialysis. *Clin Nephrol*. 1992;38:44-8.
90. Alavian SM, Einollahi B, Hajarizadeh B, Bakhtiari S, Nafar M, Ahrabi S. Prevalence of hepatitis C virus infection and related risk factors among Iranian haemodialysis patients. *Nephrology (Carlton)*. 2003;8:256-60.
91. Carneiro MA, Teles SA, Dias MA, Ferreira RC, Naghettine AV, Silva SA, et al. Decline of hepatitis C infection in hemodialysis patients in Central Brazil: a ten years of surveillance. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100:345-9.
92. van den Hoek JA, van Haastrecht HJ, Goudsmit J, de Wolf F, Coutinho RA. Prevalence, incidence, and risk factors of hepatitis C virus infection among drug users in Amsterdam. *J Infect Dis*. 1990;162:823-6.

93. Woodfield DG, Harness M, Rix-Trott K. Hepatitis C virus infections in oral and injectable drug users. *N Z Med J.* 1993;106:332-4.
94. Woodfield DG, Harness M, Rix-Trott K, Tsuda F, Okamoto H, Mayumi M. Identification and genotyping of hepatitis C virus in injectable and oral drug users in New Zealand. *Aust N Z J Med.* 1994;24:47-50.
95. Apichartpiyakul C, Chittivudikarn C, Miyajima H, Homma M, Hotta H. Analysis of hepatitis C virus isolates among healthy blood donors and drug addicts in Chiang May, Thailand. *J Clin Microbiol.* 1994;32:2276-9.
96. Thomas DL, Vlahov D, Solomon L, Cohn S, Taylor E, Garfein R, et al. Correlates of hepatitis C virus infections among injection drug users. *Medicine (Baltimore).* 1995;74:212-20.
97. Santana Rodríguez OE, Malé Gil ML, HernandezSantana JF, Limiñana Cañal JM, Martin Sanchez AM. Prevalence of serologic markers of HBV, HDV, HCV and HIV in non-injection drug users compared to injection drug users in Gran Canaria, Spain. *Eur J Epidemiol.* 1998;14:555-61.
98. Smyth BP, Keenan E, O'Connor JJ. Bloodborne viral infection in Irish injecting drug users. *Addiction.* 1998;93:1649-56.
99. de Carvalho HB, Mesquita F, Massad E, Bueno RC, Lopes GT, Ruiz MA, et al. HIV and infections of similar transmission patterns in a drug injectors community of Santos, Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1996;12:84-96.
100. 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;32:1107-14.
101. Treitinger A, Spada C, Silva EL, Miranda AF, Oliveira OV, Silveira MV, et al. Prevalence of serologic markers of HBV and HCV infection in HIV-1 seropositive patients in Florianópolis, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 1999;3:1-5.
102. Sanchez-Tapias JM. Nosocomial transmission of hepatitis C virus. *J Hepatol.* 1999;31 Suppl 1:107-12.
103. Silini E, Bono F, Cerino A, Piazza V, Solcia E, Mondelli MU. Virological features of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *J Clin Microbiol.* 1993;31:2913-7.
104. Rigopoulou EI, Stefanidis I, Liaskos C, Zervou EK, Rizos C, Mina P, et al. HCV-RNA qualitative assay based on transcription mediated amplification improves the detection of hepatitis C virus infection in patients on hemodialysis: results from five hemodialysis units in central Greece. *J Clin Virol.* 2005;34:81-5.
105. Fonseca JC. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C no Brasil. Relatório do Grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. *GED.* 1999;18(Supl 1):S3-8.
106. Focaccia R, Baraldo DC, Ferraz ML, Martinelli AL, Carrilho FJ, Gonçalves FL Jr., et al. Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2004;8:348-55.

107. 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;32:279-82.
108. Krug LP, Lunge VR, Ikuta N, Fonseca AS, Cheinquer H, Ozaki LS, et al. Hepatitis C virus genotypes in Southern Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 1996;29:1629-32.
109. Krug LP, Lunge VR, Ikuta N, Fonseca ASK, Cheinquer H, Barros SGS. Vírus da hepatite C (HCV): detecção molecular, genotipagem e aplicações clínicas. *J Bras Doenças Sex Transm.* 1996;1:15-21.
110. Galperim B, Cheinquer H, Stein A, Fonseca A, Lunge V, Ikuta N. Intranasal cocaine use does not appear to be an independent risk factor for HCV infection. *Addiction.* 2004;99:973-7.
111. Galperim B, Cheinquer H, Stein A, Fonseca A, Lunge V, Ikuta N. Prevalence of hepatitis C virus in alcoholic patients: role of parenteral risk factors. *Arq Gastroenterol.* 2006;43:81-4.
112. Nolte FS, Thurmond C, Fried MW. Preclinical evaluation of AMPLICOR hepatitis C virus test for detection of hepatitis C virus RNA. *J Clin Microbiol.* 1995;33:1775-8.
113. Farma E, Boeri E, Bettini P, Repetto CM, McDermott J, Lillo FB, et al. Single-step PCR in molecular diagnosis of hepatitis C virus infection. *J Clin Microbiol.* 1996;34:3171-4.
114. Halfon P, Khiri H, Feryn JM, Sayada C, Chanas M, Ouzan D. Prospective virological follow-up of hepatitis C infection in a haemodialysis unit. *J Viral Hepat.* 1998;5:115-21.

115. Angelico M, Morosetti M, Passalacqua S, Chiappini MG, Botta S, Ombres D, et al. Low levels of hepatitis C virus RNA in blood of infected patients under maintenance haemodialysis with high-biocompatibility, high-permeability filters. *Dig Liver Dis.* 2000;32:724-8.
116. Sypsa V, Psychogiou M, Katsoulidou A, Skoutelis G, Moutafis S, Hadjiconstantinou V, et al. Incidence and patterns of hepatitis C virus seroconversion in a cohort of hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2005;45:334-43.
117. Cendoroglo Neto M, Draibe SA, Silva AE, Ferraz ML, Granato C, Pereira CA, et al. Incidence of and risk factors for hepatitis B virus and hepatitis C virus infection among haemodialysis and CAPD patients: evidence for environmental transmission. *Nephrol Dial Transplant.* 1995;10:240-6.

## ANEXO 1 - Termo de consentimento livre e esclarecido

Curso de Pós-Graduação em Medicina: Hepatologia - F. F. F. C. M. P. A.  
Serviço de Gastroenterologia Hospital N. S. da Conceição - POA  
Serviço de Gastroenterologia Hospital Mãe de Deus - POA

### Termo de consentimento livre e esclarecido

**Título do estudo:** Identificação de marcadores de infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) em hemodiálise: comparação do teste imunológico (anti-VHC) com o molecular (reação em cadeia da polimerase – PCR) e avaliação do *pool* da PCR do VHC

**Relevância do estudo:** Atualmente, é elevada a taxa de infecção pelo vírus da hepatite C entre os indivíduos que realizam hemodiálise, de modo que, mensalmente, realizam-se testes de laboratório para identificar os indivíduos infectados. Este estudo visa testar uma estratégia para o uso de testes laboratoriais, de forma que possa realizar a identificação dos indivíduos infectados mais precocemente.

**Objetivo do estudo:** O objetivo deste estudo é comparar exames diagnósticos e verificar a capacidade de um determinado tipo de exame de sangue, *pool* de PCR, de identificar marcadores de infecção do vírus da hepatite C em portadores de insuficiência renal crônica em hemodiálise em tratamento na cidade de Porto Alegre.

**Procedimentos do estudo:** Este é um estudo onde todos os pacientes serão avaliados de forma rotineira, através da realização de exames laboratoriais no soro. Além disso, será feito questionário específico sobre a doença renal e fatores de risco para o contágio viral.

**Benefícios do estudo:** Você poderá ou não ser beneficiado com este estudo. O principal benefício que poderá advir será a identificação da infecção pelo vírus da hepatite C, com posterior investigação clínica e laboratorial da hepatite crônica causada por este vírus. Além disso, os resultados obtidos a partir desta pesquisa poderão auxiliar outras pessoas em situação semelhante, nortando futuras condutas preventivas para diminuir a chance de contágio do vírus da hepatite C.

**Risco do estudo:** Embora todos os procedimentos realizados neste estudo sejam os mesmos que seriam utilizados fora de protocolo de pesquisa, sua participação no presente estudo envolve riscos mínimos, relacionados à punção venosa para exames laboratoriais, tais como dolorimento transitório e equimose no local.

**Custo e compensações:** Não haverá custo adicional, caso você opte por participar deste estudo, bem como não haverá nenhuma compensação financeira por sua participação.



## ANEXO 2 - Questionário estruturado

### 1 - Identificação

Caso:

Data:

Unidade:.....

Nome:.....

..... Telefone:.....

Sexo: ( ) F ( ) M Idade:.....

### 2 - Etiologia da IRC e tempo de tratamento

Hipertensão arterial ( ) SIM ( ) NÃO  
Diabetes melito ( ) SIM ( ) NÃO  
Glomerulopatia ( ) SIM ( ) NÃO  
Outra ( ) SIM ( ) NÃO

Tempo de hemodiálise: \_\_\_\_\_ meses

### 3 - Epidemiologia

Resultado do anti-VHC quando iniciou hemodiálise:

( ) Não-reagente ( ) Reagente ( ) Não obtida esta informação

Realizou transfusões de sangue/derivados?

( ) SIM ( ) NÃO

Há quanto tempo realizou a primeira transfusão de sangue/derivados:

( ) Não se aplica ao caso ( ) ..... meses

Número de vezes que já se submeteu a transfusão de sangue/derivados:

( ) Nenhuma ( ) Uma vez ( ) Duas a três vezes  
( ) Quatro a cinco vezes ( ) Mais de cinco vezes

Já realizou tratamento para hepatite C? ( ) SIM ( ) NÃO

História de uso de drogas injetáveis: ( ) SIM ( ) NÃO

### 4 - Laboratório

**HBsAg:** ( ) Pos. ( ) Neg. ( ) Não realizou **Anti-HIV:** ( ) Pos. ( ) Neg. ( ) Não realizou

ALT: AST: ALT elevada: SIM ( ) NÃO ( )  
ALT/LSN da ALT: (zero quando não se aplica)

Ht:                    Hb:                    Leucócitos:                    Plaquetas:                    Creatinina:

TPseg:                TP:                % BT:                    BDI:                    Albumina:

Anti-VHC:            ( ) Reagente    ( ) Não-reagente

PCR para VHC:    ( ) Positivo    ( ) Negativo    ( ) Não realizou

Genótipo:    (zero quando não se aplica)

Pool de PCR:    ( ) Positivo    ( ) Negativo    ( ) Não realizou

Nº de amostras no *pool*:    ( ) 1:10            ( ) 1:15            1:20    ( ) Outro 1:....

Data:    /    /    Colhido por    Nutiane ( )    André ( )

## ANEXO 3 - Aprovação do Grupo Hospitalar Conceição



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO GRUPO HOSPITALAR CONCEIÇÃO**  
**CEP - GHC**  
**RESOLUÇÃO**  
Porto Alegre, 14 de junho de 2005.

O Comitê de Ética em Pesquisa-CEP-GHC, em reunião ordinária em 08/06/2005 analisou o projeto de pesquisa:

**Nº 041/05**

**CAAE: 0037.1.164.000-05**  
**FR: 060372**

**Título Projeto:** Identificar a acurácia da técnica do pool de PCR como detector de marcadores de infecção pelo Vírus da Hepatite C em portadores de doença renal crônica em hemodiálise.

**Pesquisador(es):** Bruno Galperim

**PARECER:**

**Documentação:** Aprovada

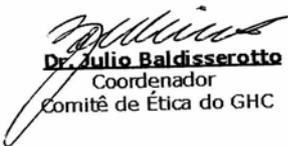
**Aspectos Metodológicos:** Aprovados

**Aspectos Éticos:** Aprovados

**Parecer final:** Este projeto, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde, obteve o parecer de **APROVADO**, neste CEP.

**Grupo e área temática:** Projeto pertencente ao Grupo III - Área Temática: Ciências da Saúde (Medicina - 4.06).

**Considerações finais:** Toda e qualquer alteração do projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/GHC. Somente poderão ser utilizados os Termos de Consentimento onde conste a aprovação do CEP/GHC. O autor deverá encaminhar relatórios semestrais sobre o andamento do projeto. Após conclusão do trabalho, o pesquisador deverá encaminhar relatório final ao Centro de Resultados onde foi desenvolvida a pesquisa e ao Comitê de Ética em Pesquisa.

  
**Dr. Julio Baldisserotto**  
Coordenador  
Comitê de Ética do GHC

  
Dr. Alexandre Moretto  
Comitê de Ética em Pesquisa  
Gerência de Ensino e Pesquisa  
GEP/GHC

**Comitê de Ética em Pesquisa - CEP / GHC** fone/fax: (51) 3361 1739 ramal 2407 - e-mail: capcientifico@ghc.com.br  
**Reconhecido:** Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP (31/out/1997) - Ministério da Saúde  
IRB - Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)  
Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB 00001105  
FWA Federalwide Assurance sob número FWA 00000378

## ANEXO 4 - Aprovação do Hospital Mãe de Deus



AESC/HMD-CEP

Porto Alegre, 15 de junho de 2005.

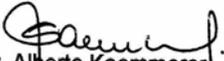
**Ilmo. Sr.  
Dr. Bruno Galperim**

Ref: Parecer Consubstanciado de Projeto de Pesquisa

Senhor Pesquisador:

Encaminhamos, em anexo, o Parecer nº 083b/05, do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Mãe de Deus – CEP/HMD, referente ao projeto de pesquisa *"Identificar a acurácia da técnica do pool de PCR como detector de marcadores de infecção pelo VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise."* de março de 2005.

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da legislação vigente, em especial da Resolução CNS 196/96, o Comitê de Ética em Pesquisa deverá receber relatórios periódicos sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisados nos casos de relevância, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo.

  
Dr. Alberto Kaemmerer  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do  
Hospital Mãe de Deus



HOSPITAL  
MÃE DE DEUS

**PARECER - Nº 083b/05**  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA/HMD**  
**Porto Alegre, 15 de junho de 2005.**

**Projeto de Pesquisa:** *"Identificar a acurácia da técnica do pool de PCR como detector de marcadores de infecção pelo VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise."*

**Versão de março de 2005.**

**Termo de Compromisso Livre e Esclarecido de março de 2005.**

**Pesquisador Responsável:** Dr. Bruno Galperim

**Instituição:** Hospital Mãe de Deus

**Área Temática:** Grupo III

Ao se proceder à análise das respostas às considerações do CEP/HMD no Parecer nº 083/05, relativo ao projeto em questão, considerou-se que foram atendidas, na íntegra, as 6 (seis) pendências postas.

Para fins de adequada compreensão do projeto em sua totalidade, sugere-se a incorporação de todas as modificações apresentadas sob a forma de um projeto modificado.

**Por tratar-se de atender especificamente às pendências postas em Parecer anterior, o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, do Hospital Mãe de Deus, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 196/96, manifesta-se pela Aprovação do projeto de pesquisa proposto.**

**Situação:** Projeto Aprovado

Dr. Alberto Kaemmerer  
*Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do  
Hospital Mãe de Deus*

## ANEXO 5 - Aprovação do Hospital Ernesto Dornelles

Porto Alegre 18 de Julho de 2005

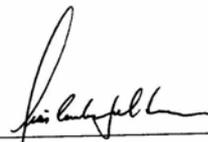
Exmo. Dr. Bruno Galpirim;

A Comissão de Ética Médica analisou seu projeto de pesquisa – Identificar a acurácia da técnica de Pool de PCR, como detector de marcadores de infecção pelo vírus da Hepatite C em portadores de doença renal crônica em hemodiálise – estando dentro dos quesitos éticos em pesquisa, portanto aprovado.

Atenciosamente,

*Visto  
Comunicação - de  
de interesse  
por 18/07/05  
Mário Dornelles*

Dr. Mario Oronoz Guterres  
Superintendente Médico  
CREMERS 3315  
Hospital Ernesto Dornelles

  
Dr. Luis Carlos Saldanha CRM 10460  
Presidente da Comissão Ética - HED

# ANEXO 6 - Aprovação da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre



## Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Prof. Annes Dias, 285 - Telefone: (51) 3214.8080 - Fax: (51) 3214.8585  
CEP 90020-090 - Porto Alegre - Rio Grande do Sul - CNPJ: 92815000/0001-68  
Site: www.santacasa.org.br - E-mail: marketing@santacasa.tche.br



Compromisso com a excelência

### PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer nº 195/05

Protocolo nº 1093/05

**Título:** " Identificar a acurácia da técnica do Pool de PCR como detector de marcadores de infecção pelo VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise".

**Pesquisador Responsável:** Angelo Alves Mattos

**Instituição onde se realizará** – Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

**Data de Entrada:** 08/07/05

**II – Objetivos:** Identificar a acurácia da técnica do pool de PCR como detector de marcadores de infecção pelo VHC em portadores de doença renal crônica em hemodiálise. Verificar a sensibilidade, especificidade, razão de verossimilhança entre marcadores bioquímicos (ALT), imunológicos (anti-VHC) e moleculares (PCR e pool de PCR) de infecção pelo VHC em portadores de doença renal crônica. Comparar as características demográficas e fatores de risco dos pacientes com e sem marcadores para infecção pelo VHC nesta amostra.

### III - Sumário do Projeto

**Descrição e caracterização da amostra:** Será um estudo transversal, com pacientes com diagnóstico de insuficiência renal crônica. A amostra será constituída a partir de uma lista onde estão incluídos todos os pacientes em hemodiálise na Cidade de Porto Alegre. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado considerando-se uma frequência esperada de infecção do VHC em período de janela imunológica (não detectado pelo anti-VHC) de 3% com erro aceitável de 1,5% e para um IC de 95%, sendo de 351 pacientes.

**Crítérios de Inclusão/ Exclusão:** Serão alocados para este estudo pacientes com diagnóstico de insuficiência renal crônica e que estiverem realizando tratamento com hemodiálise há mais de 6 meses, maiores de 18 anos de idade, independente de cor, raça, sexo e que concordem com o termo de consentimento informado. Serão Considerados como não resposta os pacientes que durante o período entre a constituição da lista aleatória e a coleta dos dados tenha se afastado da unidade por óbito, hospitalização ou por outro motivo.

**Adequação das condições** - Hospital escola com infra-estrutura adequada para a realização do estudo descrito.

### IV - Comentários:

- **Justificativa do uso de placebo** – Não aplicável.
- **Análise de riscos e benefícios** – Adequada.
- **Adequação do termo de consentimento e forma de obtê-lo** – Adequado.
- **Informação adequada quanto ao financiamento** – Adequado..
- **Outros centros no caso de estudos multicêntricos** – Serviços de Gastroenterologia dos Hospitais Nossa Senhora da Conceição – POA e Mãe de Deus – POA.

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCOMPA Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tche.br  
Reconhecido: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde  
IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)  
Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.  
FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.

9



## Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Rua Prof. Annes Dias, 285 - Telefone: (51) 3214.8080 - Fax: (51) 3214.8585  
CEP 90020-090 - Porto Alegre - Rio Grande do Sul - CNPJ: 92815000/0001-68  
Site: www.santacasa.org.br - E-mail: marketing@santacasa.tche.br



Compromisso com a excelência

**V - Parecer :** *"Após avaliação do projeto acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices para o seu desenvolvimento em nossa Instituição".*

**VI - Data da Reunião:** 02/08/05

*"Projeto e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, Aprovados".*

*Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).*

*2 - Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.*

*3 - O Dr. João Carlos Goldani absteve seu voto por participar do projeto ora avaliado.*

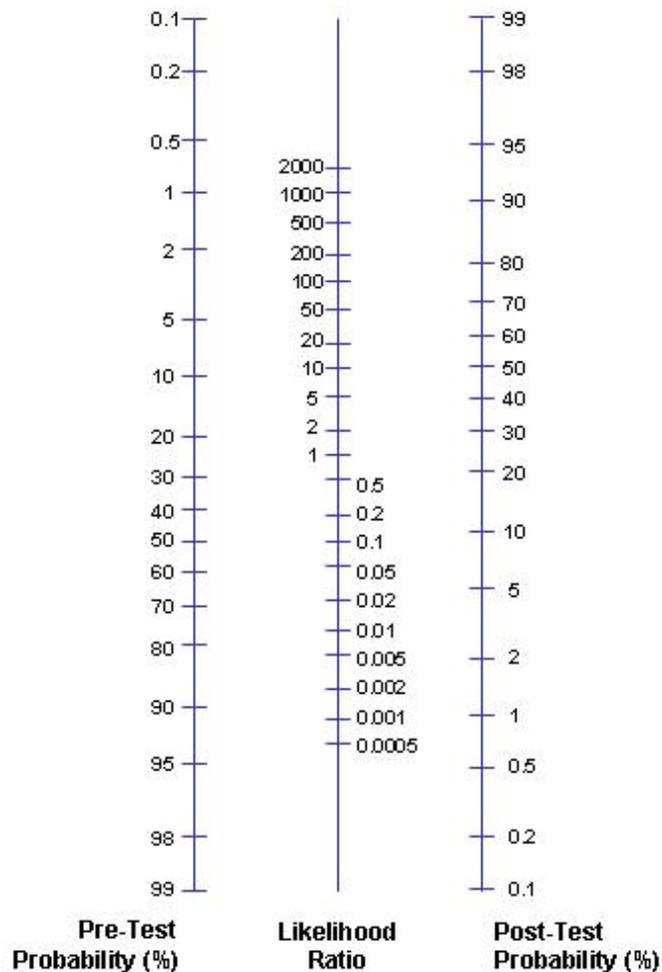
Porto Alegre, 02 de agosto de 2005.

Dr. Claudio Teloken  
Coordenador do CEP/ISCMPA

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/ISCMPA Fone/Fax (51) 3214-8571 – e-mail: cep@santacasa.tche.br  
Reconhecido: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP / Ministério da Saúde  
IRB – Institutional Review Board pelo U.S. Department of Health and Human Services (DHHS)  
Office for Human Research Protections (ORPH) sob número - IRB00002509.  
FWA – Federalwide Assurance sob número - FWA00002949.

## ANEXO 7 - Nanograma

Nanograma para converter a probabilidade pré-teste  
em probabilidade pós-teste, sabendo-se o valor da razão de probabilidades



A razão de probabilidade (*likelihood ratio*) é a probabilidade de que o resultado de um teste ocorra em um indivíduo doente comparada com a probabilidade de que o mesmo resultado ocorra em outro sem a doença.

A partir da prevalência, permite calcular a probabilidade pós-teste de uma doença.

Permite sua aplicação a outros estudos, pois pouco varia em função da prevalência da doença<sup>84</sup>.

## ANEXO 8 - Resultado do teste Kappa: concordância entre os testes

Valor do Kappa	Força da concordância
< 0,20	Pobre
0,21-0,40	Fraca
0,41-0,60	Moderada
0,61-0,80	Boa
0,81-1,00	Muito boa

Fonte: Altman<sup>85</sup>.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)