



UFAM



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA
BÁSICA E APLICADA**

IACI GAMA FORTES

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DO VÍRUS DA
HEPATITE C (HCV) EM CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE DO
HEMOCENTRO DE RORAIMA**

MANAUS-AM

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA

IACI GAMA FORTES

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DO VÍRUS DA
HEPATITE C (HCV) EM CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE DO
HEMOCENTRO DE RORAIMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, como parte do pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Imunologia na área de concentração “Imunologia Básica e Aplicada”.

Orientador(a): Prof^a Dra. Adriana Malheiro

MANAUS-AM

2015

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F738c Fortes, Iaci Gama
Caracterização epidemiológica e molecular do vírus da hepatite c (HCV) em candidatos a doação de sangue do Hemocentro de Roraima / Iaci Gama Fortes. 2015
135 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Adriana Malheiro
Dissertação (Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. doador de sangue. 2. HCV. 3. anti-HCV. 4. NAT HCV. 5.
Roraima-Brasil. I. Malheiro, Adriana II. Universidade Federal do
Amazonas III. Título

IACI GAMA FORTES

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DO VÍRUS DA
HEPATITE C (HCV) EM CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE DO
HEMOCENTRO DE RORAIMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, como parte do pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Imunologia na área de concentração “Imunologia Básica e Aplicada”.

APROVADA EM: 28 de setembro de 2015.

BANCA EXAMINADORA

**Profa. Dra. Adriana Malheiro, Presidente
Universidade Federal do Amazonas, UFAM**

**Prof. Dra. Kátia Luz Torres Silva, Membro Interno
Fundação Centro de Controle de Oncologia do Estado do Amazonas,
CECON**

**Prof. Dr. Antonio Carlos Vallinoto, Membro Externo
Universidade Federal do Pará, UFPA**

DEDICATÓRIA

*À Dona Antônia e
Seu Batista (in memoriam),
Célia Cristrina,
Pedro Marcos,
Gabriel e Cleber.*

AGRADECIMENTOS

Aos candidatos a doação de sangue que aceitaram participar deste estudo;

À minha família e ao meu companheiro Cleber pela compreensão dos momentos de ausência para a execução deste estudo;

À Dra. Adriana Malheiro, pela orientação e confiança;

À Msc. Andréa Tarragô, salvando-me e sendo o braço direito entre a ponte (aérea e terrestre) Manaus – Boa Vista;

A equipe do núcleo de pesquisa (NAEP) do Hemoam, pelas amizades, troca de experiências e por onde tudo começou, vocês foram essenciais;

Tatiane Amabile de Lima, Tatiana Pires, pelo apoio e incentivo para ingressar ao mestrado;

À Regina Claudia Rebouças Mendes Alho, na época diretora do Hemoraima, a primeira a aceitar a execução do estudo no Hemoraima;

À equipe do Hemoraima, principais envolvidos no estudo durante a coleta e amostras e à coleta de informações: Suelen Belo, Janaina Dornelles, Fernanda Angelina Cavalcante, Renata Norath, Luciana Alves Major Torres, Johnny Sanderson, Leuda Moura, Thaymara Souza Lucena.

À Dra. Fabiana Granja, pelo apoio ofertado e pela troca experiência na Universidade Federal de Roraima;

À Jacqueline Barros, gerente do Núcleo de Controle das Hepatites Virais da Secretaria Estadual de Saúde pela valiosas informações de saúde do Estado de Roraima;

Ao Cleudon de Queiroz Costa Filho, do Laboratório de Hepatites Virais do Laboratório Central do Estado de Roraima pelo apoio durante a execução dos experimentos para quantificação de RNA HCV;

À Rosana Padilha Kempfer pelo auxílio na confecção das figuras do Estado de Roraima;

Ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, por serem atenciosos e pelo apoio durante as dificuldades advindas da distância;

Ao Departamento de Atenção Básica da Secretaria de Saúde do Município de Boa Vista pelo auxílio para distinguir as Macro Áreas de Saúde por meio de figuras;

À minha turma de mestrado (2013) do PPGIBA: Luciane Sales, Carolina Fadoul, Dhemerson Lima e Rafael Maciel - orgulho e saudade.

Às instituições Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas – HEMOAM; Universidade Federal de Roraima- UFRR, Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Roraima – Hemoraima, pela parceria e oportunidade de realizar o estudo;

Às instituições de auxílio financeiro, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

À todos que ajudaram direto ou indiretamente para finalização deste trabalho

À Deus, pela oportunidade de vivenciar esta vida.

RESUMO

Introdução: A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) apresenta-se na forma tanto aguda quanto crônica e na maioria das vezes é assintomática, apresenta diversos fatores de risco que podem variar entre os grupos populacionais e a definição de infecção ainda é um desafio, refletindo em bancos de sangue onde pode ser detectada pelos marcadores anticorpo contra o HCV (anti-HCV) e NAT HCV (detecção de ácidos nucleicos do HCV). **Objetivo:** Traçar o perfil epidemiológico e as características moleculares da infecção pelo HCV em candidatos a doação de sangue do Hemocentro de Roraima. **Métodos:** Candidatos anti-HCV positivo ou indeterminado foram selecionados mediante o comparecimento de coleta de 2ª amostra como de rotina. Foi coletado resultados da triagem da doação de sangue e 2ª amostra. E coletado nova (3ª amostra) amostra para quantificação de RNA HCV pela plataforma *Abbott RealTime™ HCV Assay* e aplicado questionário epidemiológico. **Resultados:** O grupo de candidatos a doação de sangue foi constituído por jovens entre 18-29 anos (63,6%), predomínio de do sexo masculino (72,7%), solteiros (50,0%), todos procedentes da capital Boa Vista, e cerca de 54,5% não eram doadores de primeira vez, com evidências de exposição a fatores de risco (procedimentos cirúrgicos, compartilhamento de objetos de higiene, entre outros); 21 candidatos a doação de sangue obtiveram resultados positivo ou indeterminado para anti-HCV e 1 resultado com NAT HCV detectável na triagem da doação. No teste de 2ª amostra para anti-HCV, 12 foram reagentes, 9 não reagentes e 1 indeterminado e NAT de 2ª amostra indetectável. Em nenhuma amostra foi possível detectar RNA HCV. **Conclusão:** Sugere-se que estes doadores se encontram com carga viral baixa sendo impossível a detecção ou *clearance* plasmático ou resultados anti-HCV provenientes da triagem da doação de sangue podem ser falso-positivos.

Palavras-chave: doador de sangue; anti-HCV; NAT HCV, Roraima-Brasil.

ABSTRACT

Introduction: Hepatitis C infection (HCV) is presented as both acute and chronic and most often is asymptomatic, it presents several risk factors that may vary across population groups and the definition of infection is still a challenge reflecting in blood banks which can be detected by the marker antibody against HCV (anti-HCV) and HCV NAT (detection of HCV nucleic acids). **Objective:** To trace the epidemiological profile and the molecular characteristics of HCV infection in candidates for blood donation the Blood Center of Roraima. **Methods:** positive or indeterminate anti-HCV candidates were selected by the 2nd sample collection attendance as routine. It was collected results of the screening of blood donation and 2nd sample. And new sample collected for quantification of HCV RNA by *Abbott RealTime™ HCV Assay* platform and applied epidemiological questionnaire. **Results:** Candidates for blood donation had the characteristics, young people aged 18-29 years (63.6%) of males (72.7%), single (50.0%), from the capital Boa Vista, and 54.5% were repeat donors, with evidence of exposure to risk factors (surgical procedures, hygiene objects sharing, etc.); 21 candidates to blood donation obtained positive results or indeterminate for anti-HCV and one result with NAT detectable HCV screening of the donation. In the 2nd sample test anti-HCV, 12 were reagents, 9 non-reactive, 1 indeterminate and NAT undetectable. In no sample was detectable HCV RNA. **Conclusion:** It is suggested that these donors are low viral load being impossible to detect or plasma clearance or anti-HCV results from the screening of blood donation can be false positives.

Keywords: blood donors; anti-HCV; NAT HCV, Roraima-Brazil.

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

®	Marca registrada
%	Porcentagem
°C	grau Celsius
Ag/Ab	Antígeno / Anticorpo
ALT	Alanina transaminase
anti-HBc	Anticorpo contra o antígeno Core do vírus da hepatite B
anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
Anti-HCV	Anticorpo contra antígenos do vírus da Hepatite C
cDNA	DNA complementar
CLDN1	Claudin-1
CM	Crioglobulinemia
CMIA	Quimioluminescência
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA	Ensaio por imunoadsorvência ligado à enzima
FAPEAM	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas
FDA	Food and Drug Administration
GAG	Glicosaminoglicano
GSM-NAT	Gerenciador do Sistema Multicêntrico NAT
HBsAg	antígenos de superfície do vírus da hepatite B
HCV	Vírus da Hepatite C
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HEMOAM	Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HLA	Antígeno leucocitário humano
HTLV - 1 / 2	Vírus T-linfotrópicos humanos 1 e 2
HVB	Vírus da Hepatite B
IFN	Interferon
IL	Interleucina
IRES	Entrada ribossomal
IRF3	Fator de resposta ao interferon 3
KIR	Killer Immunoglobulin-like Receptor
Km ²	Quilômetro quadrado

LDL	Lipoproteína
MASP-1 / 2	Serina protease associada à lectina ligante de manana
MBL	Lectina ligante de manose
MDA5	Gene de melanoma associado à diferenciação 5
MEIA	Imunoensaio Enzimático por Micropartículas
MEIA	Imunoensaio Enzimático por Micropartículas
mL	Mililitro
NAT	Teste de detecção de ácidos nucleicos
NCR	Região conservada não codificante
Ng	Nanograma
NK	Natural Killer
NK-κB	Fator nuclear Kb
Nm	Nanômetro
OCLN	Occludin
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PDC	Célula dendrítica plasmocitóide
POP	Procedimento Operacional Padrão
PPT	Plasma Preparation tube
RIBA	Ensaio Immunoblot Recombinante
RIG-I	Receptor do gene indutível por ácido retinóico I
RNA	Ácido ribonucleico
RT	Transcrição reversa
RT - PCR	Reação em Cadeia da Polimerase com a enzima transcriptase reversa
S/CO	
SH	Sulfato de heparina
SR-BI	Receptor Scavenger BI
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TLR	Receptor Toll-like
™	<i>Trademark</i>
TMA	Amplificação mediada pela transcriptase reversa
TNF	Fator de necrose tumoral
UFRR	Universidade Federal de Roraima
VDRL	do inglês, <i>Veneral Disease Research Laboratory</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - O vírus da hepatite C. É um vírus RNA da família <i>Flaviviridae</i> com cerca de 30 a 60nm de diâmetro.	24
Figura 2 - Representação do genoma do vírus da hepatite C.	25
Figura 3 - Ciclo do VHC. a) Internalização e ligação do vírus; b) Liberação no citoplasma e descapsidação; c) Tradução mediada-IRES e processamento da poliproteína; d) Replicação do RNA; e) empacotamento e montagem; f) maturação do <i>virion</i> e liberação.	27
Figura 4 - Representação da árvore filogenética do HCV demonstrando a distribuição entre os 7 genótipos e seus subtipos.	29
Figura 5 – Estimativa global da prevalência da Hepatite C.	31
Figura 6 - Taxa de detecção de hepatite C por 100 mil habitantes, Roraima, região Norte e Brasil, 1999 a 2010.	32
Figura 7 - Fluxograma laboratorial do diagnóstico da hepatite C.	38
Figura 8 – Representação do Estado de Roraima com seus 15 municípios.	51
Figura 9 – Representação do mapa do Estado de Roraima apresentando regiões de fronteira.	51
Figura 10 – Representação das Macro Áreas de Saúde definidas pelas Secretaria Municipal de Saúde de Boa Vista.	52
Figura 11 - Fluxograma demonstrativo das etapas desenvolvidas no projeto.	55
Figura 12 – Fluxograma dos resultados dos testes. Representação dos resultados dos testes da triagem sorológica da doação de sangue e dos resultados da coleta de nova amostra.	66

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 - Número de casos confirmados de hepatite C notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net no Estado de Roraima, entre 2008 à 2014.	32
Tabela 2 - Soroprevalência do marcador anti-HCV em doadores de sangue do Estado de Roraima, entre 2009 à 2013.....	36
Tabela 3 - Perfil epidemiológico dos doadores que apresentaram resultado anti-HCV positivo ou indeterminado.	58
Tabela 4 - Questionamentos realizados aos doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado.	59
Tabela 5 - Resultado da Triagem anti-HCV na data da doação de sangue.	60
Tabela 6 - Resultado anti-HCV de acordo com as metodologias empregadas no período da triagem da doação de sangue.	61
Tabela 7 - Resultado da análise de 2ª amostra dos doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado na triagem.	61
Tabela 8 - Resultado anti-HCV da 2ª amostra.....	62
Tabela 9 - Resultado do NAT da Triagem da Doação de Sangue.....	63
Tabela 10 - Relação entre o resultado de 2ª amostra da sorologia anti-HCV e NAT HCV (triagem).	63
Tabela 11 - Resultado da quantificação do RNA HCV em todas as amostras do estudo.	64
Quadro 1 - Estudos realizados que relataram a prevalência de anti-HCV/RNA-HCV em doadores de sangue.....	34
Quadro 2 - Relação dos TLRs durante a infecção pelo HCV.....	46

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	21
1. REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
1.1 HISTÓRICO DA HEPATITE C (HCV)	23
1.2 VÍRUS DA HEPATITE C.....	23
1.2.1 REPLICAÇÃO VIRAL.....	26
1.2.2 GENÓTIPOS HCV	28
1.3 EPIDEMIOLOGIA.....	30
1.3.1 EPIDEMIOLOGIA DO HCV EM DOADORES DE SANGUE NO BRASIL	33
1.4 VIAS DE TRANSMISSÃO DO HCV	36
1.5 TESTES DE DETECÇÃO PARA HEPATITE C	37
1.5.1 GENOTIPAGEM DO HCV	42
1.6 RISCO TRANSFUSIONAL	42
1.7 HISTÓRIA NATURAL	45
1.8 RESPOSTA IMUNE CONTRA O HCV	45
1.8.1 RESPOSTA IMUNE INATA.....	45
1.8.2 RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA	47
2 OBJETIVOS.....	49
2.1 OBJETIVO GERAL.....	49
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
3 METODOLOGIA.....	50
3.1 MODELO DE ESTUDO	50
3.2 CARACTERÍSTICA DA ÁREA DE ESTUDO	50
3.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO E CRITÉRIOS DE SELEÇÃO.....	52
3.4 TRIAGEM SOROLÓGICA EM DOADORES DE SANGUE NO HEMORAIMA	53
3.4.1 TESTE DE TRIAGEM PARA A HEPATITE C UTILIZADOS NA SOROLOGIA NO PERÍODO DE 2011 À 2015.....	54

3.4.2. TESTE DE TRIAGEM DA 2ª AMOSTRA PARA HEPATITE C.....	55
3.5 PROCEDIMENTO TÉCNICOS	55
3.5.1 COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS	56
3.5.2 DETERMINAÇÃO DE RNA DE HCV.....	56
3.6 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS	57
3.7 IMPLICAÇÕES ÉTICAS	57
4. RESULTADOS	58
4.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE ANTI-HCV ⁺	58
4.2 RESULTADO DA TRIAGEM DE AMOSTRAS DE CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE.....	60
4.3 RESULTADO DA ANÁLISE DA 2ª AMOSTRA	61
4.4 RESULTADOS DO NAT-HCV DA TRIAGEM DE CANDIDATOS A DOAÇÃO DE SANGUE.....	62
4.5 RESULTADO DA QUANTIFICAÇÃO HCV-RNA	64
5. DISCUSSÃO	67
CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS	75
ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – HEMOAM	87
ANEXO B – DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA HEMORAIMA.....	89
ANEXO C – DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA HEMOAM.....	90
ANEXO D – DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA UFRR	91
ANEXO E – DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA UFAM.....	92
ANEXO F – FICHA DE SOLICITAÇÃO PARA ANÁLISE MOLECULAR PARA HEPATITE C	93
APÊNDICE A- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	94
APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO	95
APÊNDICE C – ARTIGO 1.....	96
APÊNDICE D – ARTIGO 2	113
APÊNDICE E – ARTIGO 3.....	124

INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) apresenta-se na forma tanto aguda quanto crônica e na maioria das vezes é assintomática. É uma doença de curso variável, podendo evoluir para cura espontânea ou, quando estabelecida, pode evoluir para cirrose, hepatocarcinoma e morte. Além disso, é o principal indicador de transplante de fígado, sendo responsável por, aproximadamente, 350.000 mortes ao ano em todo mundo (OPAS, 2014; WHO, 2014; STASI et al., 2015).

A principal via de transmissão do HCV é a parenteral, portanto o HCV pode ser transmitido por meio do sangue contaminado através do compartilhamento de equipamentos para uso de drogas injetáveis, terapias invasivas, hemodiálise e o compartilhamento de objetos de higiene pessoal (aparelho de barbear e cortadores de unhas) (LOPES et al., 2009; HAHN et al., 2010; MARTINS; NARCISO-SCHIAVON; SCHIAVON, 2011; CEPEDA et al., 2013). Práticas sexuais desprotegidas apresentam-se como fator de risco por haver a descrição da detecção do vírus no sêmen (CIORLIA; ZANETTA, 2007; CAVALHEIRO et al., 2008, 2009, 2010).

Em bancos de sangue, a detecção da infecção pelo HCV é determinada pela reatividade ao anticorpo contra o HCV (anti-HCV) e pela detecção de ácidos nucleicos do vírus (NAT), conforme a Portaria nº 2.712 / 2013.

A reatividade pelo marcador anti-HCV não determina a infecção pelo HCV, porém a realização do teste NAT elimina o período de janela imunológica de 51 dias para 7 dias - período compreendido entre o contato com o antígeno hemotransmissível e a produção de anticorpos em níveis detectáveis pelos testes sorológicos atuais. É possível também que indivíduos tenham tido contato com o HCV e eliminado o vírus espontaneamente e ter anticorpos contra o HCV podendo ser detectado, mas não estar mais infectado, fazendo com que os testes sorológicos sejam reativos, mas o teste NAT HCV não detectável (BEDOYA; MÁRQUEZ; ARIAS, 2012).

Diversos estudos em Hemocentros tem relatado o perfil epidemiológico de candidatos a doação de sangue que apresentam o marcador anti-HCV e relacionam com testes confirmatórios afim de avaliar o emprego de metodologias como também estabelecer possíveis fatores de risco para esses grupos de candidatos a doação, considerando que o Brasil é extenso, possivelmente essas variáveis podem se distinguir de acordo com as diferentes regiões (GONZAGA et al., 2008; GARCIA et al., 2009; JOSAHKIAN et al., 2010; SILVEIRA et al., 2011; CHOUDHURY et al., 2011; ALVARADO-MORA et al., 2012).

O conhecimento da distribuição da hepatite C entre candidatos a doadores de sangue atendidos no Hemocentro de Roraima (Hemoraima) ainda é limitado em função da inexistência de estudos publicados sobre o tema.

Este estudo nos leva a reflexão de que na região de Roraima há uma lacuna entre estudos realizados com candidatos a doadores de sangue e a infecção pelo HCV. A realização de estudos semelhantes permitirá conhecer o comportamento epidemiológico da população atendida no Hemoraima e desta maneira fortalecer protocolos desde a seleção de doadores até a certificação da qualidade dos hemocomponentes, com ênfase na segurança transfusional.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 HISTÓRICO DA HEPATITE C (HCV)

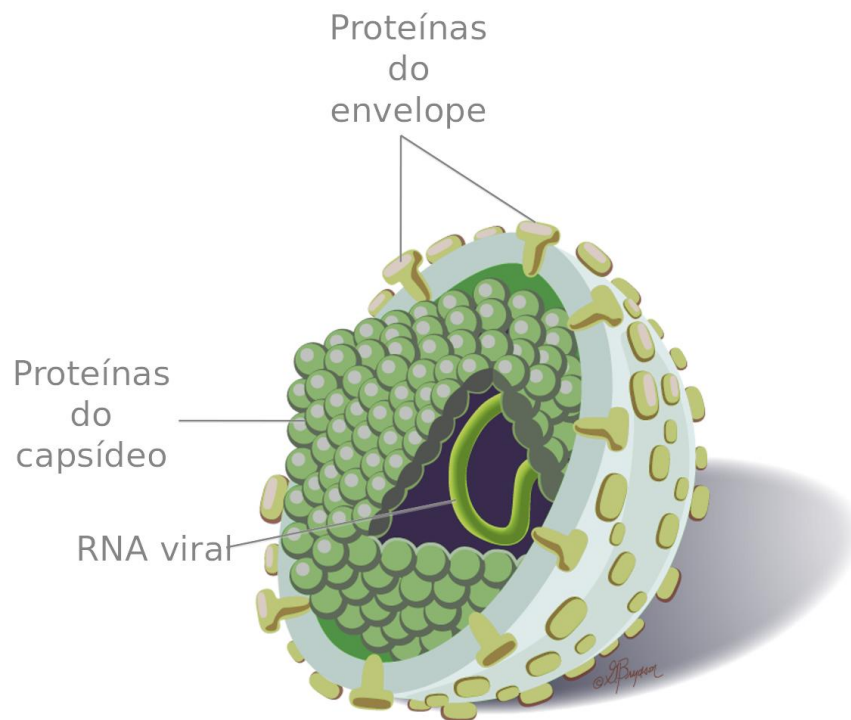
Relatos da antiguidade descrevem que os sintomas de indivíduos que apresentavam icterícia e acúmulo de líquido no abdome poderiam estar relacionados com alguma doença infecciosa e que a doença poderia estar no fígado (THOMAS; SEEFF, 2005; FONSECA, 2010). No início da década de 1980, durante estudos experimentais com primatas, pesquisadores relataram a presença de um agente infeccioso que o denominaram de *Agente de Forma Tubular*. Já em 1989, identificaram finalmente o genoma do agente viral responsável por 80 a 90% das hepatites pós-transfusionais não-A e não-B. Tal agente foi denominado de vírus da hepatite C (HCV) (CHOO et al., 1989). Com o passar dos anos, desenvolveu-se teste sorológico para detecção de anticorpos contra a infecção pelo HCV e durante estes estudos detectou-se o HCV em pacientes que se apresentavam como grupo risco, principalmente com história de transfusão sanguínea. E na mesma década de 80, o HCV pode ser caracterizado molecularmente utilizando-se sondas de hibridização para os agentes virais da hepatite (CHOO et al., 1989; FONSECA, 2010).

1.2 VÍRUS DA HEPATITE C

O vírus da hepatite C representa o gênero *Hepacivirus* incluído na família *Flaviviridae*. É um pequeno vírus com cerca de 30 a 60 nm de diâmetro e apresenta um genoma de RNA linear com hélice única e positiva (Figura 1) (HOUGHTON et al., 1991).

A partícula viral consiste num nucleocapsídeo rodeado por uma bicamada lipídica, onde se encontram glicoproteínas virais E1 e E2 (GEORGEL et al., 2010).

Seu genoma contém aproximadamente 9.400 nucleotídeos, apresentando regiões conservadas não codificantes (NCR) nas extremidades 5' e 3' e, entre elas, uma longa região aberta de leitura (ORF - *open reading frame*) que codifica uma poliproteína de pouco mais de 3.000 aminoácidos. As regiões 5'NCR e 3'NCR são altamente conservadas, alvo para o diagnóstico molecular do HCV e para a iniciação da replicação viral (MORADPOUR; BLUM, 2004; BRASS; MORADPOUR; BLUM, 2006). A região 5' NCR é uma região interna de entrada ribossomal (IRES) que inicia a tradução do genoma do HCV (DUBUISSON; COSSET, 2014).



Fonte: http://hepatite-tema.blogspot.com.br/2011_12_01_archive.htm (modificado)

Figura 1 - O vírus da hepatite C. É um vírus RNA da família *Flaviviridae* com cerca de 30 a 60nm de diâmetro.

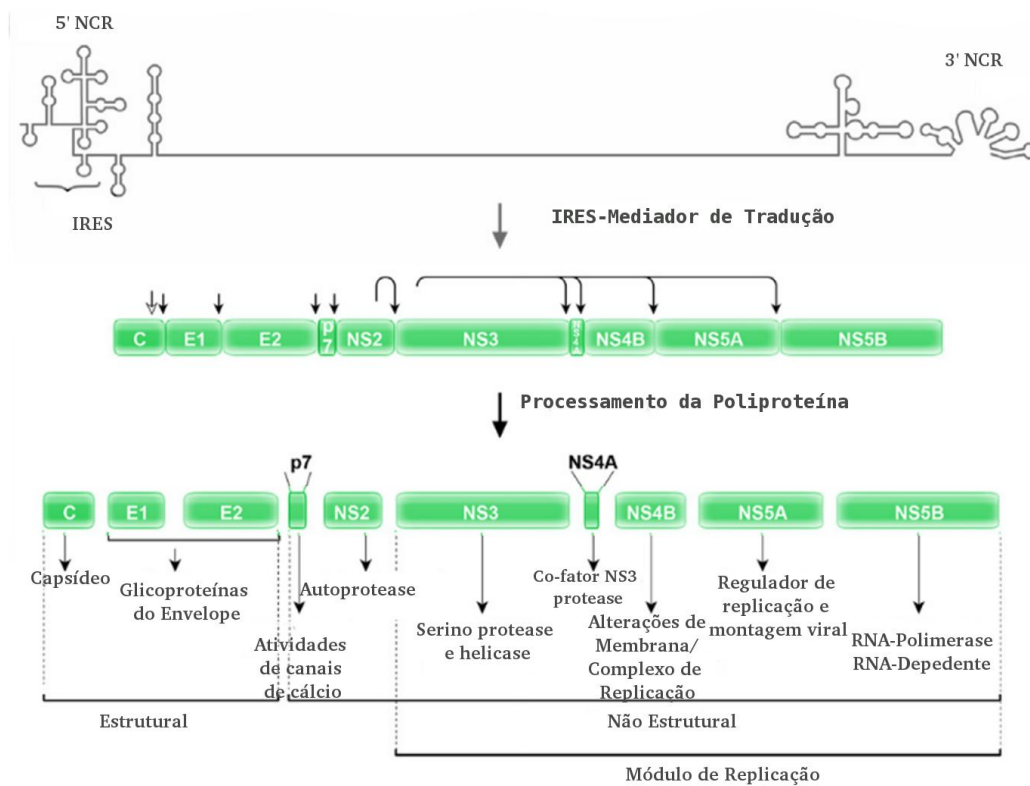
A poliproteína codificada pelo genoma do HCV, após ser clivada por enzimas virais e celulares libera proteínas estruturais e não estruturais do vírus. Além disso, uma poliproteína (F/ARFP) traduzida por um mecanismo alternativo tem sido descrita, entretanto ainda não se tem conhecimento da sua função (GEORGEL et al., 2010).

A região do genoma responsável pelas proteínas estruturais, codifica a proteína **core** do nucleocapsídeo viral (proteína C, com cerca de 19kD) e as **glicoproteínas E1** (gp33) e **E2** (gp72), constituintes do envelope viral. Esta região do genoma representa a sequência altamente conservada, sugerindo um papel regulador durante a replicação viral (STRAUSS, 2001; LI; LEMON, 2013).

A proteína do Core do HCV é uma proteína de ligação ao RNA viral que constitui o nucleocapsídeo viral, relatada por interagir com uma variedade de proteínas celulares e por influenciar as funções das células hospedeiras (MORADPOUR; BLUM, 2004). As glicoproteínas E1 e E2 são proteínas transmembrânicas, componentes essenciais do envelope do HCV e necessárias para entrada e fusão do vírus nas células hospedeiras (DUBUISSON; COSSET, 2014).

As proteínas não estruturais, **p7**, **NS2**, **NS3**, **NS4A**, **NS4B**, **NS5A** e **NS5B** representam a extremidade carboxiterminal e são responsáveis pela replicação viral (LAUER; WALKER, 2001; MORADPOUR; PENIN; RICE, 2007).

A junção entre as proteínas estruturais e não estruturais é feita pela proteína p7. Esta possui atividade de canais de cálcio, ainda com função desconhecida durante a replicação de RNA, entretanto tem-se descrito que interações entre E1, E2 e p7 são essenciais para montagem do vírus, por isso poderia ser um alvo atraente para intervenção antiviral (DUBUISSON; COSSET, 2014).



Fonte: DUBUISSON; COSSET, 2014 (modificado)

Figura 2 - Representação do genoma do vírus da hepatite C.

As proteínas não estruturais podem ser denominadas de acordo com a atividade que representam. Portanto, incluem NS2-3 autoprotease, NS3 serina protease e helicase RNA localizada na região C-terminal da NS3, a proteína polipeptídica NS4A, as proteínas NS4B e NS5A, e a proteína NS5B RNA polimerase dependente de RNA-RdRp (MORADPOUR; PENIN; RICE, 2007; DUBUISSON; COSSET, 2014). As proteínas NS3 - NS5B formam o complexo de replicação viral, enquanto as proteínas NS2 e NS5A são co-fatores para a montagem viral (LI; LEMON, 2013).

A região 5'NCR é a região de escolha para a detecção qualitativa e quantitativa do RNA pela alta conservação da região, permitindo a melhora da sensibilidade. Entretanto, estudos demonstram que as regiões mais utilizadas para diferenciar os genótipos e os seus subtipos de forma mais acurada seria investigando as regiões do Core, do envelope E1 e a região NS5B pois são essas as regiões que possuem maior variabilidade (CHINCHAI et al., 2003; SIMMONDS, 2004).

1.2.1 REPLICAÇÃO VIRAL

Os modelos de investigação do ciclo de replicação do HCV e da patogênese ainda são complicados pela falta de sistemas de cultura de células eficientes e animais de pequeno porte. Além dos seres humanos, o chimpanzé é o único animal naturalmente suscetível à infecção pelo HCV sendo o único modelo animal ideal na investigação sobre a patogênese e a imunidade relacionados com o HCV. Há relatos sobre a utilização da produção de partículas infecciosas recombinantes do HCV em cultura de células, clones de cDNA funcionais, sistema replicon, vírus quiméricos para o estudo do ciclo de vida do HCV e o desenvolvimento de novos antivirais (HSU et al., 2003; BARTOSCH; DUBUISSON; COSSET, 2003; BRASS; MORADPOUR; BLUM, 2006; BILLERBECK et al., 2013; DUBUISSON; COSSET, 2014).

O ciclo viral do HCV engloba a entrada do vírus nos hepatócitos, desnudamento, liberação do genoma viral para o citoplasma, seguido de tradução e replicação do RNA, montagem das partículas virais e sua saída da célula (PEZACKI; SINGARAVELU; LYN, 2010).

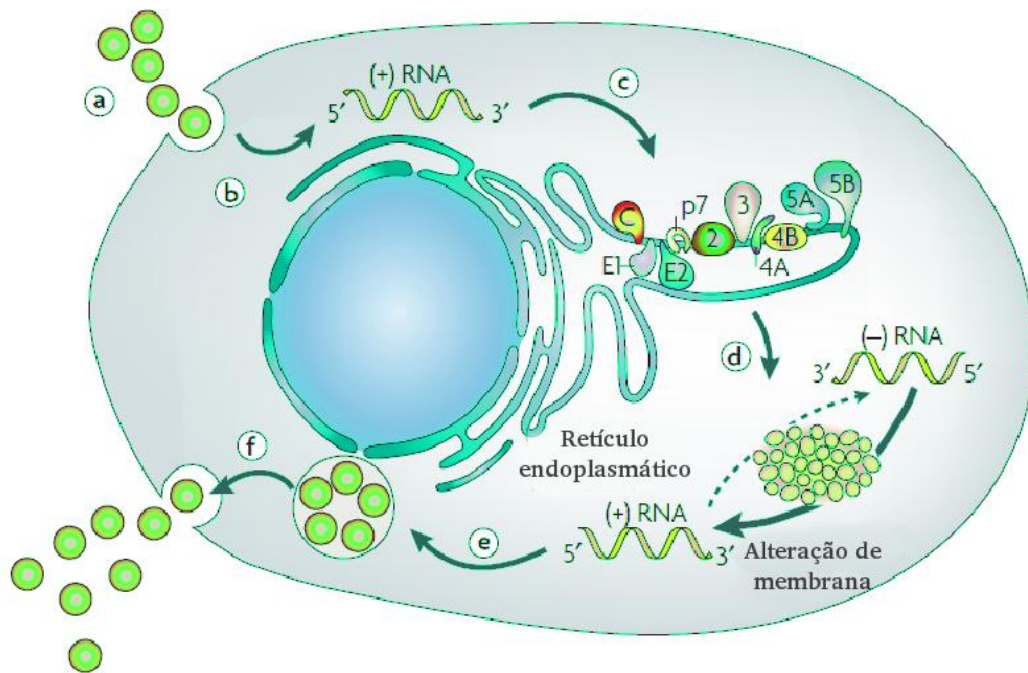
A entrada do HCV nas células-alvo (hepatócitos) depende das proteínas estruturais do vírus e de moléculas de superfície celular do hospedeiro. Certos fatores do hospedeiro já foram descritos como: molécula CD81, receptores de lipoproteínas (LDL), glicosaminoglicanos (GAG), o sulfato de heparina altamente sulfatada (SH), receptores *scavenger* (SR-BI), moléculas *claudin-1* (CLDN1) e *occludin* (OCLN) (PAWLOTSKY; CHEVALIEZ; MCHUTCHISON, 2007; PEZACKI; SINGARAVELU; LYN, 2010).

Tem-se descrito que as glicoproteínas (E1 e E2) juntamente com moléculas de superfície (LDL, GAG, SR-BI) estão envolvidas no processo de entrada do vírus nas células do hospedeiro e que possivelmente a molécula CD81 atue como co-receptor de entrada (PAWLOTSKY; CHEVALIEZ; MCHUTCHISON, 2007).

Em seguida, a partícula viral é internalizada via endocitose mediada por *clathrin*. O genoma viral é liberado pelo processo de fusão dependente de pH no citoplasma, agrega-se ao ribossoma e traduz a poliproteína no citoplasma da célula hospedeira. A poliproteína é translocada para a membrana do retículo endoplasmático (RE). Proteases do hospedeiro e do vírus participam do processo de pós-tradução da poliproteína do HCV em proteínas individuais (GEORGEL et al., 2010; ZEISEL et al., 2011).

A replicação viral ocorre em membranas derivadas de retículo endoplasmático que sofrem alterações induzidas pela proteína não estrutural NS4A. Estes locais incluem a presença de proteínas não estruturais de HCV, membranas associadas as apolipoproteínas (apoE e apoB), e os intermediários de dsRNA (RNA fita dupla). A partícula viral é então formada, passa pelo processo de maturação onde as lipoproteínas são associadas e em seguida a partícula é libertada a partir da célula (PEZACKI; SINGARAVELU; LYN, 2010).

O processo de replicação viral está representado na figura 3.



Fonte: MORADPOUR; PENIN; RICE, 2007 (modificado).

Figura 3 - Ciclo do VHC. a) Internalização e ligação do vírus; b) Liberação no citoplasma e descapsidação; c) Tradução mediada-IRES e processamento da poliproteína; d) Replicação do RNA; e) empacotamento e montagem; f) maturação do *virion* e liberação.

Diversas terapias são apontadas com base no ciclo de replicação viral do HCV e a sua interação com a célula-alvo, como por exemplo, os inibidores de protease virais NS3/4A são utilizados para a terapia de infecções por HCV genótipo 1 (HEIM, 2013b), bem como NS5A

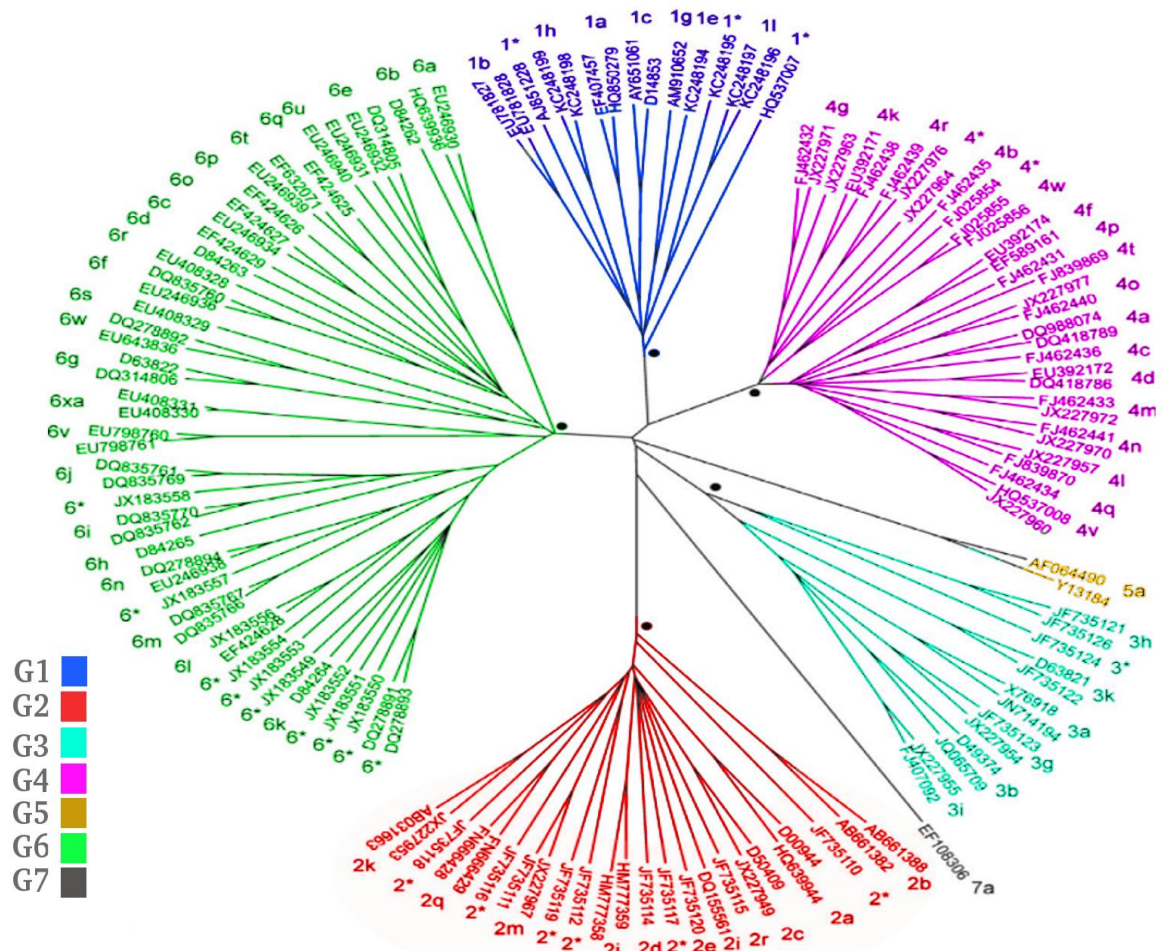
que desempenha um papel significativo na resposta a terapia baseada em IFN- α . (LI; LEMON, 2013).

1.2.2 GENÓTIPOS HCV

O genoma do HCV apresenta alto grau de variabilidade genética. Essa variabilidade está relacionada a enzima RNA-polimerase não possuir atividade corretiva, resultando na geração de variantes virais. As mutações podem ser silenciosas (mudanças somente na sequência de nucleotídeos) ou não, causando alterações na sequência de aminoácidos. O resultado desse processo define uma classificação preconizada em genótipos, subtipos, isolados e *quasispecies* (SMITH et al., 2014).

As *quasispecies* são variações dentro de um mesmo genótipo e subtipo; conjunto de moléculas muito semelhantes que apresentam muitas características gerais em comum, mas por outro lado, heterogêneas, devido a diferenças na sequência nucleotídica, desempenhando importante papel no desenvolvimento da infecção viral, permitindo a seleção de variantes mais resistentes, sob a pressão da resposta imunológica do hospedeiro (OLIVEIRA et al., 2012).

Há relatos de estudos baseados na similaridade entre as sequências dos isolados HCV que evidenciam a existência de sete genótipos e, aproximadamente, 67 subtipos, os quais apresentam diferença na resposta ao tratamento antiviral, bem como uma distribuição geográfica distinta. Os genótipos são definidos por números, exemplo: de 1 à 6, enquanto que os subtipos são representados por letras: a, b, c e assim por diante (CHAYAMA; HAYES, 2011; NEWMAN et al., 2013; SMITH et al., 2014). Como demonstra figura 4 observa-se que o HCV apresenta alta diversidade entre os genótipos e subtipos.



Fonte: SMITH et al., 2014 (modificado).

Figura 4 - Representação da árvore filogenética do HCV demonstrando a distribuição entre os 7 genótipos e seus subtipos.

As informações sobre os genótipos e seus subtipos são importantes pois permite obter informações epidemiológicas e clínicas relacionadas ao tratamento, uma vez que estes podem influenciar na evolução da doença, como também, permite conhecer a distribuição geográfica e rotas de transmissão (HARRIS et al., 2007).

Os genótipos (G) 1, 2 e 3 são amplamente disseminados em todo o mundo. Os subtipos 1a (G1a) e 1b (G1b) são comuns na região dos Estados Unidos e predominantes nos países Europeus. 2a (G2a) e 2b (G2b) são relativamente comuns na América, Europa e Japão, enquanto que o subtipo 2c (G2c) é comumente encontrada no norte da Itália. O G3 é endêmico no sudeste da Ásia, sendo frequentemente detectado na Índia. G4 parece ser prevalente na África e no Oriente Médio. Por outro lado, infecções pelo G5 e G6 são comuns na África do Sul e Ásia, respectivamente. Recentemente foi proposto o G7 de origem africana (África Central) (LOPES et al., 2009; SULBARAN et al., 2010; MURPHY et al., 2015).

Na Venezuela, foi descrito que o genótipo mais comum é o G1 distribuído entre os subtipos G1a e G1b, seguido do genótipo 2 (G2a e G2j) e por último o G3 (SULBARAN et al., 2010; JASPE et al., 2012). Em um estudo realizado na Colômbia com doadores de sangue foi encontrado prevalência dos genótipos G1b (82.8%), G1a (5.7%), G2a (5.7%), G2b (2.8%), e G3a (2.8%) (MORA et al., 2010). No Uruguai o G1a, G1b e G3a são os mais frequentes (CASTELLS et al., 2015). Na Argentina, os genótipos G1 (G1b) e G2 são os de maior ocorrência encontradas em diferentes populações (PICCHIO et al., 2006; GOLEMBA et al., 2010; GAITE et al., 2014).

Os genótipos circulantes no Brasil são G1, G2, G3, G4 e G5. Estudos têm mostrado o genótipo G1a e G1b são os mais prevalente, seguido pelo genótipo G3a, distribuídos nas regiões do Brasil (LOPES et al., 2009; TORRES et al., 2009; LAMPE et al., 2010; BRUGGMANN et al., 2014; VIDALES-BRAZ et al., 2015). Região Norte, estudos têm descritos os genótipos 1, 2 e 3 sendo genótipo 1 o de maior prevalência e os subtipos G1b, G2b e G3a apresentam-se com maior frequência (VIEIRA et al., 2011);

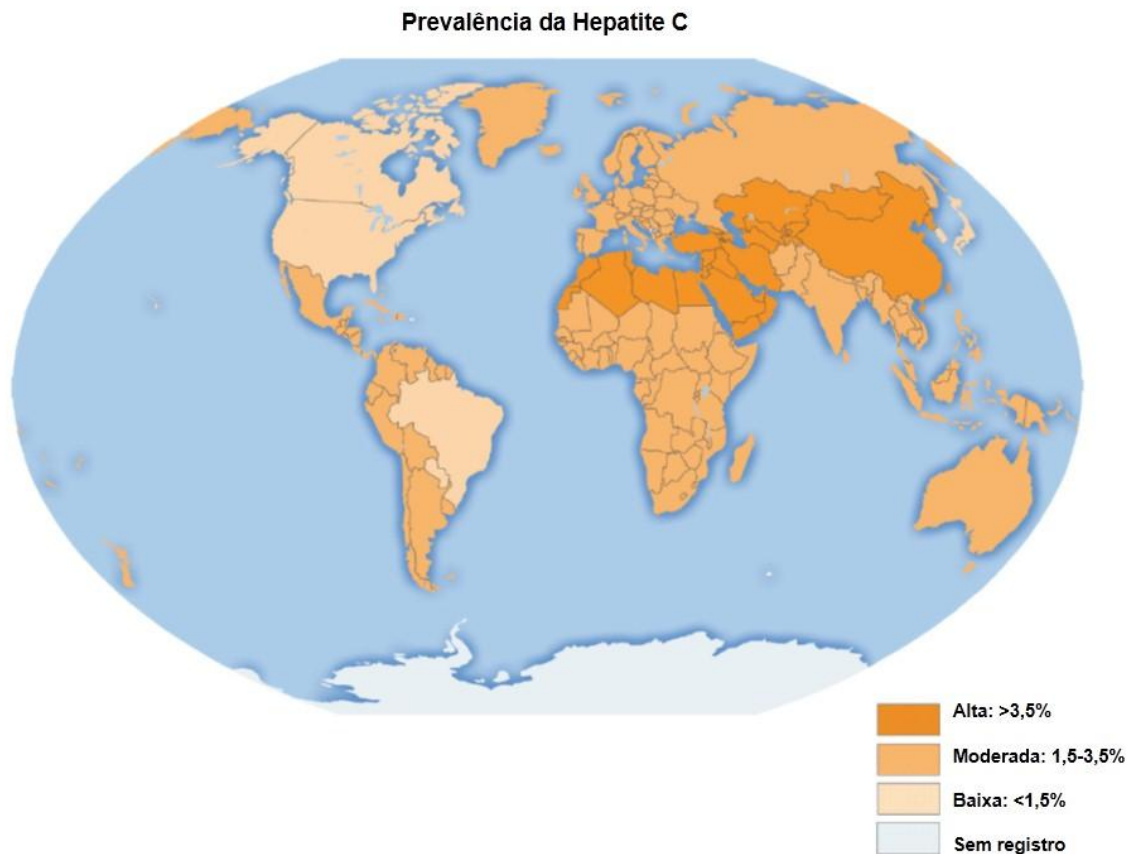
O conhecimento do genótipo viral envolvido em uma infecção apresenta relação com as características clínicas do indivíduo infectado uma vez que diferentes genótipos determinam as formas de evolução da doença (HARRIS et al., 2007).

A diversidade que o HCV apresenta desfavorece o desenvolvimento de vacinas e favorece a persistência viral no organismo do hospedeiro, o mesmo adquire capacidade em escapar à resposta imune do hospedeiro, e pode então estabelecer infecção crônica (SHARMA, 2010; STRAHOTIN; BABICH, 2012).

1.3 EPIDEMIOLOGIA

As estimativas apontam que a prevalência global da infecção pelo HCV varia em torno de 2% a 3%, ou seja, entre 123-170 milhões de pessoas são infectadas pelo HCV em todo mundo e todos os anos morrem mais de 350.000 pessoas de doenças hepáticas relacionadas ao HCV. Aproximadamente 15-45% das pessoas infectadas eliminam o vírus espontaneamente dentro em um prazo de seis meses, sem necessidade de tratamento algum. O restante 55-85% das pessoas, entretanto, desenvolvem a infecção crônica. Destas, 15-30% correm risco de cirrose hepática em um prazo de 20 anos. A hepatite C é a principal causa de fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular, sendo importante indicador de transplante de fígado (WHO, 2014; OPAS, 2014; STASI et al., 2015).

Estimativas globais indicam que a prevalência da infecção pelo HCV é maior ($\geq 2\%$) em vários países da América Latina, Europa Oriental e da antiga União Soviética, e certos países da África, do Oriente Médio e Sul da Ásia; a prevalência é relatada como sendo mais alta (aproximadamente 10%) no Egito (MOHD HANAFIAH et al., 2013; STASI et al., 2015).

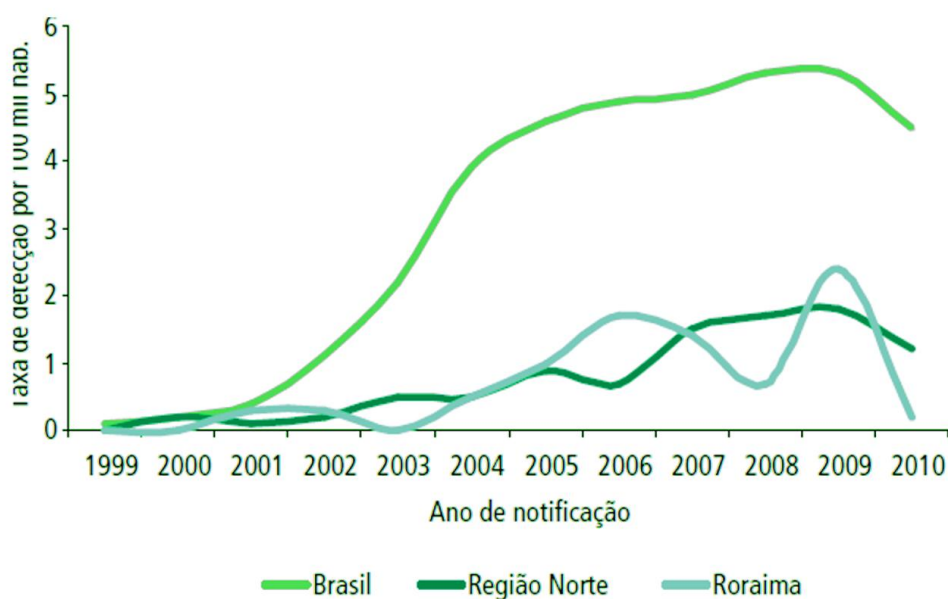


Fonte: MOHD HANAFIAH et al., 2013; CDC, 2013 (modificado).

Figura 5 – Estimativa global da prevalência da Hepatite C.

No Brasil, o Ministério da Saúde (2012) descreveu a prevalência do HCV na população geral de 1,38% (entre 10 a 69 anos) com relação as capitais e DF, maior prevalência na Região Norte (2,1%), seguida pelas Regiões Centro-Oeste e Sudeste (ambas com 1,3%), Sul (1,2%) e Nordeste (0,7%) (MARTINS; NARCISO-SCHIAVON; SCHIAVON, 2011; BRASIL, 2012).

Em Roraima, a Secretaria de Vigilância em Saúde/MS publicou a ocorrência de 35 casos confirmados na série histórica dos anos de 1999 a 2010, sendo 1 nesse último ano. A taxa de detecção no Brasil, em 2009, foi de 5,3 casos por 100 mil habitantes, para a região Norte foi de 1,8 e para Roraima, 2,4 (BRASIL, 2011).



Fonte: Casos de Hepatites virais: SINAN/SVS/MS; população: estimativas populacionais do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) segundo os Censos (1980, 1991 e 2000), contagem da população (1996) e projetos intercensitários (1981 a 2009). Nota: (1) Foram considerados casos confirmados aqueles que apresentaram os testes anti-HCV e HCV-RNA reagentes; (2) casos notificados no SINAN até 31 de dezembro de 2010; (3) dados preliminares para 2010. Execução: Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais.

Figura 6 - Taxa de detecção de hepatite C por 100 mil habitantes, Roraima, região Norte e Brasil, 1999 a 2010.

No Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN, a hepatite C é responsável por 95 notificações realizadas de casos confirmados segundo o ano de diagnóstico/sintomas no período entre 2008 à 2014 no Estado de Roraima.

Tabela 1 - Número de casos confirmados de hepatite C notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net no Estado de Roraima, entre 2008 à 2014.

Ano de Diagnóstico / Sintomas	N
2008	12
2009	27
2010	9
2011	18
2012	4
2013	16
2014	9
Total	95

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN NET, 2015.

1.3.1 EPIDEMIOLOGIA DO HCV EM DOADORES DE SANGUE NO BRASIL

A prevalência do HCV em doadores de sangue em diversos estudos está representada pela ocorrência de casos positivos/inconclusivos do marcador anti-HCV e muitas vezes com a confirmação pelo método RIBA (Recombinant Immunoblot Assay) e/ou detecção de RNA-HCV.

Os estudos do marcador anti-HCV em doadores de sangue muitas vezes depende do comparecimento dos mesmos para realização do teste confirmatório, entretanto cerca de 49 a 58,7% dos doadores anti-HCV positivos não retornam ao serviço hemoterápico para realizar o teste confirmatório e ser acompanhado, sobre os quais nada se sabe em termos de serem ou não infectados (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005, GARCIA et al., 2008).

A localização do Estado de Roraima apresenta característica peculiar por ter regiões de fronteira entre dois países (República Bolivariana da Venezuela e República Cooperativa da Guiana) e com Amazonas e Pará (Estados Brasileiros) sendo comum o trânsito livre de pessoas entre essas regiões. Historicamente Roraima foi considerado foco de migrantes advindos de outros Estados do Norte do Brasil e do Nordeste quando se iniciou a exploração social e econômica e imigrantes em busca das regiões de garimpos, de residência fixa ou de atendimento médico, especificamente no Sistema Único de Saúde (SUS) (FREITAS, 2012). Por apresentar essas características, o quadro a seguir apresenta alguns estudos realizados no Brasil e em alguns países vizinho com doadores de sangue onde o HCV foi investigado.

Quadro 1 - Estudos realizados que relataram a prevalência de anti-HCV/RNA-HCV em doadores de sangue.

Autor –Data	Região	Período do estudo	Nº de doadores investigados	Anti-HCV (prevalência)	Confirmatório	Características do doador	Genótipos
Reiche et al, 2003	PR - Brasil	1994 à 2001	80.284	451 (0,56%)	-	-	-
Valente; Covas; Passos, 2005	SP - Brasil	1996 à 2001	25.891	1,2%	0,3% entre 123 avaliados	Entre 46-60 anos; Homens doadores de 1ª vez	-
Goncalves et al, 2006	GO - Brasil	2002 à 2003	41.033	172 (0,42%)	-	-	-
Silva, 2008	AM - Brasil	2005 à 2007	82.851	306 (0,37%)	0,15% PCR+ e anti-HCV+	Idade entre 31 anos; doadores de 1ª vez.	1 seguido 3
Benitez; Rodriguez-Morales, 2008	Venezuela	2001 à 2002	715.393	3.854 (0,54%)	Western Blot	-	-
Schmunis et al, 2008	Bolívia	1993 2001 2002	12.708 5.588 5.353	5/1000 2,8/1000 8,9/1000 Doações	-	-	-
Garcia et al, 2008/2011	MG - Brasil	1992 à 2005	171.027	561 (0,3%)	34 amostras PCR+	Doadores homens de 1ª vez	-
Lima, 2010	AM - Brasil	08/2008 à 07/2010	43.270	120 (0,28%)	0,18% PCR + entre 46 anti-HCV+	Homens, doadores de 1ª vez e solteiros	1 seguido 3
Oliveira-Filho et al, 2010	PA - Brasil	2004 à 2006	242.726	1.112 (0,4%)	304 (0,13%) RNA HCV detectável entre 1.112 anti-HCV+	Homens com idade entre 30-49 anos	1 seguido do 3
Ramos; Ferraz, 2010	PR - Brasil	2008	5082	11 (2,97%)	-	-	-
Josahkian et al, 2010	MG - Brasil	1995 à 2008	218.871	814 (0,4%)	29 amostras RIBA+ entre 62 anti-HCV+	Homens acima de 30 anos e casados.	-
Barroso; Brito Junior, 2012	PA - Brasil	2005 à 2009	11.451	51 (0,44%)	-	Entre 18-45 anos; doadores homens e de 1ª vez.	-
Costa, 2012	MA - Brasil	2005 à 2010	61.581	24 (0,21%) entre 11.190 doações inaptas	-	Doadores homens e casados	-

Bedoya et al, 2012	Colombia	2007 à 2010	65.535	0,6%	NAT indetectável	Ocorrência maior em homens e de doações voluntárias	
Almeida-Neto et al, 2013	São Paulo / Belo Horizonte / Recife – Brasil	2007	307.354 no total	191 / 100.000 doações	RIBA	Entre 55 anos	-
Flichman et al, 2014	Argentina	2004 à 2011	2.595.852	0,721% em 2004 0,460% em 2011	53 (24,54%) amostras com RNA detectável entre 216 anti-HCV+	Homens acima de 50 anos de idade.	
Bedoya; Márquez; Arias, 2012	Colombia	2007 à 2010	65.535	0,6%	NAT indetectável	Ocorrência maior em homens e de doações voluntárias	

De acordo o Sistema de Gerenciamento Hemovida (dados não publicados) a prevalência de anti-HCV em doadores de sangue no Estado de Roraima entre 2009 e 2013 foi estimada em 0,87%. Até a presente data ainda não há estudos que relacionem testes de triagem com testes confirmatórios para avaliar uma possível prevalência super estimada deste marcador na região de Roraima.

Tabela 2 - Soroprevalência do marcador anti-HCV em doadores de sangue do Estado de Roraima, entre 2009 à 2013.

Ano	Nº total de doações	Nº de casos anti-HCV positivo	%
2009	10182	82	0,81
2010	11024	160	1,45
2011	10698	86	0,80
2012	11982	120	1,00
2013	12424	42	0,34
Total	56310	490	0,87

Fonte: Sistema Hemovida, Hemoraima 2014 (dados não publicados).

1.4 VIAS DE TRANSMISSÃO DO HCV

A principal via de transmissão do HCV é a parenteral, o que confere aos usuários de drogas, risco aumentado de adquirir a infecção causada por esse vírus, devido ao compartilhamento de equipamentos para uso de drogas e à adoção de práticas sexuais desprotegidas. Estima-se que nesse grupo de risco as prevalências da infecção pelo HCV variam entre 5,8-36,2% (LOPES et al., 2009; HAN et al., 2010; MARTINS; NARCISO-SCHIAVON; SCHIAVON, 2011; CEPEDA et al., 2013).

Transmissão vertical é a principal via de infecção pelo HCV na infância. O risco aumenta entre mulheres que apresentam carga viral elevada no momento do parto e exposição ao sangue materno infectado. Terapias com antivirais são contra indicados durante a gravidez, entretanto a realização da triagem do HCV no pré-natal auxilia no emprego de outras intervenções durante o parto ou período perinatal reduzindo o risco de infecção para a criança (COTTRELL et al., 2013).

Nos últimos anos a possibilidade da transmissão intrafamiliar vem sendo reportada com maior intensidade. Estudos demonstram que o compartilhamento de itens de higiene pessoal, como escova de dentes e aparelho de barbear, podem ser relevantes para a transmissão da infecção, assim como o risco da transmissão sexual o qual também não deve ser subestimado

pois há descrição do HCV presente em sêmen de indivíduos infectados podendo ser transmitido pela exposição ano-genital a fluídos infecciosos (CIORLIA; ZANETTA, 2007; CAVALHEIRO et al., 2008; CAVALHEIRO et al., 2009; CAVALHEIRO et al, 2010).

A taxa de transmissão do HCV entre profissionais de saúde, após exposição ocupacional tem sido reportada entre 0-10% e os fatores de maior risco que foram associados variam entre idade dos profissionais, tempo de serviço e transfusão de sangue e carga viral do hospedeiro. A transmissão ocorre por acidentes com objetos perfurocortantes contaminados e exposição das mucosas (olhos, boca, nariz, ou pele lesada) (MARCONI et al., 2010).

A transmissão do HCV em unidades de hemodiálise, especificamente no Brasil varia em torno de 9,1% à 52% utilizando anti-HCV como referência. Em um estudo realizado em Minas Gerais, foi observado prevalência de 14,8% do anti-HCV naqueles que necessitam de hemodiálise, destes 10,6% foram considerados portadores crônicos após pesquisa qualitativa do RNA-HCV (LEÃO; PACE; CHEBELI, 2010) e na cidade de Manaus foi encontrada soroprevalência de 13,9% em pacientes em hemodiálise (MAIA et al., 2009).

Pacientes alcoolistas foram investigados e apresentaram prevalência de 15% para anti-HCV e no confirmatório a prevalência caiu para 10,5%, sendo que o uso de drogas injetáveis foi um dos fatores de risco para a infecção pelo HCV (GALPERIM et al., 2006).

O vírus da hepatite C transmitido por transfusão pode ser encontrado principalmente no sangue total, concentrado de hemácias, plaquetas, plasma e nos concentrados de fatores de coagulação (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; OLIVEIRA et al., 2012).

O panorama mundial a respeito das infecções transmissíveis pelo sangue, somado a crescente necessidade de hemocomponentes, limita ao máximo a possibilidade de transmissão via transfusional, ainda que algumas infecções possam apresentar-se em pessoas aparentemente saudáveis e assintomáticas. Em virtude disto, diversos órgãos de saúde tem implementado medidas destinadas a fornecer produtos sanguíneos com qualidade e segurança (BEDOYA; MÁRQUEZ; ARIAS, 2012)

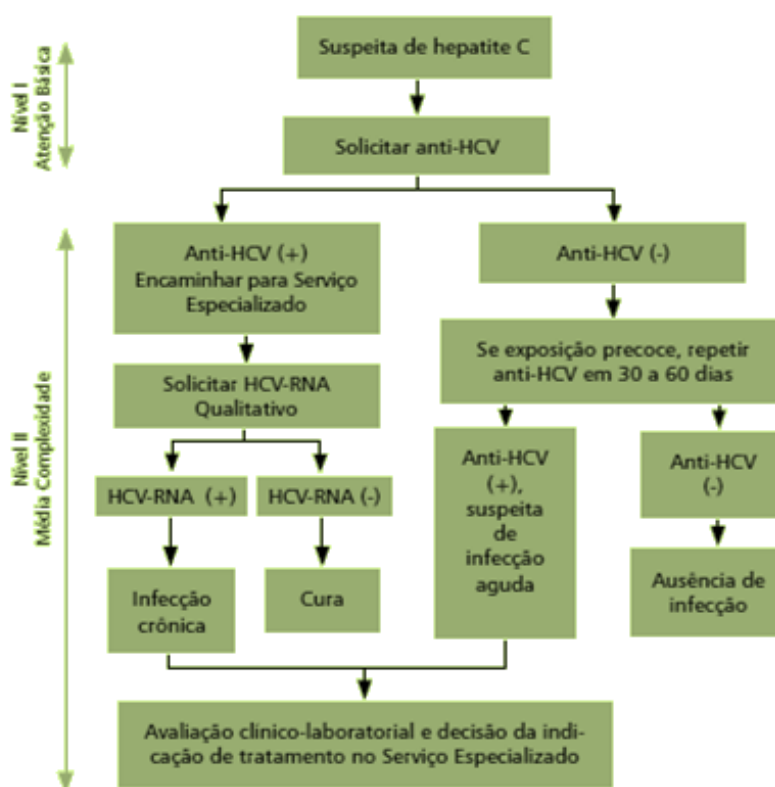
No Brasil, foi observado em 2010 que a maior proporção da infecção pelo HCV está relacionado ao uso de drogas (27,4%), seguido de transfusão (26,9%), contato sexual (18,5%), acidente de trabalho (1,2%), contato domiciliar (1,1%), hemodiálise (0,9%), transmissão vertical (0,3%), entre outros (23,7%) (BRASIL, 2012).

1.5 TESTES DE DETECÇÃO PARA HEPATITE C

A presença da infecção pelo HCV pode ser determinada por meio de testes sorológicos pela detecção do anticorpo contra o HCV ou detecção combinada do antígeno e anticorpo e técnicas de biologia molecular que detectam o RNA do HCV.

Dependendo da carga viral, o HCV circula no sangue em baixa concentração. A detecção de anticorpos contra antígenos específicos do HCV é a maneira mais frequentemente empregada para identificar a infecção, presente ou passada. Para isso, são utilizados testes de rastreamento, que apresentam alta sensibilidade, e testes suplementares, também denominados confirmatórios, com maior especificidade (BRANDÃO et al., 2001; BRASIL, 2008).

Para confirmação do diagnóstico, o Ministério da Saúde preconiza resultado anti-HCV positivo e RNA-HCV positivo (Figura 7). Os testes de função hepática, especialmente os níveis séricos da ALT/TGP e AST/TGO, apesar de serem indicadores sensíveis do dano do parênquima hepático, não são específicos para hepatites. Na prática, os testes de biologia molecular são utilizados para: diagnóstico inicial; avaliação da resposta ao tratamento, diagnóstico de acidente ocupacional, de transmissão vertical do vírus C em imunossuprimidos (BRASIL, 2008).



Fonte: Hepatites Virais: o Brasil está Atento. Ministério da Saúde, 2008.

Figura 7 - Fluxograma laboratorial do diagnóstico da hepatite C.

Em 1989 foi desenvolvido o primeiro teste de detecção de anti-HCV denominado de ELISA (ensaio por imunoabsorvência ligado à enzima) (KUO et al., 1989). Teste de baixo custo, podendo ser parcialmente ou totalmente automatizado além de ser amplamente distribuído. Foi muito utilizado como teste de triagem em doadores de sangue e como prova inicial para o diagnóstico da infecção pelo HCV em pessoas com fatores de risco ou manifestações clínicas da doença hepática (CONTRERAS et al., 2011).

Atualmente já foram desenvolvidos testes ELISA para detecção do anti-HCV de 1ª, 2ª, 3ª e 4ª geração. O ELISA 1ª geração (não mais utilizados na prática clínica) tinha como alvo somente um antígeno, o polipeptídeo c100-3 com sensibilidade de 80% para aqueles que estavam verdadeiramente infectados, entretanto apresentava cerca de 50 a 70% de falso-positivo em indivíduos que não eram portadores da infecção, refletindo na triagem de doadores de sangue (BRANDÃO et al., 2001).

O teste ELISA 2ª geração surgiu em 1992 onde foram incorporadas duas proteínas recombinantes do HCV: c22-3 (região estrutural ou core) e c33-c (região não estrutural NS3). Houve uma fusão da proteína c33-c com o antígeno c100-3 para formar a proteína c200 (ALTER, 1992). Em grupos de baixo risco como em doadores de sangue, as vantagens foram o aumento da sensibilidade e especificidade reduzindo a taxa de falso-positivos para 40-50%; em grupos de alto risco de infecção ou com história de exposição ao HCV foi possível identificar 95% dos pacientes infectados; sendo que a houve uma redução da janela imunológica de 16 semanas para 10 semanas (GRETH, 1997).

O teste ELISA de 3ª geração aprovado em 1996, foi considerado ideal para a triagem em doadores de sangue quando comparado aos testes ELISA anteriores. Ao ensaio foi incluído antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos para captura de anticorpos e adicionado o antígeno da região NS5. A principal vantagem foi a diminuição da janela imunológica para 7 a 8 semanas como também o aumento da sensibilidade para triagem em doadores de sangue, bem como para hepatopatas infectados pelo HCV (GRETH, 1997). Sendo que estas vantagens deveram-se a nova configuração dos antígenos já presentes no ELISA 2ª geração e não à presença do antígeno NS5 (BARRERA et al., 1995).

ELISA 4ª geração foi desenvolvido para detecção simultânea do anti-HCV e o antígeno do Core (LAPERCHE et al., 2005). Apresenta como principal vantagem sua realização mais simples, com diminuição de custos e a possibilidade de substituir a complexa determinação do RNA-HCV em bancos de sangue. Estudos mostraram uma detecção precoce do antígeno na hepatite C aguda, como um marcador direto de replicação viral na fase crônica da infecção, e também uma correlação significativa entre seus níveis e aqueles do RNA-HCV nas hepatites

crônicas e durante o seu tratamento (BUTI et al., 2003; ROSS et al., 2010; POZZOBON; BECK; CECCIM, 2011).

Em bancos de sangue, o teste ELISA de 4ª geração apresentou um bom desempenho quando comparado com ELISA 3ª geração, pois além da concordância com o de 3ª geração para os resultados reagentes e não-reagentes, reduziu o número de indeterminados, sugerindo uma maior especificidade. O que diminui a necessidade de repetição dos testes e o descarte desnecessário de bolsas de sangue, apresentando uma ótima relação custo-benefício (POZZOBON; BECK; CECCIM, 2011). Além disso, o ensaio apresentou sensibilidades próximo ao de NAT, com diferenças médias de detecção de 1 a 2 dias no período de janela imunológica (COUROUCÉ et al., 2000; CHAKRAVARTI et al., 2013)

Os testes ELISA possuem algumas dificuldades para detectar todas as pessoas infectadas com HCV, visto que há diversos fabricantes para produzir os antígenos que refletem nos resultados que podem variar principalmente em grupos de baixo risco. Levando em consideração que além do teste ELISA que detectam o anti-HCV, existe os testes de quimioluminescência (CMIA) e Imunoensaio Enzimático por Micropartículas (MEIA), que utilizam os mesmos antígenos utilizados na metodologia de ELISA e que usualmente empregados em bancos de sangue (KESLI et al., 2009; PEREIRA; BERTOLLO; ZARIFE, 2010).

Entre as desvantagens para a detecção de anti-HCV, resultados falso-positivos são mais prováveis em populações cuja prevalência de hepatite C é baixa como nos doadores de sangue, ou ainda em reações cruzadas com outros antígenos virais ou desordens imunológicas. Resultados falso-negativos são observados em pacientes imunossuprimidos ou imunocomprometidos podem não ser capazes de montar uma resposta imunológica sorologicamente detectável. Outra limitação deste teste é um número significativo de resultados dados como indeterminados, em alguns grupos avaliados chegando a 13% utilizando teste ELISA 3ª geração (POZZOBON; BECK; CECCIM, 2011).

Devido a baixa especificidade dos testes ELISA, foi necessário o desenvolvimento de testes suplementares para confirmação diagnóstica daqueles indivíduos que apresentavam resultados positivos nos testes ELISA. Entretanto, foi verificado que um resultado positivo mesmo em um teste suplementar, nem sempre era indicativo de infecção, pois havia pacientes que se recuperaram da infecção permanecendo com anti-HCV positivo durante anos (LOK; GUNARATNAM, 1997; BRANDÃO et al., 2001; SOUTO et al., 2002).

O teste suplementar que foi bastante utilizado em bancos de sangue foi o Ensaio Immunoblot Recombinante (RIBA) que atualmente não é mais utilizado devido a presença de

resultados indeterminados. Posteriormente, foram realizados estudos comparando os resultados dos testes RIBA com a técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase) onde foi verificado que pacientes imunossuprimidos com infecção pelo HCV tinham maior probabilidade de apresentarem resultados indeterminados nos testes RIBA, sendo que em doadores de sangue apenas cerca de 50% daqueles com RIBA positivo, tiveram confirmação diagnóstica da infecção (DAMEN et al., 1995; PAWLOTSKY et al., 1996).

Devido às limitações dos testes sorológicos, as técnicas de biologia molecular para a detecção direta do RNA viral, embora menos acessíveis, mais complexas e onerosas, tornaram-se uma ferramenta essencial no diagnóstico da infecção pelo HCV. Suas vantagens incluem a possibilidade do diagnóstico precoce na infecção viral aguda, diagnóstico da infecção em pacientes incapazes de montar uma resposta sorológica e confirmação da infecção ativa em situações que apresentaram resultado indeterminado (POZZOBON; BECK; CECCIM, 2011).

Os testes moleculares podem ser divididos em testes de detecção qualitativa e quantitativa do RNA viral. Os testes de detecção qualitativa informam a presença ou não do RNA viral (resultados detectável e não detectável), por exemplo, RT-PCR (reação em cadeia da polimerase com a enzima de transcriptase reversa) que catalisa a síntese do DNA complementar (cDNA) a partir da região 5'NCR do RNA viral, PCR em tempo real, e a Amplificação mediada pela transcriptase reversa (TMA) (BRANDÃO et al., 2001).

Em bancos de sangue foi preconizado o uso da metodologia NAT (teste de detecção de ácidos nucleicos), detecção qualitativa do HCV. No Brasil, a partir da portaria nº 262/2002 do Ministério da Saúde, o teste NAT passou a ser recomendado para todos os doadores de sangue. Desde então vem sendo desenvolvido por Bio-Manguinhos/Fiocruz a plataforma NAT, com kit fabricado no próprio país, para detecção do RNA viral dos vírus HIV e HCV (BRASIL, 2007).

O teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAT) é uma tecnologia desenvolvida para a detecção do RNA e DNA de agentes infecciosos virais, tais como o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da hepatite C (HCV), em doadores de sangue destinado à transfusão. O teste NAT utiliza a técnica de biologia molecular chamada PCR (Polimerase Chain Reaction - Reação em Cadeia da Polimerase) para amplificar e detectar o RNA (ácido ribonucleico) viral presente no plasma do indivíduo infectado, sendo assim mais sensível que o teste sorológico, visto que pequenos níveis de RNA viral podem ser detectados logo no início da infecção. Essa técnica apresenta redução da janela imunológica de detecção para 10-12 e 10 dias para HIV e HCV, respectivamente (DOGBE; ARTHUR, 2015).

Atualmente existe a obrigatoriedade para realização de duas metodologias sorológicas de testes para o vírus HIV e para o vírus HCV (Portaria nº 2712/2013; ANVISA, RDC nº 34

/2014), um para detecção do anticorpo e/ou antígeno e outro para detecção da partícula viral denominado detecção de ácidos nucleicos (NAT).

1.5.1 GENOTIPAGEM DO HCV

A genotipagem do HCV é útil para estudos epidemiológicos e para o direcionamento da terapia antiviral, pois fornece informações sobre a probabilidade de resposta como determina a duração da terapia e dosagens de antivirais (BRASIL, 2008).

O genótipo de HCV pode ser determinado por detecção de anticorpos contra epítomos específicos do genótipo do HCV (método sorológico), utilizando ELISA competitivo. Um dos ensaios atualmente disponível (*Murex HCV serotipagem 1-6 HC02, Abbott Laboratories*) pode identificar os seis genótipos de HCV (1-6) mas não subtipos, proporciona resultados interpretáveis em cerca de 90% em pacientes cronicamente infectados (PAWLOTSKY et al., 1997; LI; LO, 2015).

O método molecular para genotipagem do HCV é o sequenciamento direto das regiões do genoma NS5B ou E1 e posterior análise filogenética, entretanto esse método restringe-se a centros de referências e pesquisa e são úteis na discriminação dos subtipos dos genótipos HCV (MURPHY et al., 2007; LI; LO, 2015).

Os métodos comerciais produzidos para de identificação dos genótipos são *Linear Array HCV Genotyping Test* (Roche Molecular Systems) e tem como alvo a região 5'NCR. Ensaio que visam outras regiões para além da 5'NCR foram recentemente desenvolvidos para melhor discriminação entre os subtipos 1a e 1b. O ensaio Versant HCV genotype 2.0 assay (Siemens) é baseado na hibridização reversa e tem como alvo regiões 5'NCR e Core para discriminação entre os genótipos de 1 a 6 (MURPHY et al., 2007; VERBEEK et al., 2008). Já o ensaio Abbott Real Time HCV Genotype II (Abbott Molecular) tem como alvo as regiões 5'NCR e NS5B do genoma, baseado na técnica RT-PCR em tempo real utilizando sondas marcadas específicas dos genótipos/subtipos que minimiza a contaminação com produtos amplificados (CHEVALIEZ et al., 2009; SHINOL; GALE; KAN, 2012).

1.6 RISCO TRANSFUSIONAL

A transfusão sanguínea é um método terapêutico universalmente aceito e comprovadamente eficaz, principalmente se bem indicada, entretanto, pode levar a reações adversas (reações transfusionais). A reação transfusional pode ser definida como um efeito ou resposta indesejável observado em uma pessoa, associado temporalmente com a administração de sangue ou hemocomponente. Entre os diversos tipos de reações transfusionais (reação alérgica, reação febril não hemolítica, lesão pulmonar aguda, entre outras), a transmissão de doença infecciosa pela transfusão é caracterizada pela reação adversa tardia de maior risco para o receptor de sangue (BRASIL, 2015).

Com a caracterização do vírus da hepatite C e com o desenvolvimento do teste sorológico específico para a pesquisa do anti-HCV foi possível a detecção nos bancos de sangue, os doadores possivelmente transmissores da Hepatite C (KUO et al., 1989; ALTER et al., 1989; GONÇALES JÚNIOR et al., 1993). Certamente houve impacto positivo na prevenção da transmissão do HCV aos receptores de sangue.

Mesmo com a implantação do teste de detecção do anti-HCV em bancos de sangue ainda pode-se identificar o HCV transmissível pela transfusão pela não detecção do anticorpo durante a triagem sorológica, evidenciando que mesmo com a triagem clínica e o teste de detecção do anticorpo somados a testes suplementares facultados aos serviços de hemoterapia, não eram suficientes para excluir a possibilidade de transmissão do HCV.

A triagem clínica e os questionamentos durante a pré-doação mostrou ser pouco eficiente para o HCV porque cerca de 50% dos doadores anti-HCV positivos não apresentam qualquer um dos fatores de risco clássicos como: uso de droga endovenosa e histórico de transfusão. Portanto, não exclui a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos. Entretanto, apesar do rigor da mesma, observa-se em doadores com sorologia reagente a possibilidade de serem acometidos por doença crônica e assintomática, dificultando a sua exclusão na fase de triagem clínica, além disso vale ressaltar a possibilidade da omissão de informações consideradas íntimas, como múltiplos parceiros (CAZARRONE; BRITO; GOMES, 2004; HAMERSCHLAK; SARAIVA, 2014).

Em 2013 a portaria nº 2712 de 12 de novembro de 2013, determinou a realização do teste de detecção de ácidos nucleicos (NAT) para HIV e HCV no Brasil (BRASIL, 2013). A decisão de implementar técnica NAT em bancos de sangue foi baseada na sua capacidade de identificar doadores infectados pelo HIV e HCV no início do período de janela imunológica, antes da soroconversão, e a experiência dos fabricantes de derivados do plasma mostrando a praticidade da abordagem para o processamento em pool de amostras (STRAMER et al., 2004).

O conjunto de testes preconizados pela legislação, torna o sangue altamente seguro, mas ainda assim, observa-se um pequeno número de casos detectáveis que decorrem, em sua

maioria, de doações realizadas no período de janela imunológica (HARMESCHLAK; SARAIVA, 2014). O NAT tornou-se uma importante ferramenta na pesquisa pelo HCV, por detectar a presença do vírus circulante e não a resposta do anticorpo para o vírus. É um teste de alta sensibilidade e totalmente independente por confirmar infecções em sorologia de casos indeterminados. A necessidade de incorporação do NAT nos bancos de sangue é devida a sua habilidade de reduzir o período de janela imunológica entre a infecção e a descoberta (STRAMER et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2012).

Apesar da técnica indicar aumento de segurança no uso de derivados de sangue, há registro de transmissão do HCV através da transfusão de concentrado de plaquetas feito a partir de sangue com teste de amplificação negativo (OLIVEIRA et al., 2012).

A evolução de testes de triagem em bancos de sangue, somado ao rigor da triagem clínica e epidemiológica levaram a redução significativa do risco transfusional, pela transmissão de agentes infecciosos, tão baixo que costuma ser denominado de risco residual, calculado por métodos matemáticos (LOPES; PROIETT, 2008; HAMERSCHLAK; SARAIVA, 2014).

No Brasil, a prevalência estimada de doadores NAT HCV positivos é de 0,2% e o risco transfusional sem NAT foi estimado em 1:200.000 (DE ALMEIDA-NETO et al., 2013). Estima-se que no Brasil a incidência de hepatite C pós-transfusional seja de 0,002% e que o risco residual seja de 3,7 para cada milhão de transfusões, quando se utilizam testes de anti-HCV na triagem sorológica de doadores de sangue (HAMERSCHLAK; SARAIVA, 2014).

Incidência do HCV foi de 3,11 por 100.000 pessoas-ano, e o risco residual de infecções por HCV durante fase de janela imunológica foi estimado em 5,0 por milhão de unidades transfundidas (DE ALMEIDA-NETO et al., 2013)

Um estudo realizado em Santa Catarina no entre 2007 e 2013, verificou que soroprevalência do HCV aumentou 1,22-1,35 por 1.000 doadores, a incidência caiu 0,12-0,06 por 1.000 doadores/ano, e o risco residual diminuiu mais de 3 vezes após a implementação NAT resultando na eficiência da técnica em diminuir o risco de transmissão deste vírus (KUPEK; PETRY, 2014).

Nos Estados Unidos, após a introdução do teste NAT na triagem de doadores de sangue, o risco residual do HCV passou a ser de 0,87% por milhão de transfusões (ZOU et al., 2010). A transmissão do HCV pela via transfusional antes da implantação do NAT, foi estimado em 1:103.000 unidades e, na prática estima-se 1:250.000 (STRAMER et al., 2004).

A adoção de critérios rigorosos na seleção de doadores, a elevada sensibilidade da triagem sorológica e os processos de inativação viral utilizados na produção de hemoderivados levaram à redução do número de casos novos de HCV (GAZE et al., 2006).

1.7 HISTÓRIA NATURAL

A determinação da história natural da hepatite C é de difícil avaliação devido à escassez de estudo prospectivos, frequente imprecisão dos dados sobre a época da contaminação, curso longo e assintomático da doença (OLIVEIRA et al., 2012).

Após a exposição do indivíduo ao HCV, a viremia pode ser observada pela primeira vez entre 1-2 semanas após a transmissão. A resposta imune adaptativa para a infecção é ativada só mais tarde, e as elevações dos níveis séricos de alanina transaminase podem ou não serem observados entre 2-8 semanas após o início da infecção, normalmente acompanhada por uma redução na carga viral. Depuração viral ocorre em aproximadamente 30% dos indivíduos infectados. Nos restantes 70% da população infectada, o sistema imune não consegue eliminar o vírus e uma infecção crônica persistente é estabelecida. Na fase crônica, a eliminação espontânea do HCV é um evento raro. A infecção crônica pelo HCV, quando não tratada e persistente, no decorrer do tempo pode levar a patologia do fígado, incluindo a fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (FREEMAN et al., 2001).

Estima-se que ao longo de 20-40 anos de 20-30% dos pacientes com hepatite C crônica evoluem para cirrose hepática. Entre os pacientes com cirrose e hepatite C ativa de 2-5% por ano desenvolvem carcinoma hepatocelular. O estágio final da cirrose hepática associada à infecção crônica de HCV é a principal causa de transplante de fígado nos países desenvolvidos (MAKOWSKA; HEIM, 2012).

1.8 RESPOSTA IMUNE CONTRA O HCV

1.8.1 RESPOSTA IMUNE INATA

A resposta imune inata é a primeira linha de defesa contra partículas virais do HCV e reconhece o HCV como partícula não própria do sistema imune para induzir defesas antivirais locais na célula hepática e no tecido infectado, recrutando e modulando as ações celulares do sistema imunológico à resposta imunitária adaptativa. A imunidade inata é portanto essencial para o controle da evolução da infecção pelo HCV (TERILLI; COX, 2013).

Contudo, a maioria dos indivíduos infectados não conseguem desenvolver uma resposta inata eficiente que elimine a infecção evoluindo para a uma infecção crônica pelos diversos mecanismos de escape que regulam a imunidade inata (HORNER; GALE JR, 2013).

Os componentes celulares da imunidade inata, incluindo células residentes e células infiltradas (tais como os hepatócitos, células de Kupffer, células dendríticas plasmacitóide (PDCs), células natural killer (NK) e as outras células do sistema imunológico), contribuem para a capacidade de resolução da infecção pelo HCV, entretanto, cerca de 70-80% dos casos de infecção aguda evoluem para cronicidade (SEEFF, 2009; REHERMANN, 2013).

Os receptores citosólicos RIG-I (gene indutível por ácido retinóico I) e o MDA5 (gene de melanoma associado à diferenciação 5) são receptores que detectam vírus de RNA. A interação RIG-I promove ativação de moléculas efetoras como o fator de resposta ao interferon 3 (IFR3) e do fator nuclear kB (NF-kB) e uma variedade de citocinas pró inflamatórias (LOO; GALE, 2011).

Receptores Toll-like (TLRs) medeiam detecção do vírus dentro de compartimentos endossomais para sinalizar defesas inatas. Os hepatócitos podem expressar diversos receptores TLRs (TRL1 à TLR10) (SATO et al., 2007; HOWELL et al., 2013). O quadro abaixo (Quadro 2) relaciona resumidamente cada TRL, sua estimulação e efeitos:

Quadro 2 - Relação dos TLRs durante a infecção pelo HCV.

TLR	Ativação	Tipos celulares envolvidos	Efeitos / Produção
TLR2	Core e proteínas não estruturais (NS3)	Células sanguíneas mononucleares	Produção de TNF- α , IL-6, IL-8
TLR3	Core e proteínas não estruturais (NS3); genoma RNA	Monócitos - durante infecção crônica	Regulam a replicação do HCV no fígado; produção de IFN- β .
TLR4	Proteína NS5A	Células B e hepatócitos	Produção de TNF- α , IL-6, IFN- β .
TLR7 / 8 / 9	Genoma RNA	Células dendríticas plasmacitóides, Células NK, hepatócitos, monócitos.	Ativação de IFR7 e NF-kB; produção de IFN- α .

Fonte: HOWELL et al., 2013 (adaptado).

A ativação desses receptores dirige as respostas antivirais e pró-inflamatórias inatas que limitam a replicação do vírus, como também servem para recrutar células imunitárias adaptativas e melhorar as suas ações efetoras no sítio da infecção (HORNER; GALE, 2013).

Mesmo tendo a capacidade de ativar receptores TLRs desempenhando importante papel na resposta imune, o HCV criou diversos mecanismos de escape à ativação dessas vias prejudicando a sinalização dos TLRs (SATO et al., 2007).

O sistema complemento tem papel importante durante a infecção pelo HCV. A via das lectinas é desencadeada por uma proteína plasmática chamada lectina ligante de manose (MBL). Após a ligação da MBL ao microrganismo há ativação de MASP-1 (serina protease associada à lectina ligante de manana) e MASP-2 para iniciação das etapas posteriores da cascata. Na via das lectinas, foi observado que a proteína MASP-1 ativada no sangue periférico pode ser responsável pela gravidade da fibrose nos hepatócitos sugerindo papel pro-inflamatório durante a infecção, entretanto isso ainda não foi observado em outras patologias (SAEED et al., 2013).

A ativação de células natural killer (NK) induz a produção de IFN- γ e sua atividade citotóxica elimina hepatócitos infectados. Tem-se descrito que a capacidade de morte de células NK pode ser controlada por fatores genéticos do hospedeiro, como o tipo de alelo dos receptores KIR (KIR2DL3) e HLA, dessa forma conseguem resolver a infecção espontaneamente ou atingir tratamento eficaz (ZEROMSKI et al., 2011).

Com relação aos IFN, estes são citocinas determinantes para induzir estado antiviral das células e ativação de outros componentes celulares (RAUCH et al., 2010). Na resposta imune inata contra o HCV os fatores genéticos, tais como os polimorfismos de interferon (IFN3, também conhecido como IL28B), podem influenciar tanto na evolução da infecção quanto na resposta à terapia anti-viral (HEIM, 2013a).

Moléculas pró-inflamatórias importantes incluem TNF- α , galectina-9, um regulador de vias inflamatórias presente no fígado, e interleucina-18 (IL-18), que é produzida principalmente por macrófagos e pode ser a primeira a ser observado durante a resposta imune contra o vírus (CHATTERGOON et al., 2011).

1.8.2 RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA

O aparecimento da resposta imune adaptativa durante infecção pelo HCV se dá pelo desenvolvimento das células T e estímulos dos linfócitos B, com a produção de anticorpos. Os anticorpos produzidos contra epítopos das proteínas estruturais e não estruturais do HCV não possuem atividade antiviral para bloquear a infecção, eles apenas as neutralizam, assim somente

uma pequena fração deles consegue inibir a entrada do vírus na célula (THIMME ROBERT et al., 2008).

Durante a infecção crônica, os anticorpos neutralizantes específicos de HCV podem ser detectados na maior parte dos pacientes. Entretanto, a evolução de *quasispécies* virais podem levar ao escape dos anticorpos neutralizantes, as interações das glicoproteínas do HCV com a lipoproteína de alta densidade (HDL) e o receptor scavenger (SR-B1) podem facilitar a entrada viral e proteger contra anticorpos neutralizantes (VON HAHN et al., 2007).

Não se conhece totalmente sobre o desenvolvimento de células B no percurso da infecção. Entretanto, recentemente, a função e o desenvolvimento de células B alterados têm sido implicados em perturbações extra hepáticas associadas com o HCV na tentativa de restabelecer a homeostasia. O distúrbio mais comum é crioglobulinemia (CM) (HOLZ et al., 2012).

Na infecção pelo HCV, a resposta das células T CD8⁺ e TCD4⁺ aparecem tardiamente (após 5-12 semanas), sugerindo um mecanismo do organismo para não promover a destruição do tecido hepático. No entanto, após a ativação destas células, elas se apresentam de forma eficaz durante a infecção (TERILLI; COX, 2013).

A detecção de células TCD4⁺ funcionais específicas para o HCV durante a infecção aguda pode estar associada ao *clearence* viral sugerindo manutenção do controle viral. Com relação ao desenvolvimento de resposta de células TCD8⁺ há evidências de que há uma relação entre a detecção de células TCD8⁺ e a depuração viral, sugerindo controle da viremia, sendo que o repertório de células TCD8⁺ é desenvolvido no início da infecção aguda e requer atividade simultânea de células TCD4⁺ para manter a resposta (NEUMANN-HAEFELIN; THIMME, 2011). Todavia, existem estudos que relatam fortes associações que ligam alelos HLA de proteção (Classe I B27, B57, A3 e Classe II DQB1*0301) com eliminação espontânea da infecção (DAZERT et al., 2009; KUNIHOLM et al., 2010).

Por conseguinte, a resposta inflamatória é acompanhada por deposição limitada de matriz extracelular no parênquima do fígado, a capacidade de regeneração das células do parênquima é prejudicada e os hepatócitos mortos são substituídos por uma acumulação abundante da matriz extracelular, segregada principalmente pelas células estreladas hepáticas ativadas. Seguindo a progressão da doença, as fibras de colágeno vão progressivamente evoluir para fibrose em ponte, levando finalmente à cirrose. A cirrose está definida histologicamente como processo caracterizado por fibrose e a conversão da arquitetura normal do fígado em estruturalmente anormal (BATALLER et al., 2004; BERARDIS et al., 2015).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Traçar o perfil epidemiológico e as características moleculares da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em candidatos à doação de sangue do Hemocentro de Roraima.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Descrever o perfil epidemiológico dos candidatos a doação de sangue que apresentaram resultado reativo ou indeterminado para o teste de triagem sorológica para o vírus da Hepatite C (anti-HCV) no Hemocentro de Roraima (HEMORAIMA);
2. Descrever possíveis fatores de risco na população estudada;
3. Relatar as diferentes metodologias empregadas e o período da realização da triagem da doação de sangue;
4. Relacionar os resultados dos testes de triagem para o HCV, na 2ª amostra, detecção e quantificação de RNA do HCV;
5. Caracterizar o genótipo viral dos candidatos a doadores de sangue que apresentarem o RNA do HCV nos testes de ácidos nucleicos.

3 METODOLOGIA

3.1 MODELO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional descritivo e transversal.

3.2 CARACTERÍSTICA DA ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi conduzido no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Roraima – HEMORAIMA. O Hemoraima é referência no Estado e o único centro de doação de sangue, processamento e distribuição responsável pelo abastecimento de hemocomponentes das unidades de pronto atendimento, hospitais públicos e particulares e outras unidades de saúde que necessitam de hemocomponentes.

O Estado de Roraima (Figura 8 e 9) abrange uma área de 224.301,040 km², possuindo 450.479 mil habitantes e apresenta 15 municípios (Alto Alegre, Amajari, Bonfim, Cantá, Boa Vista, Caracaraí, Caroebe, Iracema, Mucajaí, Normandia, Pacaraima, Rorainópolis, São João da Baliza, São Luiz, Uiramutã). Este estado faz divisa com os países da República Cooperativa da Guiana, também conhecida como Guiana Inglesa e República Bolivariana da Venezuela e com os Estados do Brasil, o Amazonas e o Pará. Tem como capital Boa Vista onde está localizado o Hemocentro. Boa Vista representa 63,1% da população total do Estado de Roraima (IBGE, 2010).



Fonte: CGPTERR / SEPLAN, 2014.

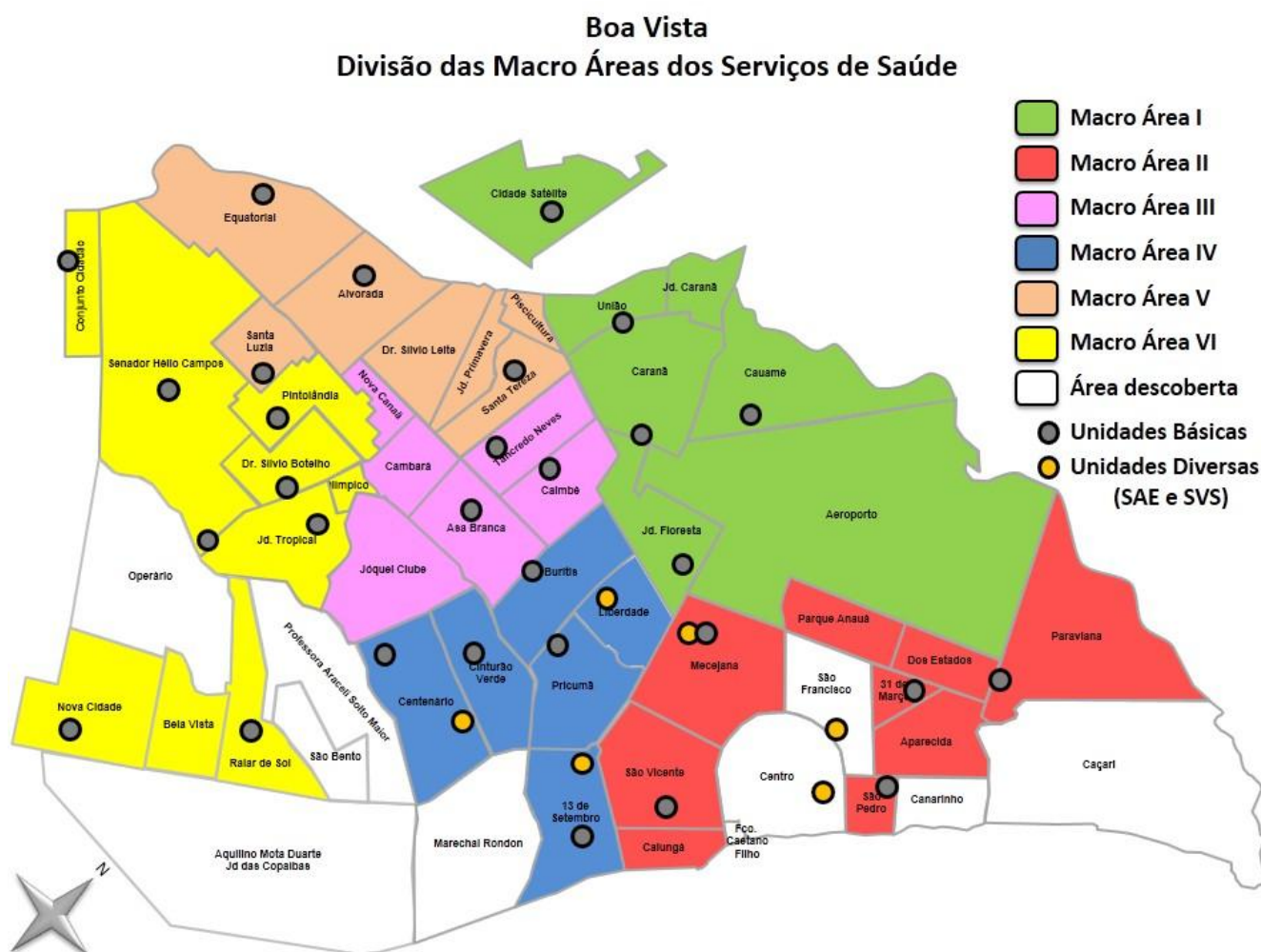
Figura 8 – Representação do Estado de Roraima com seus 15 municípios.



Fonte: www.guianet.com

Figura 9 – Representação do mapa do Estado de Roraima apresentando regiões de fronteira.

A cidade de Boa Vista é dividida em Macro Áreas de Saúde. As macro áreas de saúde abrangem os 54 bairros descritos no município e são definidas pela Superintendência da Atenção Básica da Secretaria Municipal de Saúde de Boa Vista (Figura 10). A procedência dos doadores foi estabelecida de acordo com a macro área de residência.



Fonte: PMBV / SEPF, JUNHO DE 2014.

Figura 10 – Representação das Macro Áreas de Saúde definidas pelas Secretaria Municipal de Saúde de Boa Vista.

3.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO E CRITÉRIOS DE SELEÇÃO

No Hemoraima são atendidos anualmente cerca de 11.262 candidatos doadores de sangue referentes a todo o Estado de Roraima, sendo que a maioria destes é proveniente da capital de Boa Vista-RR (dados não publicados obtidos dos registros de estatística do Hemoraima).

Foram selecionados doadores com sorologia reativa ou indeterminada para o marcador anti-HCV, cadastrados no setor de coleta do Hemocentro e que retornaram para a consulta médica no período de março de 2014 à abril de 2015, incluindo aqueles que não tinham comparecido a consulta médica em anos anteriores (2011, 2012 e 2013).

Foram incluídos doadores que apresentaram sorologia reativa ou indeterminada para anti-HCV na triagem sorológica da doação de sangue, e/ou que apresentaram NAT HCV detectável, ambos os sexos, com idade entre 18 e 65 anos, com ou sem outros marcadores sorológicos para Hepatite B, HIV, HTLV-1/2, Doenças de Chagas, Malária, Sífilis. Foram excluídos os candidatos a doadores de sangue que não apresentaram sorologia reativa ou indeterminada para anti-HCV na triagem da doação de sangue.

Os indivíduos que atendiam os critérios de inclusão foram convocados pelo setor de 2ª Amostra do Hemoraima, para consulta médica, momento no qual o médico solicita a coleta de nova amostra, como de rotina, para a repetição do teste. Neste momento os doadores foram convidados a participar voluntariamente do estudo e seu consentimento registrado por meio da assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) e aplicado um questionário epidemiológico (Apêndice B). Foram solicitadas informações pessoais e epidemiológicas e realizado questionamento sobre possíveis fatores de risco para a infecção do HCV.

Vale ressaltar que alguns doadores já tinham sido convocados em outro momento, mas não compareceram, portanto foram convocados novamente no período do estudo.

3.4 TRIAGEM SOROLÓGICA EM DOADORES DE SANGUE NO HEMORAIMA

Como de rotina, os doadores foram submetidos a triagem clínica, os quais responderam a um questionário e foram submetidos a triagem sorológica. Atualmente, o laboratório de sorologia do Hemoraima realiza testes de rotina para triagem dos doadores de sangue pelo método automatizado de quimioluminescência do sistema Architect i2000/i2000SR da Abbot para HIV (HIV Ag/Ab: antígeno p24, anti-HIV I (grupo O e M) e anti-HIV-II), HTLV (anti-HTLV I e II), Hepatite B (HBsAg, anti-HBc e anti-HBs para 2ª amostra), Hepatite C (anti-HCV), Doença de Chagas e pelo método manual para Sífilis (VDRL) e Malária (microscopia).

Os testes de biologia molecular para HIV e HCV só foram implementados no meio do ano de 2013 e estes são encaminhados para a cidade de Manaus na Fundação Hemoam para realização da pesquisa de ácidos nucleicos (NAT) de todos os doadores e os resultados foram

encaminhados por meio de sistema virtual, o GSM-NAT (Gerenciador do Sistema Multicêntrico NAT).

3.4.1 TESTE DE TRIAGEM PARA A HEPATITE C UTILIZADOS NA SOROLOGIA NO PERÍODO DE 2011 À 2015

Devido a presença de doadores que tinham realizado doações nos anos anteriores e que foram convocados para o estudo, cabe destacar as últimas metodologias utilizadas para detecção de anti-HCV.

Três metodologias foram realizadas no período de 2011 à 2015. As amostras foram testadas por ELISA (ensaio por imunoadsorvência ligado à enzima) kit Murex anti-HCV 3ª geração DiaSorin, MEIA (Imunoensaio Enzimático por Micropartículas) kit AxSYM HCV 3.0 e CMIA (Quimioluminescência) kit Architect Anti-HCV Abbott (dias atuais).

O ensaio de ELISA Murex anti-HCV 3ª geração DiaSorin detecta anticorpos contra antígeno do HCV (Core, NS3, NS4 e NS5) por imunoadsorvência ligada à enzima. A reação é positiva quando o valor da absorvência é igual ou superior ao valor do cut-off.

O ensaio Architect Anti-HCV é um imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA) para detecção qualitativa de anticorpos contra o HCV (Core, NS3 e NS4) em soro ou plasma humanos. Os imunoensaios quimioluminescentes são uma variação do princípio do imunoensaio enzimático (EIA). A presença do anti-HCV no ensaio emite um sinal quimioluminescente pela ligação dos conjugados com acridínio determinando a positividade ao teste.

O ensaio AxSYM HCV 3.0 é um Imunoensaio Enzimático por Micropartículas (MEIA) para detecção qualitativa do anticorpo específicos contra antígenos de superfície do vírus da hepatite C em soro ou plasma humano (Core, NS3, NS4 e NS5). O ensaio também é uma variação do princípio EIA. Na reação final do MEIA, um anticorpo ligado a uma enzima ativa sob um substrato para produzir um produto final fluorescente. A fluorescência produzida pela reação enzimática é proporcional a quantidade de anticorpos ligados.

Em todos os testes o sistema é automatizado. O resultado é calculado baseado na relação S/CO, que demonstra a relação do valor de corte calibrador e o valor da amostra a ser pesquisada. A reação é considerada positiva quando o valor (S/CO) da amostra é igual ou superior ao cut-off ($\geq 1,00$). Por medida de segurança transfusional, o resultado do teste é considerado indeterminado quando a relação S/CO é de até 10% abaixo do valor do cut-off.

Amostras que apresentaram resultado positivo ou indeterminado, por segurança transfusional, o hemocomponente é considerado inapropriado para doação e posteriormente descartado.

3.4.2. TESTE DE TRIAGEM DA 2ª AMOSTRA PARA HEPATITE C

Os doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado na triagem foram convocados para uma consulta médica e na ocasião foi realizada a coleta de uma segunda amostra. A 2ª amostra foi processada no setor de sorologia do Hemoraima pela metodologia anti-HCV CMIA e, dependendo do período de coleta e recursos disponíveis, as amostras foram encaminhadas para serem processadas no laboratório Central do Estado de Roraima por meio da tecnologia MEIA. Os doadores que apresentaram resultados positivo ou indeterminado foram encaminhados ao serviço de referência de diagnóstico para hepatites virais, no Hospital Estadual Coronel Mota.

3.5 PROCEDIMENTO TÉCNICOS



Figura 11 - Fluxograma demonstrativo das etapas desenvolvidas no projeto.

3.5.1 COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Dos doadores incluídos no estudo, foram coletadas amostras de sangue periférico (5 mL) em tubo PPT (*Plasma Preparation Tube, Vacutainer BD, Franklin Lakes, NJ, USA*) para procedimentos de dosagem de carga viral e pesquisa de genótipos. Após a coleta, os tubos foram centrifugados a 3500 rpm por 5 minutos e armazenados em freezer - 80°C no laboratório de biologia molecular da Universidade Federal de Roraima – UFRR. As amostras foram armazenadas por um período de 12 meses e posteriormente processadas no laboratório de Hepatites Virais do Laboratório Central do Estado de Roraima para determinação de RNA do HCV.

3.5.2 DETERMINAÇÃO DE RNA DE HCV

3.5.2.1 Tecnologia NAT

O NAT é uma tecnologia desenvolvida para a detecção do ácido nucléico do HIV e do HCV, em bolsas de sangue destinadas à transfusão. Os testes NAT HIV/HCV-Brasileiro, produzido por Bio-Manguinhos/FIOCRUZ foram desenvolvidos e implantados com o propósito de identificar os ácidos ribonucléicos (RNA) desses vírus previamente aos testes sorológicos convencionais, além de identificá-los em bolsas doadas com níveis de anticorpos indetectáveis pelos testes sorológicos tradicionais, promovendo a redução do período denominado janela imunológica – período compreendido entre o contato com o antígeno hemotransmissível e a produção de anticorpos em níveis detectáveis pelos testes sorológicos atuais.

Utiliza uma plataforma automatizada com capacidade de processar 96 reações, destas duas são controles negativos, duas controles positivos, ambos amplificam HIV e HCV, e 92 reações que podem ser processadas em *minipool* de seis amostras, possui alta rastreabilidade e sensibilidade para detecção do HIV e HCV. Sua metodologia é baseada na técnica de PCR em tempo real e, caso algum *minipool* apresente resultado positivo, as seis amostras que o compõem deverão ser processadas em uma próxima rotina separadamente para identificação da amostra positiva.

3.5.2.2 Plataforma Abbott RealTime™ HCV Assay

A determinação de RNA de HCV foi realizada por meio da plataforma de biologia molecular automatizada *Abbott RealTime™ HCV Assay* (Abbott Diagnostic). Existem dois sistemas que atuam em conjunto:

- Sistema Abbott m2000_{sp} é utilizado para extração de ácidos nucleicos de amostras de soro ou plasma para detecção de RNA utilizando kit reagente;
- Sistema Abbott m2000_{RT} processa transcrição reversa da reação da polimerase em tempo real (RT-PCR) para quantificação e genotipagem.

Para esta metodologia foi utilizado 0,5 ml de plasma/soro de cada amostra e kit de Preparação de Amostra da marca *Abbott Molecular Inc.* (Lote 10567411) seguindo as orientações técnicas contidas nos protocolos preconizados pelo fabricante.

Este método consiste em um conjunto de reagentes químicos e micropartículas de óxido de ferro no qual foi realizado o método genérico de isolamento de ácidos nucleicos de lise da amostra, ligando o lisado a micropartículas, aplicando múltiplos volumes de lavagem e eluindo o ácido nucleico total.

O teste foi realizado juntamente com amostras controle RNA HCV positivo e controle RNA HCV negativo. O limite de detecção de RNA HCV é de 12 UI/mL e a interpretação do resultado foi liberado como RNA HCV detectável ou RNA HCV não detectável.

3.6 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Os dados foram tabulados e armazenados por meio do Software Microsoft Excel® (versão 2013 para Windows). As análises descritivas foram apresentadas em tabelas e gráficos de distribuição de frequências.

3.7 IMPLICAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi submetido à avaliação ao pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemoam e aprovado em 27 novembro de 2013 sob nº CAAE: 18465613.6.0000.0009.

Os critérios de biossegurança e confidencialidade das informações foram respeitados.

4. RESULTADOS

Em 2014 foram realizadas 11.015 doações de sangue pelo Hemoraima, sendo que 347 bolsas foram descartadas devido a reatividade aos marcadores da triagem sorológica, sendo que em 19 (0,17%) unidades descartadas foi detectada a presença do anti-HCV. Em 2015, até a finalização do estudo não existia dados consolidados.

Foram convocados, no período de abril de 2014 à março de 2015, 30 doadores incluindo aqueles que não tinham comparecido a consulta médica em anos anteriores (2011, 2012 e 2013). Compareceram 22 doadores, sendo que todos responderam ao questionário epidemiológico e 18 doadores aceitaram coletar uma nova amostra para o estudo.

4.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE ANTI-HCV⁺

O período de doação variou entre os anos de 2011 à 2015. A média de idade foi de 29 anos, sendo mais prevalente a faixa etária entre 18-29 anos, com predomínio do gênero masculino (72,7%), doadores solteiros (50,0%) e sem histórico de trabalhar em locais com manuseio de amostras biológicas (72,7%). Os doadores foram todos procedentes da capital Boa Vista com predomínio da macro área de saúde IV (22,7%) e cerca de 54,5% não eram doadores de primeira vez, como mostra a tabela 3.

Tabela 3 - Perfil epidemiológico dos doadores que apresentaram resultado anti-HCV positivo ou indeterminado.

Variáveis	n=22	(%)
Idade		
18-29	14	(63,6)
Acima de 29	8	(36,4)
Gênero		
Feminino	6	(27,3)
Masculino	16	(72,7)
Estado civil		
Casado	10	(45,5)
Solteiro	11	(50,0)
Divorciado	1	(4,5)
Trabalhou em		
Estabelecimentos de Saúde	6	(27,3)
Outros	16	(72,7)
Procedência - Macroárea		
I	4	(18,2)

II	4	(18,2)
III	2	(9,1)
IV	5	(22,7)
V	4	(18,2)
VI	3	(13,6)
1ª vez doação		
Sim	10	(45,5)
Não	12	(54,5)
Total	22	(100)

Foram feitos questionamentos quanto a presença ou ausência de fatores de risco relacionados a infecção pelo HCV (tabela 4). Foram observados alguns fatores de risco entre os doadores em questão, como a realização de cirurgias (68,2%), compartilhamento de objetos de higiene (36,6%), relação sexual desprotegida (9%). Aqueles que evidenciaram a realização de cirurgias (68,2%), foi questionado o período e em todos os questionários foi verificado tempo superior a 5 anos. O período em que um (4,5%) dos doadores precisou receber sangue/hemoderivados foi há cinco anos. Nenhum doador evidenciou o uso de drogas injetáveis/inaláveis e terapia por acupuntura.

Tabela 4 - Questionamentos realizados aos doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado.

Questionamentos	SIM (%)	NÃO (%)
Já teve hepatite?	1 (4,5)	21(95,4)
Alguém da família já teve hepatite?	6 (27,2)	16 (72,7)
Já fez cirurgia? Extração dentária?	15(68,2)	7 (31,8)
Faz ou fez uso de drogas injetáveis / inaláveis?	0	22 (100)
Possui tatuagem ou piercing?	2 (9)	20 (90,9)
Utiliza terapia por acupuntura?	0	22 (100)
Faz uso de bebidas alcoólicas?	8 (36,6)	14 (63,6)
Já fez exame de endoscopia?	1 (4,5)	21 (95,4)
Já precisou receber transfusão de sangue / hemoderivados?	1 (4,5)	21 (95,4)
Já compartilhou aparelho de barbear, escova de dente, entre outros objetos de higiene?	8 (36,6)	14 (63,6)
Já sofreu acidente com material biológico?	1 (4,5)	21 (95,4)
Múltiplos parceiros (sem uso de preservativo)?	2 (9)	20 (90,9)
Já fez ou faz sexo anal ou oral (sem uso de preservativo)?	7 (31,8)	15 (68,2)

4.2 RESULTADO DA TRIAGEM DE AMOSTRAS DE CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE

Na triagem da doação de sangue, foi evidenciado que 21 doadores obtiveram resultado positivo ou indeterminado para anti-HCV e 1 resultado com NAT HCV detectável, totalizando 22 participantes do estudo. A tabela 5 apresenta os resultados de acordo com o ano da triagem, a metodologia utilizada no momento da triagem com o ponto de corte considerando a zona cinza entre 10-20% e a informação sobre ser a primeira doação ou não.

Tabela 5 - Resultado da Triagem anti-HCV na data da doação de sangue.

Nº de registro	Ano da triagem da doação	Resultado da triagem da doação para anti-HCV (S/CO)	Ponto de Corte do método	Método	Resultado	Primeira doação?
1	2014	1,05	1,00	CMIA	reagente	SIM
2	2012	2,41	1,00	CMIA	reagente	NÃO
3	2012	0,66	0,720	ELISA	indeterminado	NÃO
4	2013	1,64	1,00	CMIA	reagente	SIM
5	2014	2,91	1,00	CMIA	reagente	SIM
6	2014	2,14	1,00	CMIA	reagente	NÃO
7	2012	1,05	1,00	CMIA	reagente	NÃO
8	2014	1,17	1,00	ELISA	reagente	NÃO
9	2012	0,73	0,692	ELISA	reagente	NÃO
10	2013	2,11	1,00	CMIA	reagente	NÃO
11	2013	1,71	1,00	CMIA	reagente	NÃO
12	2011	1,74	1,00	ELISA	reagente	SIM
13	2011	0,622	0,731	ELISA	indeterminado	SIM
14*	2013	-	-	-	-	NÃO
15	2013	0,99	1,00	CMIA	indeterminado	SIM
16	2010	1,02	1,00	ELISA	reagente	NÃO
17	2014	2,26	1,00	CMIA	reagente	NÃO
18	2012	0,792	0,743	MEIA	reagente	NÃO
19	2015	2,84	1,00	CMIA	reagente	SIM
20	2015	5,49	1,00	CMIA	reagente	SIM
21	2012	0,85	1,00	CMIA	indeterminado	SIM
22	2012	2,13	1,00	CMIA	reagente	SIM

*NAT HCV detectável na triagem

Ao avaliar as metodologias empregadas durante a triagem da doação, observou-se que 12 amostras foram reagentes e 2 com resultado indeterminado no método CMIA, 1 amostra

reagente no método MEIA e 4 amostras reagentes e 2 amostras com resultado indeterminado no método ELISA (Tabela 6).

Tabela 6 - Resultado anti-HCV de acordo com as metodologias empregadas no período da triagem da doação de sangue.

Método	Resultados		
	Reagente	Indeterminado	Total
CMIA	12	2	14
MEIA	1	0	1
ELISA	4	2	6
Total	17	4	21*

*1 detectável no NAT

4.3 RESULTADO DA ANÁLISE DA 2ª AMOSTRA

As análises da 2ª amostra foram realizadas no período de coleta do estudo, 2014 à 2015. Os resultados foram classificados em reagente, não reagente e indeterminado, pois nem todos os doadores tinham resultado descrito da S/CO. Amostras que foram submetidas pela metodologia MEIA foram processadas no LACEN. Vale ressaltar que o doador n^o 14 apresentou NAT detectável na triagem da doação, enquanto que não foi detectado anti-HCV na triagem da doação e nem na 2ª amostra. Posteriormente, na repetição do teste o resultado foi não detectado.

Tabela 7 - Resultado da análise de 2ª amostra dos doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado na triagem.

Nº de registro	Resultado	Método
1	Reagente	CMIA
2	Reagente	MEIA
3	Reagente	MEIA
4	Reagente	MEIA
5	Reagente	CMIA
6	Reagente	CMIA
7	Não reagente	MEIA
8	Não reagente	CMIA
9	Não reagente	CMIA
10	Reagente	CMIA
11	Não reagente	CMIA
12	Reagente	MEIA
13	Não reagente	MEIA

14	Não reagente	CMIA
15	Indeterminado	CMIA
16	Não reagente	CMIA
17	Reagente	CMIA
18	Não reagente	MEIA
19	Reagente	CMIA
20	Reagente	CMIA
21	Não reagente	CMIA
22	Reagente	CMIA

Ao avaliar as metodologias empregadas para a realização da 2ª amostra, observou-se que pelo método CMIA, 8 amostras foram reagentes, 6 amostras foram não reagentes e 1 amostra teve o resultado indeterminado. No método MEIA, 4 amostras foram consideradas reagentes enquanto que 3 amostras foram consideradas não reagentes e nenhuma foi considerada indeterminada (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultado anti-HCV da 2ª amostra.

Método	Resultado			Total
	Reagente	Não reagente	Indeterminado	
CMIA	8	6	1	15
MEIA	4	3	0	7
Total	12	9	1	22

4.4 RESULTADOS DO NAT-HCV DA TRIAGEM DE CANDIDATOS A DOAÇÃO DE SANGUE

Considerando que a metodologia NAT- HCV só foi empregada no segundo semestre de 2013, doações realizadas antes deste período não possuem resultado deste teste. Das vinte e duas amostras analisadas, dez delas (amostras: 2, 3, 7, 9, 12, 13, 16, 18, 21 e 22) não foram realizados testes de ácidos nucleicos. A tabela 9 apresenta os resultados no período da triagem da doação de sangue.

Tabela 9 - Resultado do NAT da Triagem da Doação de Sangue

Nº de Registro	Resultado do NAT
1	Indetectável
2	Não realizado
3	Não realizado
4	Indetectável
5	Indetectável
6	Indetectável
7	Não realizado
8	Indetectável
9	Não realizado
10	Indetectável
11	Indetectável
12	Não realizado
13	Não realizado
14	Detectável
15	Indetectável
16	Não realizado
17	Indetectável
18	Não realizado
19	Indetectável
20	Indetectável
21	Não realizado
22	Não realizado

* Implantação do NAT somente em 2013.2, doações realizadas antes desta data não tem resultado NAT.

Como mostra a tabela 10, quando se relacionou os resultados do NAT- HCV com os resultados anti-HCV da 2ª amostra, observou-se que em 8 amostras anti-HCV reagentes, não foi possível detectar RNA do HCV. Em 4 amostras anti-HCV reagentes não foi realizado NAT-HCV, enquanto que 1 amostra com resultado não reagente foi possível detectar RNA do HCV. Sendo que o teste NAT-HCV foi repetido na 2ª amostra do candidato o qual teve RNA detectável na triagem, e apresentou resultado não detectado do NAT-HCV.

Tabela 10 - Relação entre o resultado de 2ª amostra da sorologia anti-HCV e NAT HCV (triagem).

Sorologia anti-HCV	NAT			Total
	Detectável	Não Detectável	Não Realizado	
Reagente	0	8	4	12
Não reagente	1	2	6	9
Indeterminado	0	1	0	1
Total	1	11	10	22

4.5 RESULTADO DA QUANTIFICAÇÃO HCV-RNA

Após a análise da quantificação HCV-RNA pela plataforma *Abott RealTime™ HCV Assay* em 18 amostras no Laboratório Central de Roraima, foi verificado que nenhuma das amostras em estudo apresentaram RNA do HCV circulantes (Tabela 11), incluindo naquelas amostras que não tinham sido submetidas ao NAT HCV. Não foi possível realizar o teste dos doadores 11, 15, 21 e 22 pois os mesmos não permitiram a coleta de amostras.

Pelo fato de que nenhum candidato a doação de sangue, participante do estudo, não ter apresentado RNA HCV, não foi possível realizar a genotipagem devido a carga viral ser indetectável ou presença de *clearence* plasmático ou resultados falso-positivos dos testes de triagem.

Tabela 11 - Resultado da quantificação do RNA HCV em todas as amostras do estudo.

Nº de Registro	Resultado HCV-RNA
1	Indetectável
2	Indetectável
3	Indetectável
4	Indetectável
5	Indetectável
6	Indetectável
7	Indetectável
8	Indetectável
9	Indetectável
10	Indetectável
11	Não realizado
12	Indetectável
13	Indetectável
14	Indetectável
15	Não realizado
16	Indetectável
17	Indetectável
18	Indetectável
19	Indetectável
20	Indetectável
21	Não realizado
22	Não realizado

A figura 12 representa o resumo dos resultados dos testes realizados no presente estudo.

Os candidatos a doação de sangue que apresentam resultados positivos são encaminhados ao serviço de referência no Hospital Coronel Mota. Os participantes deste estudo foram investigados no Serviços Assistencial Especializado (SAE) e foi verificado que nenhum destes está em tratamento/acompanhamento.

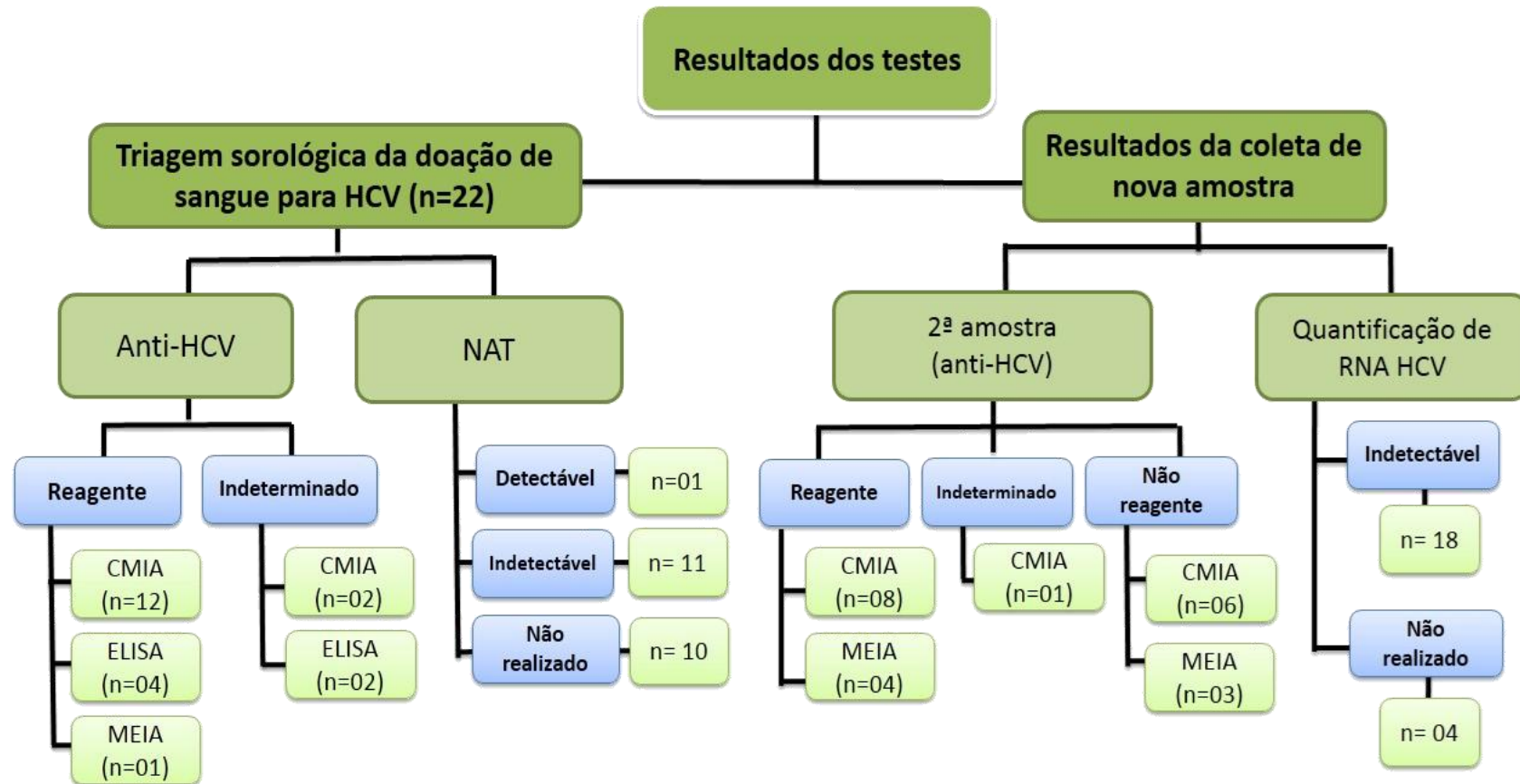


Figura 12 – Fluxograma dos resultados dos testes. Representação dos resultados dos testes da triagem sorológica da doação de sangue e dos resultados da coleta de nova amostra.

5. DISCUSSÃO

A prática hemoterápica em todo mundo requer a triagem e o diagnóstico das infecções possivelmente transmissíveis pelo sangue a fim de assegurar a qualidade dos hemocomponentes, bem como a segurança transfusional, visto que ainda não há disponível um substituto para o sangue.

Estudos de prevalência e análise de marcadores de doenças infecciosas têm sido descritos em diversas localidades do Brasil, especificamente em doadores de sangue, sendo que as variáveis populacionais de cada região podem influenciar, bem como o conhecimento do HCV em regiões específicas considerando sua variabilidade genética (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; SILVA, 2008; GARCIA et al, 2008; LIMA, 2011; BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012).

O Hemoraima como centro de referência em banco de sangue localizado na capital do Estado de Roraima recebe influência contínua de indivíduos procedentes da cidade de Boa Vista, o que explica a procedência de todos os doadores. Sendo que a maior parte dos participantes era da macroárea de saúde IV onde existem cinco unidades básicas de saúde distribuídas e unidades de atenção especializada que possibilitam o acesso aos testes rápidos para HIV / HCV / HBV entre outros, caso o usuário deseje investigar sua condição (SEPF, 2014). Neste caso, excluindo a possibilidade de se dirigir ao Hemoraima com o intuito de obter resultados diagnósticos por meio da doação de sangue.

Estudos realizados com doadores de sangue relatam a prevalência maior de anti-HCV em doadores de primeira vez (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; SILVA, 2008; GARCIA et al, 2008; LIMA, 2011; BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012). Neste estudo, foi observado números aproximados entre doadores de primeira vez (45,5%) e doadores de repetição (54,5%) entre aqueles que aceitaram participar do estudo. Doadores de primeira vez já foram considerados grupo de risco entre os doadores para transmissão do HCV (BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012). Doadores de repetição já foram considerados mais seguros do que doadores de primeira vez, uma vez que os doadores de repetição são acostumados com os questionamentos da triagem clínica da doação (CHOUDHURY et al., 2011). Entretanto, devido a população do estudo ser jovem, sugere-se que pode haver uma influência desta população após comportamentos de risco e omissão de informações durante a triagem clínica.

Entre 2005 à 2007 foi observado na Fundação Hemoam, a prevalência de anti-HCV no sexo masculino e em doadores de primeira vez com mediana de idade de 32 anos (TORRES et al., 2009). E entre 2009 à 2010, as características dos doadores que apresentaram PCR positivo para HCV foram doadores de primeira vez (60%), do sexo masculino (58%) e solteiros (60%),

corroborando com os resultados deste trabalho, exceto por serem doadores de primeira vez (LIMA, 2011).

Neste estudo foi observado maior proporção de indivíduos jovens entre 18 e 29 anos (63,6%). Vale ressaltar, que a faixa etária pode variar de acordo com a região de estudo, no caso de Roraima, isto pode ser explicado pela maior proporção da população residente ter idade entre 18-34 anos quando comparado com a faixa etária entre 35-49 anos, consequentemente um número maior de solteiros que comparecem a doação de sangue, além disso o número de homens residentes em Roraima é maior (228.859) quando comparado ao número de mulheres (221.620) (IBGE, 2010).

A prevalência de anti-HCV entre doadores adultos jovens (entre 18-29 anos) e do sexo masculino poderia indicar maior frequência de exposição a potenciais fatores de risco entre os homens, inclusive se ainda forem solteiros onde se permitem relacionar-se com diferentes pessoas, levando em consideração de que o número de homens doadores é maior do que mulheres doadoras (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012). Tem-se descrito que, a prevalência de HCV e HIV entre homens é considerado como um fator de risco bem como a existência de múltiplos parceiros (CALEGARI et al., 2011).

Durante os questionamentos, foi dado ênfase aos participantes a existência ou não de “múltiplos parceiros sem uso de preservativo”, sugerindo que ainda que o indivíduo tenha diversos parceiros e recorra ao uso do preservativo, a exposição ao HCV e outras doenças sexualmente transmissíveis diminuem, visto que o uso de preservativo é indicado para prevenção de doenças sexualmente transmissíveis.

Apesar do questionamento da possibilidade ou não de múltiplos parceiros, foi observado que 31,8% dos participantes responderam “sim” ao ser questionado se já fez ou faz sexo anal ou oral sem uso do preservativo, levando em consideração que tais exposições estão relacionadas ao aumento de doenças sexualmente transmissíveis, incluindo como fator de risco para a infecção pelo HCV. Como também há descrições sobre a detecção de HCV na saliva de indivíduos infectados sugerindo a possibilidade de transmissão quando se realiza sexo oral pela troca de fluidos, mesmo que a mucosa apresente ou não alguma lesão (GONÇALVES et al., 2005; LUNA et al., 2008; MENEZES et al., 2012) e muitas vezes, a presença de RNA-HCV na saliva independe da carga viral do indivíduo (LINS et al., 2005).

Cerca de 68,2% dos participantes relataram a ocorrência de algum tipo de cirurgia, incluindo procedimentos de extração dentária e um participante (4,5%) relatou a necessidade de receber transfusão de sangue ou hemoderivados. Entretanto, quando questionados sobre a data dos procedimentos, foi observado período posterior ao ano de 1993, data a qual foi inserido os testes de triagem para a hepatite C nos bancos de sangue do Brasil.

Em um estudo realizado no sul do Brasil relacionando os genótipos do HCV e os fatores de riscos, entre eles foi relatada baixa relação entre a terapia por acupuntura, tatuagens, *piercing* e a infecção pelo HCV (PARABONI et al., 2012), dados semelhantes ao encontrado neste estudo onde 100% dos participantes não utilizavam este tipo de terapia e apenas 9% possuíam tatuagem ou *piercing*.

Entre os 22 doadores, 36,6% relataram o uso de bebidas alcoólicas, entretanto isso não afirma que estes doadores são dependentes de álcool. O uso de bebidas alcólicas foi considerado como fator de risco para infecção pelo HCV em 10,5% dos alcoolistas, bem como o uso de drogas injetáveis (GALPERIM et al., 2006).

Tem-se descrito a possibilidade da transmissão do HCV por meio do contato com utensílios de uso pessoal contaminados com sangue infectado (CIORLIA; ZANETTA et al., 2007). Neste estudo foi evidenciado que 36,6% dos participantes já tinham compartilhado itens de higiene, sendo que já existe relato da possível transmissão do HCV entre objetos de higiene, especificamente o compartilhamento de escova de dentes, lâminas de barbear e cortador de unhas (CAVALHEIRO et al., 2010). Entre doadores de sangue anti-HCV positivo e RNA-HCV positivo ao serem questionados sobre fatores de risco, houve associação entre compartilhamento desses objetos, inclusive em salões de beleza, manicure, pedicure e barbearia, sugerindo que esses doadores foram expostos ao HCV (VALOIS et al., 2014).

Neste estudo, um doador (4,5%) relatou um episódio de acidente ocupacional com material biológico. A transmissão do HCV após acidente com agulha pode ocorrer com risco aproximadamente dez vezes maior que a transmissão pelo HIV, sem a possibilidade de prevenção após a exposição, o que já acontece com o HIV (MONTELLA et al., 2005; CIORLIA; ZANETTA et al., 2007). A ocorrência da infecção pelo HCV entre os profissionais da saúde varia de 2% a 10%, associando-se o risco de contágio com o tempo de serviço, a realização de procedimentos invasivos e a ocorrência de acidentes percutâneos, sendo o sangue fonte de infecção de maior frequência (MONTELLA et al., 2005; MARCONI et al., 2010).

Neste estudo foi observado perda dos doadores durante a convocação para a coleta de 2ª amostra, considerando que alguns demoram entre 6 a 12 meses para comparecer a unidade. Considerando este fato como motivo de limitação para o estudo, é comum o não comparecimento dos doadores para a realização do teste confirmatório de aproximadamente 60% daqueles que são convocados (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; GARCIA et al., 2008).

Ainda que os resultados do presente estudo não possam afirmar a presença ou não da infecção pelo HCV devido a realização do teste confirmatório ter se apresentado negativo em todos os participantes, é de suma importância a discussão deste tema, considerando a região de

Roraima onde ainda não se tem informações ou estudos. Sugere-se que estes doadores possam ser acompanhado e que os testes de RNA- HCV possam ser repetidos posteriormente.

Testes ELISA/MEIA/CMIA fornecem um resultado quantitativo de absorbância. Estes são reportados como reativos ou não reativos, quando superiores ao valor do “*cut-off*” informado pelo fabricante. Foi observado que grande parte das amostras reagentes durante a triagem da doação de sangue estiveram muito próximas ao *cut-off* do método. Estudos utilizando testes imunoenzimáticos para anti-HCV demonstraram que em amostras com valores de absorbância próximos ao valor de *cut-off* existe uma maior probabilidade de apresentarem resultados falso-positivos, ou seja, essas amostras quando testadas por ensaios confirmatórios (RIBA, RNA HCV) geralmente apresentam resultado negativos. Sugere-se que resultados positivos próximos ao *cut-off* sejam confirmados por outra metodologia afim de evitar comunicação de resultados falso-positivos (DUFOR et al., 2003; TORRES et al., 2009; LIMA, 2011;). Além disso, até a confirmação do diagnóstico, o doador convive com o estigma de uma doença muitas vezes inexistente, gerando grande tensão além de perdas financeiras para o Sistema Único de Saúde (SUS) em decorrência do descarte de bolsas de hemocomponentes possivelmente não infectados (SALLES et al., 2003; GARCIA et al., 2008).

Outro fator que contribui para essa problemática é a frequente troca na marca dos testes de triagem sorológica utilizados, em função das normas de licitação a que estão subordinados os bancos de sangue públicos para a compra de tais produtos. Esse fenômeno ocorre mesmo quando são usados testes de alta sensibilidade e especificidade. Cada marca de teste gera resultados falso-positivos em amostras diferentes. Com isso, quando a marca dos reagentes é frequentemente trocada, ocorre uma somatória dos resultados falso-positivos — em outras palavras, aumenta a chance de um doador sadio ter reatividade cruzada em pelo menos uma das marcas utilizadas. Esse fenômeno não aconteceria se a mesma marca fosse sempre utilizada (SALLES et al., 2003).

Dependendo do número da amostra nos estudos, observa-se que a prevalência do HCV em doadores de sangue decai com a realização de um segundo teste (2ª amostra) e/ou teste confirmatório em aproximadamente 0,10% a 0,30% do valor inicial com base no teste anti-HCV, ou seja, prevalências de anti-HCV que variam entre 0,3-0,4% podem decair para 0,15-0,1% com a realização do teste confirmatório, semelhante ao ocorrido neste estudo (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; SILVA., 2008; GARCIA et al., 2008; LIMA, 2011, GARCIA et al., 2010; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010; JOSAHKIAN et al., 2010; BEDOYA; MÁRQUEZ; ARIAS, 2012). Na Colômbia, testes realizados na triagem de doação de sangue resultaram em seis casos para HCV entre mil doações, e ao analisar testes confirmatórios não

houve número de casos entre mil doações, sendo que no teste NAT os resultados foram todos negativos (BEDOYA; MÁRQUEZ; ARIAS, 2012).

Também não se pode descartar a possibilidade de *clearence* plasmático na amostra deste estudo, pois reações inconclusivas ou indeterminadas foram sugeridas como resultado do *clearence* viral plasmático e/ou cura da infecção, o que ocorre em aproximadamente 20% a 50% dos infectados pelo HCV (MICALLEF; KALDOR; DORE, 2006; GARCIA et al., 2008).

A confirmação do diagnóstico da hepatite C é realizada por meio dos testes de detecção de ácidos nucleicos – NAT do HCV. A reação em cadeia da polimerase (PCR), técnica pioneira do NAT, é considerada padrão ouro para o diagnóstico da infecção pelo HCV (GARCIA et al., 2008). Entretanto, foi observado no presente estudo que nem todos os candidatos a doação de sangue que passaram pela triagem tinham sido submetidos ao teste NAT HCV devido período de doação não contemplar a realização do teste, pois a obrigatoriedade da realização do teste NAT só entrou em vigor a partir do ano de 2013 (Portaria nº 2.712/2013).

Foi observado que um candidato apresentou NAT HCV detectável na triagem, porém não apresentou anti-HCV. Testes de triagem negativos não exclui 100% o risco de infecção, pois o teste NAT HCV diminui o período de janela imunológica existentes nos testes sorológicos de aproximadamente de 51 a 7 dias, restando portando, 7 dias em que o vírus possa ser transmitido (BEDOYA; MÁRQUEZ; ARIAS, 2012).

Foi realizado um estudo com doadores de sangue submetidos a triagem por diversos kits sorológicos para anti-HCV e testes confirmatórios incluindo RIBA e NAT. Foi considerado que amostras de doador de sangue devem ser avaliadas por mais de um kit ELISA visando o aumento do valor preditivo positivo da reação e ainda assim foi observado doadores reativos em mais de um kit ELISA, porém negativos no testes RIBA e NAT, resultados semelhantes ao encontrado neste estudo, excluindo-se o teste RIBA que não foi realizado (CHOUDHURY et al., 2011).

Além disso, foi observado em estudo anteriores que nenhum receptor de hemocomponentes oriundos de doadores que apresentaram anti-HCV positivo/indeterminado e com testes RIBA e cDNA-PCR do HCV negativos foram infectados pelo HCV, comprovando que estes doadores não estavam verdadeiramente infectados (VRIELINK et al., 1997; CHOUDHURY et al., 2011).

Os resultados apresentados nos testes de triagem sorológica frente ao confirmatório evidenciam que eles podem oferecer a possibilidade de diminuir o risco transfusional. Por outro lado, podem excluir potenciais doadores que podem ter sido classificados como não aptos (GARCIA et al., 2008; BEDOYA; MÁRQUEZ; ARIAS, 2012).

Considerando os resultados do teste RNA de HCV foram todos negativos, nenhuma amostra foi encaminhada para genotipagem. Apesar de que nem todos os candidatos a doação de sangue tiveram acesso a metodologia NAT na triagem da doação que só foi implementada em 2013, a realização da quantificação RNA foi importante nesses candidatos a doação de sangue que não foram submetidos ao NAT, na época que doaram sangue, para excluir a possibilidade de serem portadores do HCV. Com exceção daqueles que não aceitaram a coleta de amostras.

Considerando a temática apresentada, pode-se citar algumas hipóteses em que a literatura sustenta evidências entre a relação dos testes empregados na triagem da doação de sangue:

1. Resultados anti-HCV na triagem da doação de sangue podem ser falso-positivos.

- A prevalência elevada do anti-HCV nos testes de triagem poderia ser devido a maior sensibilidade e menor especificidade desse teste (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005);
- Os reagentes empregados na triagem sorológica do HCV em bancos de sangue exibem boa sensibilidade e especificidade, entretanto ao serem empregados em populações onde são baixos os valores de prevalência, geram um percentual considerável de falso-positivos. Até 2013 era facultado aos serviços a realização de testes confirmatórios ou complementares e, nos casos em que eles não eram realizados, os doadores positivos eram encaminhados a serviços especializados (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005).
- A possibilidade de haver reações cruzadas pela presença de outros microrganismos circulantes sem poder de infectividade, entretanto com poder de alterar os resultados dos testes de triagem. Apesar dos testes utilizarem antígenos recombinantes, os quais poderiam reagir com anticorpos inespecíficos presentes na população estudada (BEDOYA; MÁRQUEZ; ARIAS, 2012);
- Resultados falso-positivos nas técnicas imunoenzimáticas são moderadamente frequentes e podem ser devido ao *clearance* do vírus nos casos de cura espontânea (cicatriz sorológica), a presença de anticorpos contra proteínas residuais do vetor empregado na produção do antígeno recombinante que compõe o kit sorológico, as doenças imunes e, ainda, à degradação proteica de soros estocados por longos períodos e/ou inadequadamente (GARCIA et al., 2008).

2. Não detecção de RNA HCV em ambas metodologias devido a baixa carga viral sendo impossível ser detectada pelo teste.

- Um único ensaio qualitativo para RNA de HCV pode confirmar a replicação viral ativa, um único teste negativo não exclui a viremia podendo refletir carga viral indetectável, portanto tem-se a necessidade de prosseguir com avaliação médica para verificação do status anti-HCV reativo (CHOUDHURY et al., 2011).
- Devido a oscilações do RNA viral no plasma, indivíduos infectados com o vírus da hepatite C, podem apresentar teste de detecção de ácidos nucleicos negativos, por isso testes moleculares para detecção de RNA HCV devem ser utilizados em associação com testes sorológicos no intuito de identificar carga viral abaixo do nível de detecção, por meio da detecção do anti-HCV (HELLER; REHERMANN, 2005; LIMA, 2011).
- O achado de pacientes anti-HCV positivo/HCV-RNA negativo pode ser justificado de algumas formas. A presença de níveis de replicação viral inferiores ao limite de detecção do teste utilizado no presente estudo. A presença de infecção oculta pelo HCV, que é definida atualmente pela detecção do HCV-RNA no tecido hepático isoladamente ou neste e em células mononucleares periféricas. Tal situação foi recentemente descrita e tem sido observada em doentes com doença renal crônica em hemodiálise (BARRIL et al., 2007; LEÃO; PACE; CHEBLI, 2010)

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo reforçam a ideia de que a condição dos exames de triagem para hepatite C pode até o momento não corresponder ao real perfil sorológico dos candidatos a doação de sangue em relação à doença e que estes precisam ser monitorados em futuras doações.

A realização do teste da 2ª amostra diminui resultados considerados positivos ou indeterminados para o marcador anti-HCV durante a triagem.

Não foi encontrada evidências da presença do RNA HCV após teste confirmatório, sugerindo baixa carga viral, *clearance* plasmático ou resultados falso-positivos provenientes dos testes de triagem sorológica.

Este foi o primeiro estudo realizado no Estado de Roraima que engloba a infecção pela hepatite C em candidatos a doação de sangue, portanto a realização deste permite conhecer o comportamento epidemiológico da população abrangida durante o período do estudo e avaliar as técnicas empregadas na triagem da doação de sangue afim de subsidiar melhorias no sistema de qualidade da gestão desde a seleção de doadores até a certificação da qualidade dos hemocomponentes.

REFERÊNCIAS

ALTER, H. J. et al. Detection of Antibody to Hepatitis C Virus in Prospectively Followed Transfusion Recipients with Acute and Chronic Non-A, Non-B Hepatitis. **New England Journal of Medicine**, v. 321, n. 22, p. 1494–1500, 30 nov. 1989.

ALTER, H. J. New kit on the block: Evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. **Hepatology**, v. 15, n. 2, p. 350–353, 1 fev. 1992.

ALVARADO-MORA, M. V. et al. Distribution and molecular characterization of hepatitis C virus (HCV) genotypes in patients with chronic infection from Pernambuco State, Brazil. **Virus Research**, v. 169, n. 1, p. 8–12, out. 2012.

BARRERA, J. M. et al. Improved Detection of Anti-HCV in Post-Transfusion Hepatitis by a Third-Generation ELISA. **Vox Sanguinis**, v. 68, n. 1, p. 15–18, 1 jan. 1995.

BARRIL, G. et al. Occult Hepatitis C Virus Infection among Hemodialysis Patients. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 19, n. 12, p. 2288–2292, 1 dez. 2008.

BARROSO, E. DO C.; BRITO JUNIOR, L. C. Demographic characteristics of HCV EIA repeat reactive blood donors. **Revista Paraense de Medicina**, v. 26, n. 4, 2012.

BARTOSCH, B.; DUBUISSON, J.; COSSET, F.-L. Infectious Hepatitis C Virus Pseudoparticles Containing Functional E1–E2 Envelope Protein Complexes. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 197, n. 5, p. 633–642, 3 mar. 2003.

BATALLER, R. et al. Hepatitis C virus core and nonstructural proteins induce fibrogenic effects in hepatic stellate cells. **Gastroenterology**, v. 126, n. 2, p. 529–540, 2004.

BEDOYA, J. A. P.; MÁRQUEZ, M. M. C.; ARIAS, J. A. C. Seroprevalence of markers of transfusion transmissible infections in blood bank in Colombia. **Revista de Saúde Pública**, v. 46, n. 6, p. 950–9, 2012.

BENITEZ, J. A.; RODRIGUEZ-MORALES, A. J. Seroprevalence of Blood-Borne Infections Among Blood Donors in Venezuela, 2001–2002. **13th International Congress on Infectious Diseases**, 2008.

BERARDIS, S. et al. Use of mesenchymal stem cells to treat liver fibrosis: Current situation and future prospects. **World Journal of Gastroenterology : WJG**, v. 21, n. 3, p. 742–758, 21 jan. 2015.

BILLERBECK, E. et al. Animal Models for Hepatitis C. In: BARTENSCHLAGER, R. (Ed.). **Hepatitis C Virus: From Molecular Virology to Antiviral Therapy**. Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer Berlin Heidelberg, v. 369p. 49–86. 2013.

BRANDÃO, A. B. DE M. et al. Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão da literatura. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 9, p. 161–168, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC N° 34, de 11 de Junho de 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **2º Boletim Anual de Produção Hemoterápica**, Brasília, 2012a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **3º Boletim Anual de Produção Hemoterápica**, Brasília, 2013a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Marco Conceitual e Operacional de Hemovigilância: Guia para a Hemovigilância no Brasil, Brasília, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAT) e as demais estratégias para detecção dos vírus HIV-1 e HCV na triagem de sangue doado. **Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde**, v. 3, n. 2, nov. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 2.712 de 12 de Novembro de 2013

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais**, Brasília, 2012.

BRASIL. Sistema Nacional de Vigilância em Saúde. **Hepatites Virais: o Brasil está atento**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 3. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. Sistema Nacional de Vigilância em Saúde: **Manual de Orientações: Hepatites Virais B e C** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 5. ed. – São Paulo : Ministério da Saúde, 2011.

BRASS, V.; MORADPOUR, D.; BLUM, H. E. Molecular Virology of Hepatitis C Virus (HCV): 2006 Update. **International Journal of Medical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 29–34, 2006.

BRUGGMANN, P. et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 21, p. 5–33, 1 maio 2014.

BUTI, M. et al. Hepatitis C virus Core Antigen as a predictor of non-response in genotype 1 chronic hepatitis C patients treated with peginterferon α -2b plus ribavirin. **Journal of Hepatology**, v. 40, n. 3, p. 527–532, 2003.

CALEGARI, C. B. et al. Perfil Epidemiológico dos Pacientes Portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) Coinfectados com o Vírus da Hepatite C (HCV) no Ambulatório de DST/Aids da Cidade de Criciúma. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 23, n. 2, p. 90–94, 2011.

CARRAZZONE, C. F. V.; BRITO, A. M. DE; GOMES, Y. M. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 26, p. 93–98, 2004.

CASTELLS, M. et al. Epidemic history of major genotypes of hepatitis C virus in Uruguay. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 32, n. 0, p. 231–238, jun. 2015.

CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C virus detection in the semen of infected patients. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, p. 358–361, 2008.

CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C virus: molecular and epidemiological evidence of male-to-female transmission. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. 427–432, 2010.

CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C: sexual or intrafamilial transmission? Epidemiological and phylogenetic analysis of hepatitis C virus in 24 infected couples. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 239–244, 2009.

CDC. **Hepatitis C - Centers of Disease Control and Prevention**. Disponível em: <<http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2016/infectious-diseases-related-to-travel/hepatitis-c>>. Acesso em: 14 jul. 2015.

Centro de Geotecnologia, Cartografia e Planejamento Territorial de Roraima (CGPTERR). Secretaria de Estado de Planejamento e Desenvolvimento (SEPLAN). **Municípios do Estado de Roraima**. 2014.

CEPEDA, J. A. et al. Moderate/heavy alcohol use and HCV infection among injection drug users in two Russian cities. **Drug and alcohol dependence**, v. 132, n. 3, p. 571–579, 1 out. 2013.

CHAKRAVARTI, A. et al. Hepatitis C virus core antigen assay: can we think beyond convention in resource limited settings? **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. 369–374, maio 2013.

CHATTERGOON, M. A. et al. High Plasma Interleukin-18 Levels Mark the Acute Phase of Hepatitis C Virus Infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 204, n. 11, p. 1730–1740, 1 dez. 2011.

CHAYAMA, K.; HAYES, C. N. Hepatitis C virus: How genetic variability affects pathobiology of disease. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 26, p. 83–95, 1 jan. 2011.

CHEVALIEZ, S. et al. Hepatitis C Virus (HCV) Genotype 1 Subtype Identification in New HCV Drug Development and Future Clinical Practice. **PLoS ONE**, v. 4, n. 12, p. e8209, 8 dez. 2009.

CHINCHAI, T. et al. Comparative study of different methods to genotype hepatitis C virus type 6 variants. **Journal of Virological Methods**, v. 109, n. 2, p. 195–201, maio 2003.

CHOO, Q. et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, v. 244, n. 4902, p. 359–362, 21 abr. 1989.

CHOUDHURY, N. et al. Serial follow-up of repeat voluntary blood donors reactive for anti-HCV ELISA. **Asian Journal of Transfusion Science**, v. 5, n. 1, p. 26–31, jan. 2011.

CHOUDHURY, N. et al. Serial follow-up of repeat voluntary blood donors reactive for anti-HCV ELISA. **Asian Journal of Transfusion Science**, v. 5, n. 1, p. 26–31, jan. 2011.

CIORLIA, L. A. DE S.; ZANETTA, D. M. T. Hepatite C em profissionais da saúde: prevalência e associação com fatores de risco. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, p. 229–235, 2007.

CONTRERAS, A. M. et al. Sangre segura en ausencia de infecciones virales por VHB, VHC y VIH en período de ventana serológica de donadores. **Salud Pública de México**, v. 53, p. S13–S18, 2011.

COSTA, C. DOS S. **Soroepidemiologia do HCV em doadores de sangue na cidade de Imperatriz - MA, no período de 2005 a 2010**. Dissertação de Mestrado—Belém: Universidade Federal do Pará, 2012.

COTTRELL, E. B. et al. Reducing Risk for Mother-to-Infant Transmission of Hepatitis C Virus: A Systematic Review for the U.S. Preventive Services Task Force. **Annals of Internal Medicine**, v. 158, n. 2, p. 109–113, 15 jan. 2013.

COUROUCÉ, A.-M. et al. Efficacy of HCV core antigen detection during the preseroconversion period. **Transfusion**, v. 40, n. 10, p. 1198–1202, 1 out. 2000.

DAMEN, M. et al. Reliability of the third-generation recombinant immunoblot assay for hepatitis C virus. **Transfusion**, v. 35, n. 9, p. 745–749, 1 set. 1995.

DAZERT, E. et al. Loss of viral fitness and cross-recognition by CD8+ T cells limit HCV escape from a protective HLA-B27–restricted human immune response. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 119, n. 2, p. 376–386, 2 fev. 2009.

DE ALMEIDA-NETO, C. et al. Prevalence of serologic markers for hepatitis B and C viruses in Brazilian blood donors and incidence and residual risk of transfusion transmission of hepatitis C virus. **Transfusion**, v. 53, n. 4, p. 827–834, 1 abr. 2013.

DOGBE, E. E.; ARTHUR, F. Diagnostic accuracy of blood centers in the screening of blood donors for viral markers. **The Pan African Medical Journal**, v. 20, p. 119, 2015.

DUBUISSON, J.; COSSET, F.-L. Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle – An update. **Journal of Hepatology**, v. 61, n. 1, p. S3–S13, 2014.

DUFOUR, D. R. et al. Low-Positive Anti-Hepatitis C Virus Enzyme Immunoassay Results: An Important Predictor of Low Likelihood of Hepatitis C Infection. **Clinical Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 479–486, 1 mar. 2003.

FONSECA, J. C. F. DA. Histórico das hepatites virais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 322–330, 2010.

FREEMAN, A. J. et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. **Hepatology**, v. 34, n. 4, p. 809–816, 1 out. 2001.

FREITAS, A. **Geografia e História de Roraima**. 8^a. ed. Boa Vista-RR: IAF, 2012.

GAITE, L. A. et al. Hepatitis C in Argentina: epidemiology and treatment. **Hepatic Medicine : Evidence and Research**, v. 6, p. 35–43, 2014.

GALPERIM, B. et al. Prevalence of hepatitis C virus in alcoholic patients: role of parenteral risk factors. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 43, p. 81–84, 2006.

GARCIA, F. B. et al. Epidemiological profile of hepatitis C in blood donors at the Uberaba Regional Blood Center. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 1–4, 2009.

GARCIA, F. B. et al. Importância dos testes sorológicos de triagem e confirmatórios na detecção de doadores de sangue infectados pelo vírus da hepatite C. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 218–222, 2008.

GAZE, R. et al. Reflexões éticas acerca dos estudos de soroprevalência de hepatites virais. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, p. 162–169, 2006.

GEORGEL, P. et al. Virus–host interactions in hepatitis C virus infection: implications for molecular pathogenesis and antiviral strategies. **Trends in Molecular Medicine**, v. 16, n. 6, p. 277–286, 2010.

GOLEMBA, M. D. et al. High Prevalence of Hepatitis C Virus Genotype 1b Infection in a Small Town of Argentina. Phylogenetic and Bayesian Coalescent Analysis. **PLoS ONE**, v. 5, n. 1, p. e8751, 18 jan. 2010.

GONÇALES JÚNIOR, F. L. et al. Prevalências do HBsAg, do anti-HBc e do anti-HCV na população de candidatos a doadores de sangue do Hemocentro-Campinas. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 35, p. 45–51, 1993.

GONÇALVES et al. Soroprevalência de HIV - 1/2 em doadores de sangue de Goiânia-Goiás. v. 38, n. 4, p. 263–266, 2006.

GONÇALVES, P. L. et al. Detection of hepatitis C virus RNA in saliva samples from patients with seric anti-HCV antibodies. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, p. 28–34, 2005.

GONZAGA, R. M. S. et al. Distribution of Hepatitis C virus (HCV) genotypes in seropositive patients in the state of Alagoas, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 644–647, 2008.

GRETCH, D. R. Diagnostic tests for hepatitis C. **Hepatology**, v. 26, n. S3, p. 43S–47S, 1 dez. 1997.

GUIA INTERNET BRAZIL. Disponível em: <<http://www.guianet.com.br/rr/maparr.htm>>
Acesso em: 15.11.2012. Fonte: IBGE, Censo Demográfico 2010.

HAHN, J. A. et al. Hepatitis C virus risk behaviors within the partnerships of young injecting drug users. **Addiction (Abingdon, England)**, v. 105, n. 7, p. 1254–1264, jul. 2010

HAMERSCHLAK, N.; SARAIVA, J. C. P. **Hemoterapia e Doenças Infecciosas**. 1^a. ed. Barueri, SP: Manole, 2014.

HARRIS, H. E. et al. Does the clinical outcome of hepatitis C infection vary with the infecting hepatitis C virus type? **Journal of Viral Hepatitis**, v. 14, n. 3, p. 213–220, 1 mar. 2007.

HEIM, M. H. 25 years of interferon-based treatment of chronic hepatitis C: an epoch coming to an end. **Nat Rev Immunol**, v. 13, n. 7, p. 535–542, jul. 2013b

HEIM, M. H. Innate immunity and HCV. **Journal of Hepatology**, v. 58, n. 3, p. 564–574, 2013a.

HELLER, T.; REHERMANN, B. Acute Hepatitis C: A Multifaceted Disease. **Seminars in Liver Disease**, v. 25, n. 1, p. 7–17, 2005.

HORNER, S. M.; GALE JR, M. Regulation of hepatic innate immunity by hepatitis C virus. **Nat Med**, v. 19, n. 7, p. 879–888, jul. 2013.

HOWELL, J. et al. Toll-like receptors in hepatitis C infection: Implications for pathogenesis and treatment. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 28, n. 5, p. 766–776, 1 maio 2013.

HSU, M. et al. Hepatitis C virus glycoproteins mediate pH-dependent cell entry of pseudotyped retroviral particles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 12, p. 7271–7276, 10 jun. 2003

IBGE. **Censo 2010.** Disponível em:
<http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=14&dados=26#topo_piramide>.
Acesso em: 14 jan. 2015.

JASPE, R. C. et al. Prevalence of amino acid mutations in hepatitis C virus core and NS5B regions among Venezuelan viral isolates and comparison with worldwide isolates. **Virology Journal**, v. 9, p. 214–214, 2012.

JOSAHKIAN, J. A. et al. Prevalência de Inaptidão Sorológica pelo Vírus HCV em doadores de sangue no Hemocentro Regional de Uberaba (MG), Fundação Hemominas. v. 39, n. 4, p. 261–271, 2010.

KESLI, R. et al. Evaluation and Comparison of Three Different Anti-Hepatitis C Virus Antibody Tests based on Chemiluminescence and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Methods used in the Diagnosis of Hepatitis C Infections in Turkey. **Journal of International Medical Research**, v. 37, n. 5, p. 1420–1429, 1 out. 2009.

KUNIHOLM, M. H. et al. Specific human leukocyte antigen class I and II alleles associated with hepatitis C virus viremia. **Hepatology**, v. 51, n. 5, p. 1514–1522, 1 maio 2010.

KUO, G. et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. **Science**, v. 21, n. 244, p. 362–4, 1989.

KUPEK, E.; PETRY, A. Changes in the prevalence, incidence and residual risk for HIV and hepatitis C virus in Southern Brazilian blood donors since the implementation of NAT screening. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, p. 418–425, 2014.

LAMPE, E. et al. Epidemic history of Hepatitis C virus in Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, n. 7, p. 886–895, out. 2010.

LAPERCHE, S. et al. Simultaneous Detection of Hepatitis C Virus (HCV) Core Antigen and Anti-HCV Antibodies Improves the Early Detection of HCV Infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 8, p. 3877–3883, 1 ago. 2005.

LAUER, G. M.; WALKER, B. D. Hepatitis C Virus Infection. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 1, p. 41–52, 5 jul. 2001.

LEÃO, J. R.; PACE, F. H. DE L.; CHEBLI, J. M. F. Infecção pelo vírus da hepatite c em pacientes em hemodiálise: prevalência e fatores de risco. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 47, p. 28–34, 2010.

LEÃO, J. R.; PACE, F. H. DE L.; CHEBLI, J. M. F. Infecção pelo vírus da hepatite c em pacientes em hemodiálise: prevalência e fatores de risco. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 47, p. 28–34, 2010.

LI, H.-C.; LO, S.-Y. Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and treatment. **World Journal of Hepatology**, v. 7, n. 10, p. 1377–1389, 8 jun. 2015.

LI, K.; LEMON, S. M. Innate Immune Responses in Hepatitis C Virus Infection. **Seminars in immunopathology**, v. 35, n. 1, p. 53–72, jan. 2013.

LIMA, T. A. DE. **Caracterização de Mediadores Inflamatórios em Doadores de Sangue infectados com o vírus da hepatite C**. Dissertação de Mestrado—Manaus: Universidade do Estado do Amazonas, 2010.

LINS, L. et al. Detection of hepatitis C virus RNA in saliva is not related to oral health status or viral load. **Journal of Medical Virology**, v. 77, n. 2, p. 216–220, 1 out. 2005.

LOK, A. S.; GUNARATNAM, N. T. Diagnosis of hepatitis C. **Hepatology**, v. 26, n. S3, p. 48S–56S, 1 dez. 1997.

LOO, Y.-M.; GALE, M. Immune signaling by RIG-I-like receptors. **Immunity**, v. 34, n. 5, p. 680–692, 27 maio 2011.

LOPES, C. L. R. et al. Prevalência, fatores de risco e genótipos da hepatite C entre usuários de drogas. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, p. 43–50, 2009.

LOPES, M. S. S. N.; PROIETTI, A. B. F. C. HTLV-1/2 transfusional e hemovigilância: a contribuição dos estudos de look-back. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 229–240, 2008.

LUNA, M. et al. Detección de arn de virus hepatitis c en la saliva de un grupo de pacientes con hepatitis c crónica. **Acta Odontológica Venezolana**, v. 46, p. 269–272, 2008.

MAIA, L. P. V. et al. Hepatitis C virus screening and clinical monitoring of biomarkers in patients undergoing hemodialysis. **Journal of Medical Virology**, v. 81, n. 7, p. 1220–1231, 1 jul. 2009.

MAKOWSKA, Z.; HEIM, M. H. Interferon signaling in the liver during hepatitis C virus infection. **10th Joint Meeting of International Cytokine Society and International Society for Interferon and Cytokine Research**, v. 59, n. 3, p. 460–466, set. 2012.

MARCONI, A. et al. Prevalence of hepatitis C virus infection among health-care workers: A 10-year survey. **Molecular medicine reports**, v. 3, n. 4, p. 561–564, 2010.

MARTINS, T.; NARCISO-SCHIAVON, J. L.; SCHIAVON, L. DE L. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 57, p. 107–112, 2011.

MENEZES, G. B. L. et al. Hepatitis C virus quantification in serum and saliva of HCV-infected patients. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 680–683, 2012.

MICALLEF, J. M.; KALDOR, J. M.; DORE, G. J. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 13, n. 1, p. 34–41, 1 jan. 2006.

MOHD HANAFIAH, K. et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. **Hepatology**, v. 57, n. 4, p. 1333–1342, 1 abr. 2013.

MONTELLA, M. et al. An assessment of hepatitis C virus infection among health-care workers of the National Cancer Institute of Naples, Southern Italy. **The European Journal of Public Health**, v. 15, n. 5, p. 467–469, 12 out. 2005.

MORA, M. V. A. et al. Molecular characterization, distribution, and dynamics of hepatitis C virus genotypes in blood donors in Colombia. **Journal of Medical Virology**, v. 82, n. 11, p. 1889–1898, 1 nov. 2010.

MORADPOUR, D.; BLUM, H. E. A primer on the molecular virology of hepatitis C. **Liver International**, v. 24, n. 6, p. 519–525, 1 dez. 2004.

MORADPOUR, D.; PENIN, F.; RICE, C. M. Replication of hepatitis C virus. **Nat Rev Micro**, v. 5, n. 6, p. 453–463, jun. 2007.

MURPHY, D. G. et al. Hepatitis C Virus Genotype 7, a New Genotype Originating from Central Africa. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 3, p. 967–972, 1 mar. 2015.

MURPHY, D. G. et al. Use of Sequence Analysis of the NS5B Region for Routine Genotyping of Hepatitis C Virus with Reference to C/E1 and 5' Untranslated Region Sequences. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 1102–1112, 1 abr. 2007.

NEUMANN-HAEFELIN, C.; THIMME, R. Success and Failure of Virus-Specific T Cell Responses in Hepatitis C Virus Infection. **Digestive Diseases**, v. 29, n. 4, p. 416–422, 2011.

NEWMAN, R. M. et al. Whole Genome Pyrosequencing of Rare Hepatitis C Virus Genotypes Enhances Subtype Classification and Identification of Naturally Occurring Drug Resistance Variants. **Journal of Infectious Diseases**, v. 208, n. 1, p. 17–31, 1 jul. 2013.

OLIVEIRA, A. G. DE et al. A importância da tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos para a detecção do vírus da hepatite C em bancos de sangue. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações**, v. 10, n. 1, p. 313–328, 2012.

OLIVEIRA-FILHO, A. B. et al. Prevalence and genotyping of hepatitis C virus in blood donors in the state of Pará, Northern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 103–106, 2010.

PARABONI, M. L. R. et al. Risk Factors for Infection with Different Hepatitis C Virus Genotypes in Southern Brazil. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 946954, 2012.

PAWLOTSKY, J. M. et al. Serological determination of hepatitis C virus genotype: comparison with a standardized genotyping assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 7, p. 1734–1739, jul. 1997.

PAWLOTSKY, J. M. et al. Significance of indeterminate third-generation hepatitis C virus recombinant immunoblot assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 80–83, 1 jan. 1996.

PAWLOTSKY, J.; CHEVALIEZ, S.; MCHUTCHISON, J. G. The Hepatitis C Virus Life Cycle as a Target for New Antiviral Therapies. **Gastroenterology**, v. 132, n. 5, p. 1979–1998, 2007.

PAWLOTSKY, J.-M. More sensitive hepatitis C virus RNA detection: What for? **Journal of Hepatology**, v. 52, n. 6, p. 783–785, 2010.

PEREIRA, F. M.; BERTOLLO, L. A.; ZARIFE, M. Comparison of two automated chemiluminescence tests for the detection of antibodies against the hepatitis C virus. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 1, p. 17–21, 2010

PEZACKI, J. P.; SINGARAVELU, R.; LYN, R. K. Host-virus interactions during hepatitis C virus infection: a complex and dynamic molecular biosystem. **Molecular BioSystems**, v. 6, n. 7, p. 1131–1142, 2010.

PICCHIO, G. R. et al. High prevalence of infection with a single hepatitis C virus genotype in a small rural community of Argentina. **Liver International**, v. 26, n. 6, p. 660–665, 1 ago. 2006.

POZZOBON, R. C. R.; BECK, S. T.; CECCIM, A. D. F. Desempenho de um método para detecção simultânea de antígenos e anticorpos para o vírus da Hepatite C em doadores de sangue. **RBAC**, v. 43, n. 1, p. 003–006, 2011.

RAMOS, V. F.; FERRAZ, F. N. Perfil epidemiológico dos doadores de sangue do Hemonúcleo de Campo Mourão-PR no ano de 2008. v. 5, n. 2, p. 14–21, 2010.

RAUCH, A. et al. Genetic Variation in IL28B Is Associated With Chronic Hepatitis C and Treatment Failure: A Genome-Wide Association Study. **Gastroenterology**, v. 138, n. 4, p. 1338–1345.e7, abr. 2010.

REHERMANN, B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. **Nat Med**, v. 19, n. 7, p. 859–868, jul. 2013.

REICHE, E. M. V. et al. Evaluation of surrogate markers for human immunodeficiency virus infection among blood donors at the blood bank of “Hospital Universitário Regional Norte do Paraná”, Londrina, PR, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, p. 23–27, 2003.

ROSS, R. S. et al. Analytical Performance Characteristics and Clinical Utility of a Novel Assay for Total Hepatitis C Virus Core Antigen Quantification. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 1161–1168, 1 abr. 2010.

SAEED, A. et al. Mannan binding lectin-associated serine protease 1 is induced by hepatitis C virus infection and activates human hepatic stellate cells. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 174, n. 2, p. 265–273, nov. 2013.

SALLES, N. A. et al. Descarte de bolsas de sangue e prevalência de doenças infecciosas em doadores de sangue da Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 13, p. 111–116, 2003.

SATO, K. et al. Expression of Toll-like receptors in chronic hepatitis C virus infection. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 22, n. 10, p. 1627–1632, 1 out. 2007.

SCHMUNIS, G. A. et al. Prevention of Blood-borne Diseases in Bolivia, 1993–2002. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 5, p. 803–808, 1 nov. 2008.

Secretaria Municipal de Economia, Planejamento e Finanças (SEPF). Prefeitura Municipal de Boa Vista (PMBV). **Divisão das Macro Áreas dos Serviços de Saúde de Boa Vista**. Junho de 2014.

SEEFF, L. B. The history of the “natural history” of hepatitis C(1968–2009). **Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver**, v. 29, n. 0 1, p. 89–99, jan. 2009.

SHARMA, S. D. Hepatitis C virus: Molecular biology & current therapeutic options. **Indian Journal of Medical Research**, v. 131, p. 17–34, 2010.

SHINOL, R. C.; GALE, H. B.; KAN, V. L. Performance of the Abbott RealTime HCV Genotype II RUO Assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 9, p. 3099–3101, 1 set. 2012.

SILVA, K. L. T. **Caracterização sorológica e molecular da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em doadores de sangue do Estado do Amazonas**. Tese de doutorado—São Paulo: Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, 2008.

SIMMONDS, P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus – 15 years on. **Journal of General Virology**, v. 85, p. 3178–3188, 2004.

SINAN NET. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação**. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/index.php>>. Acesso em: 15 jul. 2015.

SMITH, D. B. et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource. **Hepatology**, v. 59, n. 1, p. 318–327, 1 jan. 2014.

SOUTO, F. J. D. et al. Immunoblot as a supplemental test to detect antibodies to hepatitis C virus in blood donors. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p. 69–71, 2002.

STASI, C. et al. The epidemiological changes of HCV and HBV infections in the era of new antiviral therapies and the anti-HBV vaccine. **Journal of Infection and Public Health**, n. 0, 2015.

STRAHOTIN, C. S.; BABICH, M. Hepatitis C Variability, Patterns of Resistance, and Impact on Therapy. **Advances in Virology**, v. 2012, p. 267483, 2012.

STRAMER, S. L. et al. Detection of HIV-1 and HCV Infections among Antibody-Negative Blood Donors by Nucleic Acid–Amplification Testing. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 8, p. 760–768, 19 ago. 2004.

STRAUSS, E. Hepatite C. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 69–82, 2001.

SULBARÁN, M. Z. et al. Genetic History of Hepatitis C Virus in Venezuela: High Diversity and Long Time of Evolution of HCV Genotype 2. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12, p. e14315, 13 dez. 2010.

TERILLI, R. R.; COX, A. L. Immunity and Hepatitis C: A Review. **Current HIV/AIDS reports**, v. 10, n. 1, p. 51–58, mar. 2013.

THIMME ROBERT et al. Adaptive immune responses to hepatitis C virus: from viral immunobiology to a vaccine. **Biological Chemistry**, v. 389, n. 5, p. 457, 2008.

THOMAS, D. L.; SEEFF, L. B. Natural History of Hepatitis C. **Hepatitis C Virus**, v. 9, n. 3, p. 383–398, ago. 2005.

TORRES, K. L. et al. Hepatitis C Virus in Blood Donors, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 4, p. 676–678, abr. 2009.

VALENTE, V. B.; COVAS, D. T.; PASSOS, A. D. C. Marcadores sorológicos das hepatites B e C em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 488–492, 2005.

VALOIS, R. C. et al. HCV infection through perforating and cutting material among candidates for blood donation in Belém, Brazilian Amazon. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, p. 511–515, 2014.

VERBEECK, J. et al. Evaluation of Versant Hepatitis C Virus Genotype Assay (LiPA) 2.0. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 6, p. 1901–1906, jun. 2008.

VIDALES-BRAZ, B. M. et al. Detection of hepatitis C virus in patients with terminal renal disease undergoing dialysis in southern Brazil: prevalence, risk factors, genotypes, and viral load dynamics in hemodialysis patients. **Virology Journal**, v. 12, p. 8, 2015.

VIEIRA, D. S. et al. Distribution of hepatitis c virus (hcv) genotypes in patients with chronic infection from Rondônia, Brazil. **Virology Journal**, v. 8, p. 165–165, 2011.

VON HAHN, T. et al. Hepatitis C Virus Continuously Escapes From Neutralizing Antibody and T-Cell Responses During Chronic Infection In Vivo. **Gastroenterology**, v. 132, n. 2, p. 667–678, fev. 2007.

VRIELINK, H. et al. Look-Back of Anti-HCV ELISA-Positive, HCV-RNA PCR-Negative Donors and Recipients of Their Blood Products. **Vox Sanguinis**, v. 72, n. 2, p. 67–70, 1 fev. 1997.

ZEISEL, M. B. et al. Hepatitis C virus entry into hepatocytes: Molecular mechanisms and targets for antiviral therapies. **Journal of Hepatology**, v. 54, n. 3, p. 566–576, 2011.

ŻEROMSKI, J. et al. NK Cells Prevalence, Subsets and Function in Viral Hepatitis C. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 59, n. 6, p. 449–455, 1 dez. 2011.

ZOU, S. et al. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. **Transfusion**, v. 50, n. 7, p. 1495–1504, 1 jul. 2010.

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – HEMOAM

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DO VÍRUS DA HEPATITE C (HCV) EM CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE DO HEMOCENTRO DE

Pesquisador: Iaci Gama Fortes

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 18465613.6.0000.0009

Instituição Proponente: Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMOAM

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 470.374

Data da Relatoria: 15/09/2013

Apresentação do Projeto:

CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DO VÍRUS DA HEPATITE C (HCV) EM CANDIDATOS À

DOAÇÃO DE SANGUE DO HEMOCENTRO DE RORAIMA.

Projeto de mestrado que será realizado na Fundação Hemoam. As amostras serão coletadas no Hemocentro de Roraima de candidatos à doação de sangue que apresentarem sorologia reativa para o vírus da hepatite C. Será realizada a genotipagem e relacionada com a epidemiologia mundial e brasileira, bem como a relação entre os resultados da triagem sorológica.

Objetivo da Pesquisa:

Traçar o perfil epidemiológico do vírus da hepatite C (HCV) em candidatos à doação de sangue do Hemocentro de Roraima

Objetivo Secundário:

1. Relacionar o perfil sorológico dos testes de triagem com o genótipo viral encontrado. 2. Descrever a prevalência dos diferentes genótipos do vírus

HCV encontrados em candidatos à doação de sangue do Hemocentro de Roraima.

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3855-0113 Fax: (92)3855-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO



Continuação do Parecer: 470.374

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não existem riscos associados à sua participação neste estudo. No momento da coleta de sangue poderá haver alguma dor decorrente da picada da agulha na pele. Complicações de coleta de sangue são raras e geralmente de pequeno porte. Caso haja perda de sangue da veia no local da punção poderá ocorrer um pequeno desconforto que desaparecerá em poucos dias.

Benefícios: O participante terá como benefício o resultado da genotipagem e o mesmo poderá solicitá-la mediante contato com a equipe do projeto. O estudo, contudo, proporcionará maiores esclarecimentos sobre a prevenção e infecção pelo vírus da hepatite C e sua epidemiologia.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto importante por se tratar de um problema de saúde pública.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos apresentados estão adequados.

Recomendações:

Não há recomendação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

MANAUS, 27 de Novembro de 2013

Assinador por:
Eliisa Broelma de Leon
(Coordenador)

Endereço: Av. Constantino Nery 4307 BLD Dr. Ena Paes
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0113 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoem.am.gov.br

ANEXO B – DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA HEMORAIMA

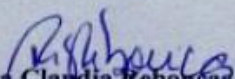
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
CENTRO DE HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO ESTADO DE RORAIMA

DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA

Declaramos que a senhora **IACI GAMA FORTES**, está autorizada a executar as atividades de pesquisa junto a este Hemocentro para o estudo de mestrado do programa de pós-graduação em imunologia básica e aplicada-UFAM, com título de Caracterização Epidemiológica e Molecular do Virus da hepatite C (HCV) em candidatos á doação de sangue do Hemocentro de Roraima, orientanda pela Dra Adriana Malheiro.

HEMORAIMA
HEMOCENTRO DE RORAIMA

Boa Vista-RR, 03 de Junho de 2013.


Regina Claudia Rebouças Mendes Alho
Diretora Geral do Hemoraima/SESAU

Av. Brig. Eduardo Gomes, 3418 - Campus do Paricarana

Tel.: 095-2121-0859 / Fax: 095-2121-0860

CEP 69310-005 - Boa Vista - RR

Email: hemoraima@yahoo.com.br

ANEXO C – DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA HEMOAM**CARTA DE ANUÊNCIA**

Declaramos para os devidos fins que a mestrandia Iaci Gama Fortes do Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada – UFAM, orientada pela Profª Dra. Adriana Malheiro poderá realizar suas atividades de pesquisa do estudo intitulado “Caracterização Epidemiológica e Molecular do Vírus da Hepatite C (HCV) em Candidatos à Doação de Sangue do Hemocentro de Roraima” na Fundação Hemoam.

NELSON ABRAHIM FRAIJI
Diretor Presidente da Fundação de
Hematologia e Hemoterapia do Amazonas

ANEXO D – DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA UFRR



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA- UFRR
CENTRO DE ESTUDOS DA BIODIVERSIDADE- CBio
LABORATORIO DE BIOLOGIA MOLECULAR- LaBMol

Boa Vista (RR), 30 de dezembro de 2013.

TERMO DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins que estamos de acordo com a execução do projeto de pesquisa intitulado “Caracterização Epidemiológica e Molecular do Vírus da Hepatite C em Candidatos e Doação de Sangue do Hemocentro de Roraima” sob coordenação e responsabilidade da Prof^ª Dra. Adriana Malheiro e aluna de mestrado **Iaci Gama Fortes**, do Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, o qual terá apoio deste Laboratório de Biologia Molecular.

Prof.^ª Dra. Fabiana Granja
Laboratório de Biologia Molecular
Centro de Estudos da Biodiversidade - UFRR
Matrícula SIAPE nº1719056/ UFRR

ANEXO E – DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA UFAM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA



Of. 133/2013 PPGIBA

Manaus, 20 de maio 2013.

TERMO DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins que estamos de acordo com a execução do projeto de pesquisa intitulado "Caracterização Epidemiológica e Molecular do Vírus da Hepatite C (Hcv) em Candidatos à Doação de Sangue do Hemocentro de Roraima", sob a coordenação e a responsabilidade da Prof^a Dra. Adriana Malheiro e aluna de mestrado Iaci Gama Fortes, do Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, o qual terá o apoio desta Instituição.

Atenciosamente

Professor Doutor Luiz Fernando de Souza Passos
Coordenador em exercício do PPGIBA
Instituto de Ciências Biológicas - UFAM
e-mail: imunologia@ufam.edu.br

ANEXO F – FICHA DE SOLICITAÇÃO PARA ANÁLISE MOLECULAR PARA HEPATITE C



Ministério
da
Saúde



Estado de Roraima
Secretaria de Estado da Saúde
Coordenação Geral de Vigilância e em Saúde
Laboratório Central de Saúde Pública



FICHA DE SOLICITAÇÃO			
ANÁLISE MOLECULAR DOS VÍRUS DAS HEPATITES B (HBV) E C (HCV)			
IDENTIFICAÇÃO DO ESTABELECIMENTO DE SAÚDE (SOLICITANTE)			
MUNICÍPIO	ESTABELECIMENTO DE SAÚDE		
DADOS DO PACIENTE			
NOME DO PACIENTE			Nº DE NOTIFICAÇÃO
CARTÃO NACIONAL DE SAÚDE (SUS)	DATA DE NASCIMENTO ____/____/____	SEXO	RAÇA
NOME DA MÃE			TELEFONE ()
ENDEREÇO (Rua, nº, Bairro)			
MUNICÍPIO DE RESIDÊNCIA		UF	CEP
SELECIONAR PROCEDIMENTO			
<input type="radio"/>	CÓDIGO DO PROCEDIMENTO 0213010208	NOME DO PROCEDIMENTO Quantificação do DNA do vírus da hepatite B (HBV-DNA)	
<input type="radio"/>	CÓDIGO DO PROCEDIMENTO 020203108-0	NOME DO PROCEDIMENTO Quantificação do RNA do vírus da Hepatite C (HCV-RNA)	
<input type="radio"/>	CÓDIGO DO PROCEDIMENTO 020203021-0	NOME DO PROCEDIMENTO Genotipagem do vírus da Hepatite C	
JUSTIFICATIVA DO PROCEDIMENTO			
<input type="radio"/>	Suspeita de Hepatite B Oculta	<input type="radio"/>	Avaliar indicação de tratamento
<input type="radio"/>	Confirmação de diagnóstico	<input type="radio"/>	Falha ou troca terapêutica
<input type="radio"/>	Avaliação após tratamento. Qual período? _____	<input type="radio"/>	Monitorar o tratamento. Qual semana? _____
<input type="radio"/>		<input type="radio"/>	Retratamento
DADOS COMPLEMENTARES			
Paciente <input type="radio"/> Cirrótico <input type="radio"/> Não cirrótico <input type="radio"/> Ignorado		ALT (alanina transferase) <input type="radio"/> Normal <input type="radio"/> Alterada <input type="radio"/> Ignorado	Biópsia <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não Resultado: _____
Antiviral/Data do início (mês/ano)			
<input type="radio"/>	Lamivudina ____/____	<input type="radio"/>	Adefovir ____/____
<input type="radio"/>	Boceprevir ____/____	<input type="radio"/>	Entecavir ____/____
<input type="radio"/>	Interferon Convencional ____/____	<input type="radio"/>	Tenofovir ____/____
<input type="radio"/>		<input type="radio"/>	Rivavirina ____/____
<input type="radio"/>		<input type="radio"/>	Interferon Peguilado ____/____
DADOS DA SOLICITAÇÃO			
NOME DO MÉDICO		ASSINATURA E CARIMBO DO MÉDICO	
DATA DA SOLICITAÇÃO	TELEFONE		
DADOS DA COLETA DA AMOSTRA			
LOCAL DA COLETA	DATA DA COLETA ____/____/____	HORA DA COLETA ____:____	RESPONSÁVEL PELA COLETA

LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA – LACEN
Av. Brigadeiro Eduardo Gomes, Nº 3510, Bairro Aeroporto, CEP: 69.310.005
Tel/Fax: (85) 3623-2407, Boa Vista – Roraima- Brasil
E-mail: lacen_rr@yahoo.com.br, lacen_secretaria@saude.rr.gov.br

APÊNDICE A- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do estudo: Caracterização Epidemiológica e Molecular do Vírus da Hepatite C (HCV) em Candidatos à Doação de Sangue do Hemocentro de Roraima

Objetivo: Investigar quais os genótipos da hepatite C que predominam na região de Roraima.

Amostra: Neste estudo será coletada amostra de 10 mL de sangue para serem realizados testes para verificar a presença do vírus. Os testes serão realizados no HEMOAM (Manaus-AM).

Riscos: Não existem riscos associados à sua participação neste estudo. No momento da coleta de sangue poderá haver alguma dor decorrente da picada da agulha na pele. Complicações de coleta de sangue são raras e geralmente de pequeno porte. Caso haja perda de sangue da veia no local da punção poderá ocorrer um pequeno desconforto que desaparecerá em poucos dias.

Benefícios: O participante terá como benefício o resultado da genotipagem e o mesmo poderá solicitá-la mediante contato com a equipe do projeto. O estudo, contudo, proporcionará maiores esclarecimentos sobre a prevenção e infecção pelo vírus da hepatite C e sua epidemiologia.

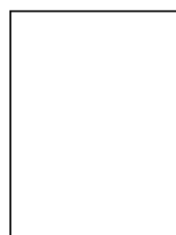
Sendo o senhor(a) participante deste estudo terá, sempre que necessário, esclarecimentos de dúvidas, acompanhamento clínico e laboratorial no que diz respeito à doença em estudo, podendo entrar em contato com Dr^a Adriana Malheiro (HEMOAM Tel: (92) 3655-0111) e Iaci Fortes pelo tel: (95) 9174-9826. Sempre que necessário será prestada orientação médica adequada ou encaminhamentos necessários, feitos pela equipe do Hemocentro. A sua participação neste estudo é voluntária. O senhor(a) pode retirar sua participação a qualquer momento, o senhor(a) não terá qualquer tipo de prejuízo para o seu atendimento dentro da Instituição. Os dados referentes à sua participação neste estudo permanecerão confidenciais, não sendo divulgados de forma a declarar a sua identidade. O sangue coletado (10 mL) será utilizado para o que se propõe neste estudo.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO: Após ter recebido informações claras, eu concordo com minha participação no estudo. O Sr.(a) autoriza que o seu sangue seja guardado para pesquisas futuras relacionadas ao vírus da hepatite C? () sim ou () não,

Boa Vista(RR), ____ de _____ 20____.

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador



(Impressão dactiloscópica)

APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

Título do estudo: Caracterização Epidemiológica e Molecular do Vírus da Hepatite C (HCV) em Candidatos à Doação de Sangue do Hemocentro de Roraima.

Dados Pessoais:

Nº de identificação _____

Iniciais do doador: _____

Endereço (bairro e município): _____

Data de nascimento: ___/___/____. Sexo: F () M ()

Estrangeiro ou dupla nacionalidade (especificar país): _____

Data da doação ___/___/____. Número da bolsa: _____

Dados Epidemiológicos

Primeira doação: Sim Não

Quando foi a última doação? _____

Estado Civil:	
Casado	<input type="checkbox"/>
Solteiro	<input type="checkbox"/>
Viúvo	<input type="checkbox"/>
Divorciado	<input type="checkbox"/>
Outros	<input type="checkbox"/>

Já trabalhou em:	
Hospitais	<input type="checkbox"/>
Clínicas médicas	<input type="checkbox"/>
Unidade de diálise	<input type="checkbox"/>
Laboratório	<input type="checkbox"/>
Consultório dentário	<input type="checkbox"/>
Afins	<input type="checkbox"/>
Outros (sem contato com material biológico)	<input type="checkbox"/>

Responder:

	Sim	Não
Qual profissão?		
Já teve hepatite?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alguém da família já teve hepatite?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já fez cirurgia ou já extraiu dente? Quando? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Faz ou fez uso de drogas injetáveis / inaláveis?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Possui tatuagem ou piercing?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Utiliza terapia por acupuntura?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Faz uso de bebidas alcoólicas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já fez exame de endoscopia? Quando? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já precisou receber transfusão de sangue / hemoderivados? Quando? _____ Por que? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já compartilhou aparelho de barbear, escova de dente, entre outros objetos de higiene?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já sofreu acidente com material biológico?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Múltiplos parceiros (sem uso de preservativo)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Já fez ou faz sexo anal ou oral (sem uso de preservativo)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Observações: _____

Responsável pelo preenchimento: _____

Data: ___/___/____.

APÊNDICE C – ARTIGO 1

“PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS DOADORES DE SANGUE QUE APRESENTARAM SOROLOGIA POSITIVA OU INDETERMINADA PARA O ANTI-HCV NO PERÍODO DE 2009 À 2013 NO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE RORAIMA”

Iaci Gama Fortes ^{1,2} Regina Cláudia Rebouças Mendes Alho ^{2,5} Andrea MonteiroTarragô^{1,4}
Fabiana Granja ³ Suelen Belo ⁵ Adriana Malheiro ^{1,4}

1 Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada - Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus-AM, Brasil;

2 Programa de Pós- Graduação em Hematologia – Universidade Estadual do Amazonas – UEA, Manaus-AM, Brasil;

3 Centro de Estudos da Biodiversidade – Universidade Federal de Roraima – UFRR, Boa Vista-RR, Brasil;

4 Departamento de Ensino e Pesquisa, Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas-Hemoam, Manaus-AM, Brasil

5 Centro de Hematologia e Hemoterapia de Roraima – HEMORAIMA, Boa Vista-RR, Brasil.

Endereço para correspondência: Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada - Universidade Federal do Amazonas – UFAM. Av. Rodrigo Otávio, 6200 – Coroado. CEP 690700-000. Manaus – AM, Brasil. Campus Universitário, Setor Sul, Prédio das Pós-Graduações do ICB/FCA – BIOAGRO.

Telefone:55 92 9181-1422, 991149478

E-mail: malheiroadriana@yahoo.com.br

Instituições financeiras: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM).

RESUMO

Introdução: A infecção pela hepatite C é considerada problema de saúde pública e diversos estudos tem demonstrado o perfil de candidatos a doação de sangue possivelmente infectados pelo vírus da hepatite C. Na região de Roraima dados sobre perfil epidemiológico entre doadores de sangue, exclusivamente aqueles que apresentaram Hepatite C são quase inexistentes, por isso o objetivo do estudo foi traçar o perfil epidemiológico em candidatos a doação de sangue que apresentaram sorologia positiva ou indeterminada para o marcador anti-HCV. **Métodos:** estudo descritivo, observacional realizado no Centro de Hematologia e Hemorapia de Roraima em doadores de sangue que apresentaram sorologia positiva ou indeterminada para anti-HCV no período de 2009 à 2013. Foram investigadas informações sobre classificação ABO/RH, idade, gênero, estado civil, escolaridade, procedência, tipo de doação e tipo de doador e calculada as frequências de cada variável. **Resultados:** Foram identificados 490 doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado. Destes, a maioria do tipo O (60,8%), Rh positivo (90,2%), entre 18 à 29 anos (54,9%), do gênero masculino (67,7%) e solteiros (58,4%). Cerca de 59,6% pertenciam ao ensino médio, 96,7% eram provenientes da capital Boa Vista, de doações espontâneas (46,1%) e doadores de primeira vez (39,4%). A prevalência encontrada para o anti-HCV no período estudado foi de 0,87%. **Conclusão:** A prevalência de doadores de sangue anti-HCV positivo/indeterminado no Hemoraima foi maior entre os homens, solteiros, com idade entre 18-29 anos e procedentes da capital nos últimos 5 anos. Estes resultados podem contribuir para estabelecer estratégias pontuais para atingir outros grupos de pessoas aptas a doar sangue.

Palavras-chave: soroprevalência; anti-HCV; doador de sangue; Roraima.

INTRODUÇÃO

As estimativas apontam que a prevalência global da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) varia em torno de 2% a 3%, ou seja, entre 123-170 milhões de pessoas são infectadas pelo HCV em todo mundo e todos os anos morrem mais de 350.000 pessoas de doenças hepáticas relacionadas ao HCV. A hepatite C é considerada um importante problema de saúde pública da atualidade, pois cerca de 60 a 75% dos indivíduos infectados são assintomáticos (GARCIA et al., 2009; JOSAHKIAN et al., 2010). Aproximadamente 15-45% das pessoas infectadas eliminam o vírus espontaneamente dentro em um prazo de seis meses, sem necessidade de tratamento algum. O restante 55-85% das pessoas, entretanto, desenvolvem a infecção crônica. Destas, 15-30% correm risco de cirrose hepática em um prazo de 20 anos. Sendo também, a hepatite C é a principal causa de fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular, e também o principal indicador de transplante de fígado (OPAS, 2014; WHO, 2014; STASI et al., 2015).

O vírus da hepatite C (HCV) representa o gênero *Hepacivirus* incluído na família *Flaviviridae*, descoberto no final da década de 80, responsável pelas hepatites pós transfusionais não-A e não-B (CHOO et al., 1989). Estudos filogenéticos evidenciam que existem sete genótipos e aproximadamente 67 subtipos têm sido identificados, os quais apresentam diferença na resposta ao tratamento antiviral, bem como uma distribuição geográfica distinta. Os genótipos são divididos por números, exemplo: de 1 à 6, enquanto que os subtipos são representados por letras: a, b, c e assim por diante (CHAYAMA; HAYES, 2011; SMITH et al., 2014).

A infecção pelo HCV apresenta como fatores de risco para a transmissão a transfusão de hemoderivados, uso de drogas intravenosas, transplante de órgãos, hemodiálise, transmissão vertical, exposição sexual, exposição ocupacional por meio de objetos contaminados e o compartilhamento de itens de higiene pessoais caracterizando a transmissão intrafamiliar (CAVALHEIRO et al., 2009; COTTRELL et al., 2013; MARTINS; NARCISO-SCHIAVON; SCHIAVON, 2011).

Em bancos de sangue a triagem sorológica para a hepatite C em doadores de sangue tornou-se obrigatória a partir de 1993 com a detecção do anti-HCV (anticorpo contra o HCV) e recentemente, a Portaria nº 2712/2013 e RDC nº 34/2014 reforçou a implementação da pesquisa para detecção do RNA do vírus por meio do NAT (teste de ácidos nucleicos) (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014).

A prevalência do HCV em doadores de sangue em diversos estudos está representada pela ocorrência de casos positivos/inconclusivos do marcado anti-HCV e muitas vezes com a confirmação por testes suplementares e/ou detecção de RNA-HCV. Em doadores de sangue já foi descrito na região Norte prevalências que variam entre 0,28 a 0,4% (SILVA, 2008; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010, LIMA, 2011), enquanto que na região sudeste 0,3 a 0,4% (GONCALVES et al, 2006; GARCIA et al, 2008;) e na região sul 0,56% (REICHE et al., 2003). Em 2011, de acordo com o 2º Boletim Nacional de Produção Hemoterápica, a soroprevalência do HCV em doadores de sangue foi descrita em 0,32% para o Brasil e 0,22% para região norte. No ano posterior, em 2012, Roraima não divulgou as informações de produção hemoterápica, evidenciando uma lacuna destas informações (BRASIL, 2012).

Embora a população de doadores de sangue seja submetida a triagem clínica e sorológica com direito a voto de autoexclusão, existe a porcentagem (cerca de 20% dos casos) daqueles que omitem informações durante a triagem inicial ou são assintomáticos, o que dificulta a investigação na triagem clínica, e aleatoriamente durante a doação voluntária de sangue descobrem a infecção (GARCIA et al., 2009; SILVEIRA et al., 2011).

A importância do conhecimento do perfil de doadores de sangue e a prevalência da hepatite C, bem como os fatores de risco para a exposição à infecção na população brasileira são necessários para que as medidas de controle e a alocação de recursos para combate à infecção pelo HCV sejam implantadas corretamente, pois ainda não há vacina para a doença (MARTINS; NARCISO-SCHIAVON; SCHIAVON, 2011).

Tendo em vista a falta de estudos recentes realizados na região de Roraima, o objetivo do presente estudo foi traçar o perfil epidemiológico dos doadores de sangue que apresentaram sorologia positiva ou indeterminada para o anti-HCV no período de 2009 à 2013 em candidatos à doação de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Roraima – HEMORAIMA.

MÉTODOS

Estudo descritivo, observacional para identificação do perfil epidemiológico da infecção pelo vírus HCV em candidatos a doação sangue do Hemoraima.

O Estado de Roraima abrange uma área de 224.301,040 km², possuindo 450.479 mil habitantes e apresenta 15 municípios (Alto Alegre, Amajari, Bonfim, Cantá, Boa Vista, Caracaraí, Caroebe, Iracema, Mucajaí, Normandia, Pacaraima, Rorainópolis, São João da

Baliza, São Luiz, Uiramutã). Este faz divisa com os países da República Cooperativa da Guiana, também conhecida como Guiana Inglesa e República Bolivariana da *Venezuela*. E entre os Estados, o Amazonas e Pará. Tem como capital Boa Vista, a qual representa 63,1% da população total do Estado, onde está localizado o Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Roraima – HEMORAIMA (IBGE, 2010).

O Hemoraima é referência no Estado e o único centro de doação de sangue, processamento e distribuição responsável pelo abastecimento de hemocomponentes das unidades de pronto atendimento, hospitais públicos e particulares e outras unidades de saúde que necessitam de hemocomponentes.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemoam em 27 novembro de 2013 nº CAAE: 18465613.6.0000.0009.

No Hemoraima são atendidos anualmente cerca de 11.262 doadores de sangue referentes a todo o Estado, sendo que a maioria destes são provenientes da capital de Boa Vista-RR. O foco do estudo são candidatos a doação de sangue cadastrados na unidade do Hemoraima que apresentaram sorologia positiva ou indeterminada para o anti-HCV no período de 2009 à 2013 (cinco anos), para dados complementares foi utilizado o Sistema de Informação Hemovida - Sistema de Gerenciamento em Serviços de Hemoterapia. Foram inclusos doadores que apresentaram sorologia positiva ou indeterminada para o anti-HCV nos testes sorológicos, ambos os sexos e entre 18 e 65 anos. Foram excluídos do estudos aqueles que não apresentaram sorologia reativa ou indeterminado para anti-HCV no banco de dados. As variáveis investigadas foram: classificação ABO/Rh; idade, gênero, estado civil, escolaridade, procedência, tipo de doação, tipo de doador, sendo que a idade foi calculada de acordo com a data de atendimento do doador. A classificação do tipo de doação foi adotada semelhante ao que classifica o Sistema Hemovida. A classificação quanto ao tipo de doador foi estabelecida de acordo com a Portaria nº 2.712 de 12 de novembro de 2013 a saber: doador de primeira vez é aquele indivíduo que doa pela primeira vez naquele serviço de hemoterapia; doador de repetição é aquele que realiza duas ou mais doações no período de 12 (doze) meses; doador esporádico é aquele que repete a doação após intervalo superior a 12 (doze) meses da última doação. Para a variável procedência, foi investigado a localização de residência do doador descrito no sistema e classificada a procedência. Aqueles que não apresentaram residência em Boa Vista foram descritos como procedentes do interior.

RESULTADOS

Perfil epidemiológico dos candidatos a doação de sangue que apresentaram sorologia positiva ou indeterminada para anti-HCV

Um total de 490 doadores apresentaram sorologia positiva ou indeterminada para o anti-HCV no período de 2009 à 2013. Evidenciou-se que a maioria destes doadores pertenciam ao grupo sanguíneo O (60,8%) e ao fator RhD positivo (90,2%). Indivíduos do grupo AB e Rh negativo foram os que apresentaram menor porcentagem de 3,1% e 9,8% respectivamente (Tabela 1).

A maioria dos doadores encontraram-se na faixa etária de idade entre 18 à 29 anos (54,9%). Os doadores com 30 anos ou acima desta idade, a porcentagem ficou em torno de 45,1%. O gênero masculino apresentou maior prevalência com 67,6% enquanto que o feminino apresentou 32,4%. Com relação ao estado civil, os indivíduos solteiros obtiveram 58,4% seguido dos indivíduos casados com 37,1%. Quanto a escolaridade, 59,6% dos candidatos a doação de sangue foram classificados na classe de ensino médio completo ou incompleto, seguido daqueles que estavam no ensino superior completo ou incompleto com 28,8% e apenas 11,4% declararam ter ou estar cursando ensino fundamental (Tabela 1).

Cerca de 96,7% dos candidatos a doação de sangue eram provenientes da capital. Apenas 3,3% foram procedentes de outras cidades do interior do Estado de Roraima.

Tabela 1 – Perfil de doadores de sangue que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado no período de 2009 à 2013 quanto a classificação ABO/Rh, idade, gênero, estado civil, escolaridade e procedência.

ANO	2009 (n=82)	2010 (n=160)	2011 (n=86)	2012 (n=120)	2013 (n=42)	TOTAL (n=490)
VARIÁVEIS	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
ABO						
A	29(35,4)	41 (25,6)	27 (31,4)	27 (22,5)	8 (19)	132 (26,9)
B	1 (1,2)	18 (11,3)	10 (11,6)	11 (9,2)	5 (11,9)	45 (9,2)
O	50 (61)	96 (60)	49 (57)	76 (63,3)	27 (64,3)	298 (60,8)
AB	2 (2,4)	5 (3,1)	0	6 (5)	2 (4,8)	15 (3,1)
RhD						
Positivo	69 (84,1)	149 (93,1)	81 (94,2)	106 (88,3)	37 (88,1)	442 (90,2)
Negativo	13 (15,9)	11 (6,9)	5 (5,8)	14 (11,7)	5 (11,9)	48 (9,8)
Idade (anos)						
18 – 29	45 (54,9)	92 (57,5)	49 (57)	65 (54,2)	18 (42,9)	269 (54,9)
≥ 30	37 (45,1)	68 (42,5)	37 (43)	55 (45,8)	24 (57,1)	221 (45,1)
Gênero						
Masculino	61 (74,4)	105 (65,6)	61 (70,9)	78 (65)	26 (61,9)	331 (67,6)
Feminino	21 (25,6)	55 (34,4)	25 (29,1)	42 (35)	16 (38,1)	159 (32,4)
Estado civil						
Solteiro	49 (59,8)	85 (53,1)	50 (58,1)	76 (63,3)	26 (61,9)	286 (58,4)
Casado	32 (39)	73 (45,6)	34 (39,5)	29 (24,2)	14 (33,3)	182 (37,1)
Viúvo	1 (1,1)	0	0	0	0	1 (0,2)

Divorciado	0	1 (0,6)	2 (2,3)	1 (0,8)	2 (4,8)	6 (1,2)
NR*	0	1 (0,6)	0	0	0	1 (0,2)
Escolaridade						
Ens. Fundamental	10 (12,2)	25 (15,6)	8 (9,3)	7 (5,8)	6 (14,3)	56 (11,4)
Ensino Médio	50 (61)	93 (58,1)	57 (66,3)	74 (61,7)	18 (42,9)	292 (59,6)
Ensino Superior	22 (26,8)	41 (25,6)	21 (24,4)	39 (32,5)	18 (42,9)	141 (28,8)
NR	0	1 (0,6)	0	0	0	1 (0,2)
Procedência						
Capital	82 (100)	154 (96,3)	80 (93)	117 (97,5)	41 (97,6)	474 (96,7)
Interior	0	6 (3,8)	6 (7)	3 (2,5)	1 (2,4)	16 (3,3)

Legenda: RN = não registrado

Quanto ao tipo de doação, cerca de 50,4% foram doações espontâneas e 46,1% doações de reposição, apenas 0,8% foram doações em que o doador foi convocado pelo Hemoraima e 2,7% foram doações provenientes de coletas externas. Dos 490 doadores, 39,4% foram classificados como doadores de primeira vez, 34,3% doadores de repetição e 26,3% como doadores esporádicos (Tabela 2).

Tabela 2 – Perfil de candidatos a doação de sangue que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado no período de 2009 à 2013 quanto a tipo de doação e tipo de doador.

ANO	2009 (n=82)	2010 (n=160)	2011 (n=86)	2012 (n=120)	2013 (n=42)	TOTAL (n=490)
VARIÁVEIS	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Tipo de doação						
Reposição	34 (41,5)	80 (50)	42 (48,8)	51 (42,5)	19 (45,2)	226 (46,1)
Espontânea	46 (56,1)	69 (43,1)	43 (50)	67 (55,8)	22 (52,4)	247 (50,4)
Convocado	0	2 (1,3)	1 (1,2)	1 (0,8)	0	4 (0,8)
Coleta externa	2 (2,4)	9 (5,6)	0	1 (0,8)	1 (2,4)	13 (2,7)
Tipo de doador						
Repetição ¹	33 (40,2)	53 (33,1)	23 (26,7)	45 (37,5)	14 (33,3)	168 (34,3)
Esporádico ²	14 (17,1)	44 (27,5)	25 (29,1)	34 (28,3)	12 (28,6)	129 (26,3)
Primeira vez	35 (42,7)	63 (39,4)	38 (44,2)	41 (34,2)	16 (38,1)	193 (39,4)

1 Doador de repetição = 2 ou + doações em 12 meses;

2 Doador esporádico = intervalo \geq 12 meses da última doação

Número de doações e prevalência de anti-HCV em candidatos a doação de sangue do HEMORAIMA.

No período de 2009 à 2013 houve 56.310 doações de sangue, sendo 39.619 (70,3%) advindas do sexo masculino e 16.691 (29,6%) do sexo feminino, sendo que a taxa de doação masculina em todos os anos foi a mais prevalente (Tabela 3). Destas, 490 doações tiveram teste positivo ou indeterminado para o anti-HCV. O ano de maior ocorrência de testes positivos ou

indeterminados para o marcador foi em 2010 com 160 (1,45%) amostras reativas ou indeterminadas enquanto que em 2013 obteve-se 42 (0,34%) amostras reativas ou indeterminadas.

Tabela 3 - Soroprevalência para anti-HCV em candidatos a doação de sangue no Estado de Roraima no período de 2009 a 2013.

Ano	% de doações quanto ao gênero		Nº total de doações	Nº de amostras positivas ou indeterminada para o anti-HCV	%
	Masculino	Feminino			
2009	74,7	25,2	10182	82	0,81
2010	73,1	26,8	11024	160	1,45
2011	71,0	28,9	10698	86	0,80
2012	66,6	33,3	11982	120	1,00
2013	67,2	32,7	12424	42	0,34
Total	70,3	29,6	56310	490	0,87

Verificou-se que as metodologias de análise dessas amostras foram diferentes entre o período de 2009 à 2013. Em 2009, 2010, 2011 as amostras foram testadas por ELISA (ensaio por imunoadsorvência ligado à enzima) Murexanti-HCV 3ª geração DiaSorin. Em 2012, utilizaram-se duas metodologias diferentes para detecção de anti-HCV: MEIA (Imunoensaio Enzimático por Micropartículas) AxSYM HCV 3.0 e CMI (Quimioluminescência) Architect Anti-HCV Abbott. Em 2013, os testes foram realizados por meio da metodologia CMIA (Tabela 4).

Tabela 4 – Relação das metodologias empregadas para detecção do anti-HCV no período de 2009 à 2013.

Ano	Metodologia	Kits para detecção de anti-HCV	Nº de amostras detectadas	%
2009	ELISA	Murexanti-HCV	82	100
2010	ELISA	Murexanti-HCV	160	100
2011	ELISA	Murexanti-HCV	86	100
2012	MEIA	AxSYM HCV 3.0	72	60
2012	CMIA	Architect Anti-HCV	48	40
2013	CMIA	Architect Anti-HCV	42	100

DISCUSSÃO

De acordo com Relatório Anual do Sistema de Produção Hemoterápica – Hemoprod de 2013 do Hemoraima, os doadores pertencem aos grupos O positivo, seguido do A positivo. Sendo que no Brasil a principal classificação ABO/Rh dos doadores é de 42,98% para o grupo O positivo e 30,67% para o grupo A positivo, semelhantes ao encontrado neste estudo: O (60,8%) positivo e A (26,0%) positivo (BRASIL, 2013).

Apesar dos doadores apresentarem o principal tipo sanguíneo da região, é importante ressaltar que o número elevado de bolsas bloqueadas ou descartadas pelo resultado positivo ou indeterminado por algum marcador provocaria déficit no estoque de hemocomponentes causando transtornos para as unidades hospitalares que realizam transfusões.

Aproximadamente 55% da população analisada tinha entre 18 a 29 anos. Esses dados foram semelhantes ao encontrado no estudo realizado no Estado do Pará no período de 2004 à 2006 em que grande parte dos doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado estavam na mesma faixa etária e eram do sexo masculino (OLIVEIRA-FILHO et al., 2010). Entretanto, na região Sul e Sudeste do Brasil, verificou-se que doadores de sangue que apresentaram anti-HCV, 57,9% estavam na faixa etária superior a 31 anos e a maior prevalência foi observada em homens (JOSAHKIAN et al., 2010; PALTANIN; REICHE, 2002). Além disso, tem-se relatado que entre as hepatites virais em doadores de sangue, cerca de 68,2% eram homens e apresentaram média de idade de 38 anos (SILVEIRA et al., 2011).

Neste estudo, com relação ao gênero, a maioria (67,6%) pertenceu ao sexo masculino, entretanto observou-se que essa variável pode ser influenciada da grande parte das doações no período de 2009 à 2013 foram provenientes do mesmo gênero sugerindo pouca associação neste estudo. A participação das mulheres na doação de sangue ainda é escassa, devido a questões fisiológicas, como episódios frequentes de menstruação que impossibilita um grande número de doações ao ano quando comparado aos homens. Devido a maior proporção de indivíduos apresentaram anti-HCV estar entre os homens, sugere-se que eles podem estar mais expostos a fatores de risco para a infecção do que as mulheres, o sexo masculino pode exercer hábitos e comportamentos mais liberados, como a atividade sexual de risco, sendo este alguns dos principais motivos de rejeições na triagem clínica dos doadores, explicando assim a maior prevalência de anti-HCV em homens (GARCIA et al., 2009; RAMOS; FERRAZ, 2010; SOUZA et al., 2004).

No presente estudo, a prevalência de anti-HCV foi em solteiros (58,5%). No estudo de Garcia et al, (2009) foi relatado maior proporção de indivíduos solteiros entre aqueles doadores

que apresentaram anti-HCV. Entretanto já foi descrito maior proporção de doadores de sangue casados na região sudeste do Brasil e na região sul de 68,1%. (JOSAHKIAN et al., 2010; SILVEIRA et al., 2011). Também foi observado que em alguns estudos essas variáveis de idade, estado civil não possuem diferenças significativas (PALTANIN; REICHE, 2002; GARCIA et al., 2009). Indivíduos solteiros podem estar associados a fatores de risco, como por exemplo, múltiplos parceiros, uso de drogas injetáveis. Entretanto, vale ressaltar que a população estudada é submetida a triagem clínica onde é realizado questionamentos quanto ao estilo de vida do indivíduo, sendo este apto ou não para continuar no processo de doação de sangue.

Em contrapartida, observa-se que a faixa etária varia de acordo com a região de estudo, no caso de Roraima, isto pode ser explicado pela maior proporção da população residente ter idade entre 18-34 anos quando comparado com a faixa etária entre 35-49 anos, conseqüentemente um número maior de solteiros que comparecem a doação de sangue, além disso o número de homens residentes em Roraima é maior (228.859) quando comparado ao número de mulheres (221.620) (IBGE, 2010).

Apesar de termos evidenciado a presença de anti-HCV em população jovem, foi observado que grande parte dos indivíduos possuem escolaridade entre ensino médio (60%) e ensino superior (29%). Uma relação inversa entre escolaridade e positividade para hepatite já foi descrita. Este fator pode estar relacionado a um menor conhecimento sobre as formas de prevenção e transmissão de doenças infecciosas, sobretudo da hepatite C, principalmente em pessoas jovens quando comparado com pessoas com mais de 30 anos (GARCIA et al., 2008; SILVEIRA et al., 2011).

Os candidatos a doação de sangue no presente estudo foram considerados provenientes da capital, pois apenas 3,3% eram do interior entre os 490 doadores analisados. Isso facilita ações de educação e conscientização com relação ao conhecimento da hepatite C, bem como o rastreio daqueles que apresentaram sorologia positiva ou indeterminada para o anti-HCV e o devido acompanhamento dos mesmos às instituições de diagnóstico e tratamento, visto que o Hemoraima não é responsável pelo diagnóstico definitivo da hepatite C, pois doadores que apresentam algum marcador de doença infecciosa na triagem deve ser acompanhado e se necessário encaminhado a instituição de referência.

No presente estudo foi observado que os doadores que apresentaram anti-HCV no período de 2009 à 2013 foram doar espontaneamente (50,4%) seguido daqueles que doaram em decorrência de alguma motivação, doações de reposição (46,1%).

Segundo a Portaria nº 2.712 / 2013, a doação espontânea é realizada por pessoas motivadas para manter o estoque de sangue do serviço de hemoterapia. É decorrente de um ato de altruísmo, sem ter o nome de um possível receptor enquanto que a doação de reposição é

quando o indivíduo doa para atender à necessidade de um paciente. São feitas por pessoas motivadas pelo próprio serviço, pela família e amigos para repor o estoque de hemocomponentes do serviço de hemoterapia.

Nacionalmente a doação espontânea é a mais prevalente no país, entretanto sabe-se que alguns indivíduos utilizam os serviços de hemoterapia no intuito de obter o resultado dos testes de triagem sorológica de maneira rápida, gratuita e confiável, indo ao Hemocentro para doar sangue espontaneamente (GONÇALVES et al., 2006). Devido a população do estudo ser jovem, sugere-se que poderá haver uma influência desta população após comportamentos de risco e omissão de informações durante a triagem clínica.

Os doadores que apresentaram anti-HCV foram caracterizados neste estudo por ser primo doadores (39,4%) ou doadores de repetição (34,3%). Segundo 3º Boletim Epidemiológico de Produção Hemoterápica, no Brasil, há a predominância de doadores de repetição seguido daqueles que doam a 1ª vez nos serviços de hemoterapia muitas vezes motivados pelas campanhas de doação e fidelização do doador, entretanto, o número de inaptidões na doação de sangue refere-se ao grupo de doadores que doam a primeira vez (BRASIL, 2013a).

Em um estudo realizado em Minas Gerais, cerca de 561 (0,3%) bolsas foram descartadas por suspeita de hepatite C e destas, observou-se que 53% dos inaptos por anti-HCV eram primo doadores e 47,0% de repetição, dados semelhantes aos nossos resultados (GARCIA et al., 2008). No sul do país, avaliando hepatites virais, foi descrito que entre os doadores, cerca 69,5% eram doadores de primeira vez (SILVEIRA et al., 2011).

A menor ocorrência de anti-HCV em doadores de repetição e esporádicos pode ser explicada pelo fato de que as pessoas que doam sangue regularmente serem triadas todas as vezes que vão ao banco de sangue e constituem um grupo de baixo risco de contaminação e por conhecerem os requisitos para doar sangue.

Estudos em doadores de sangue avaliando primo doadores evidenciam que estes possuem três vezes mais chances de apresentar teste positivo para algum marcador durante doação de sangue (PALTANIN; REICHE, 2002; SILVEIRA et al., 2011). É provável que a primeira doação representa um fator de risco importante, pois estes indivíduos não foram testados para doenças infecciosas, a partir de diferentes doadores normais, que já tenham sido submetidos a triagem. Há pessoas que buscam a doação de sangue para ganhos pessoais, como uma licença de trabalho, obtendo um lanche gratuito após a doação, ou com testes sorológicos realizados (GONÇALVES et al., 2006; GONZAGA et al., 2008; SILVEIRA et al., 2011).

As prevalências para anti-HCV em doadores de sangue já foram descritas em diversos estudo pelo Brasil. Estudo realizado no Estado do Pará no período de 2004 à 2006, evidenciou

soroprevalência de anti-HCV em 0,46% (OLIVEIRA-FILHO et al., 2010). No Amazonas, foi descrito prevalência de 1,25% em 1995 e 0,32 em 2007 para anti-HCV em doadores de sangue (TORRES et al., 2009).

No Estado do Paraná, de 10.090 amostras testadas por ELISA, 88 apresentaram positividade para o anti-HCV, revelando soroprevalência de 0,9% (PALTANIN; REICHE, 2002) e em 2008 de 385 inaptos na sorologia, 2,86% eram anti-HCV positivo, sendo a prevalência estimada em 0,19% entre 5700 doações realizadas (RAMOS; FERRAZ, 2010).

Ainda no sul do país, investigando perfil epidemiológico em doadores de sangue com sorologias positivas para as hepatites virais, entre 641 doadores cerca de 10,8% eram reativos para anti-HCV, sendo a prevalência estimada em 0,21% de 32000 doações realizadas no período de 2008 e 2009 (SILVEIRA et al., 2011).

Em Goiás, foi descrito prevalência de 0,42% entre 41.033 doações realizadas no período de 2002 e 2003 (GONÇALVES et al., 2006). Em Minas Gerais, foi descrito prevalência de 0,4% entre 218.871 doações realizadas entre 1995 e 2008 (JOSAHKIAN et al., 2010); e 0,3% entre 171.027 doações realizadas no período de 1992 a 2005 (GARCIA et al., 2009).

No Mato Grosso e São Paulo, foram encontradas respectivamente prevalências entre 0,5-1,0% em 2000 e 1,2% na triagem para anti-HCV no ano de 2007 (SOUTO et al., 2002; VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005).

Em comparação os resultados do presente estudo, observa-se alta prevalência para anti-HCV, principalmente entre o ano de 2010 e 2012, sendo que em 2013 houve um declínio. Alguns estudos tem demonstrado a queda significativa na soroprevalência de marcadores de doenças infecciosas desde a década de 90, deve-se ao fato de os bancos de sangue terem se apropriado de novas tecnologias que impedem que os doadores inaptos não sejam liberados para doar novamente, campanhas de conscientização, e programas de controle de qualidade que minimizam erros e diminuem a taxa de falso-positivos (GONÇALVES et al., 2006; JOSAHKIAN et al., 2010).

Além disso, o Ministério da Saúde determinou a implantação do NAT (teste de detecção de ácidos nucléicos) para HIV e HCV nas amostras de sangue de doadores em âmbito nacional afim de confirmar sorologias indeterminadas, influenciando na queda da taxa de prevalência para esses marcadores, e diminuindo o risco de transmissão de agentes infecciosos por meio da transfusão.

A hemoterapia no contexto mundial vem adotando novas tecnologias objetivando minimizar os riscos transfusionais, especialmente quanto a prevenção da disseminação de agentes infecciosos (RAMOS; FERRAZ, 2010). A explicação pelas diversas metodologias que

foram utilizadas no período entre 2009 à 2013 se dá pela dificuldade da disponibilidade de recursos financeiros para o financiamento de insumos por parte do setor público.

Em 2012, utilizaram-se dois testes de detecção para anti-HCV, devido a adequação de novas metodologias empregadas no setor de sorologia da instituição, de MEIA para CMIA.

Observou-se que em 2013 houve diminuição da ocorrência de anti-HCV, sugerindo que as mudanças de metodologias podem ter sido fator condicionante que justifica, visto que testes mais sensíveis e mais específicos diminuem a taxa de resultados inconclusivos e falso-positivos, além disso a instituição em questão é responsável pela seleção e triagem em candidatos a doação de sangue, sem fins diagnósticos.

Os kits sorológicos utilizados no período de 2009 à 2013 possuem diferenças peculiares entre especificidade e sensibilidade. De acordo com os protocolos dos kits utilizados, a especificidade do ensaio ELISA foi calculado em 99,88% (IC 95%: 99,77% - 99,94) e sensibilidade de 100% (IC:95%). O teste MEIA apresentou especificidade de 99,84% (IC:95%) e sensibilidade de 100%. A metodologia CMIA apresentou especificidade de 99,60% (IC95%: 99,45-99,71) e sensibilidade de 99,10% (IC95%: 96,77%-99,89%).

Como não há disponível no mercado testes com 100% de especificidade e sensibilidade, quando aplicados em populações de baixo risco como candidatos a doação de sangue, geram um percentual considerável de resultados falso-positivos. Além disso pode ocorrer a presença de anticorpos contra proteínas residuais do vetor empregado na produção do antígeno recombinante que compõe o kit sorológico e degradação proteica de soros estocados inadequadamente e/ou por longos períodos (GARCIA et al., 2008).

Diversos estudos demonstram o grande percentual de resultados falso-positivos pela técnica de ELISA em amostras de doadores de sangue (PALTANIN; REICHE, 2002; GARCIA et al., 2008; JOSAHKIAN et al., 2010; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010; DE ALMEIDA-NETO et al., 2012). No estudo realizado por Souto et al (2002), após avaliação de testes confirmatórios, foi verificado que cerca de 22% dos testes anti-HCV realizados em doadores de sangue por ELISA 3ª geração eram falso-positivos enquanto que 5,7% foram indeterminados.

De 2009 à 2011 a triagem sorológica para anti-HCV era realizada por ELISA 3ª geração, onde foi observada maiores taxas de prevalência do anti-HCV. Sugere-se que essa alta prevalência pode estar relacionada a resultados falso-positivos ou inconclusivos e que esses resultados podem estar baseados nas diferenças entre especificidade e sensibilidade dos kits.

Observou-se que em 2013 houve a diminuição dos casos de anti-HCV mais da metade quando comparado ao ano de 2012. Isto pode estar relacionado ao fato de que a técnica de quimioluminescência Architect Anti-HCV ter sido considerada mais eficiente para detectar

baixos níveis do anticorpo anti-VHC, tornando-a bastante efetiva para ser utilizada como teste de triagem em banco de sangue, segundo estudos que descreveram comparações entre metodologias de CMIA (ECHEVARRÍA et al., 2006; PEREIRA; BERTOLLO; ZARIFE, 2010);

As variações de eficiência entre as metodologias para a detecção de anti-HCV devem ser avaliadas considerando população estudada, pois estudos realizados em diferentes países aplicando as mesmas metodologias podem não apresentar resultados semelhantes devido as diferenças entre as populações (KESLI et al., 2009).

Apesar dos bancos de sangue possuírem exames laboratoriais sensíveis que detectam a presença de anticorpos específicos para o HCV ainda que bastante sensíveis, existe um período de janela imunológica correspondente ao início da infecção e o aparecimento de anticorpos no sangue. A partir do ano de 2013 o Hemoraima foi contemplado para submeter as amostras ao teste do NAT, o qual diminui o período da janela imunológica, diminuindo porcentagem de resultados inconclusivos.

Ressalta-se que este estudo observou um grupo selecionado por entrevista, triagem clínica e acesso ao voto de auto-exclusão eliminando dessa forma doadores com risco de infecção pela hepatite C, além disso, aqueles que apresentaram sorologia positiva ou indeterminada foram encaminhados a testes confirmatórios e consulta médica.

CONCLUSÃO

Percebe-se que a prevalência do anti-HCV vem diminuindo nos últimos anos. A variação das condições socioeconômicas e epidemiológicas da população de cada região, as características dos doadores, número amostral ou a melhor detecção do HCV em bancos de sangue podem influenciar na prevalência do anti-HCV. As variáveis investigadas podem subsidiar estratégias para captação de doadores de sangue na instituição e indicar possíveis fatores de risco de acordo com a região do estudo.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM); ao Laboratório de

Hepatites Virais do Laboratório Central de Roraima e ao Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de Roraima.

REFERÊNCIAS

- BATALLER, R. BRENNER, DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* ;115: 209-218, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC Nº 34, de 11 de Junho de 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **3º Boletim Anual de Produção Hemoterápica**, Brasília, 2013a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 2.712 de 12 de Novembro de 2013
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais**, Brasília, 2012.
- CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C: sexual or intrafamilial transmission? Epidemiological and phylogenetic analysis of hepatitis C virus in 24 infected couples. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 239–244, 2009.
- CHAYAMA, K.; HAYES, C. N. Hepatitis C virus: How genetic variability affects pathobiology of disease. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 26, p. 83–95, 1 jan. 2011.
- CHOO, Q. et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, v. 244, n. 4902, p. 359–362, 21 abr. 1989.
- COTTRELL, E. B. et al. Reducing Risk for Mother-to-Infant Transmission of Hepatitis C Virus: A Systematic Review for the U.S. Preventive Services Task Force. **Annals of Internal Medicine**, v. 158, n. 2, p. 109–113, 15 jan. 2013.
- DE ALMEIDA-NETO, C. et al. Prevalence of Serological Markers for Hepatitis B and C Viruses in Brazilian Blood Donors, and Incidence and Residual Risk of Transfusion-Transmission of Hepatitis C Virus. **Transfusion**, v. 53, n. 4, p. 827–834, 6 ago. 2012.
- ECHEVARRÍA, J. M. et al. Sensitivity of a modified version of the ARCHITECT® Anti-HCV test in detecting samples with immunoblot-confirmed, low-level antibody to hepatitis C virus. v. 35, p. 361–372, 2006.
- GARCIA, F. B. et al. Epidemiological profile of hepatitis C in blood donors at the Uberaba Regional Blood Center. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 1–4, 2009.
- GARCIA, F. B. et al. Importância dos testes sorológicos de triagem e confirmatórios na detecção de doadores de sangue infectados pelo vírus da hepatite C. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 218–222, 2008.

GONÇALVES et al. Soroprevalência de HIV - 1/2 em doadores de sangue de Goiânia-Goiás. v. 38, n. 4, p. 263–266, 2006.

GONZAGA, R. M. S. et al. Distribution of Hepatitis C virus (HCV) genotypes in seropositive patients in the state of Alagoas, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 644–647, 2008.

IBGE. **Censo 2010**. Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=14&dados=26#topo_piramide>. Acesso em: 14 jan. 2015.

JOSAHKIAN, J. A. et al. Prevalência de Inaptidão Sorológica pelo Vírus HCV em doadores de sangue no Hemocentro Regional de Uberaba (MG), Fundação Hemominas. v. 39, n. 4, p. 261–271, 2010.

KESLI, R. et al. Evaluation and Comparison of Three Different Anti-Hepatitis C Virus Antibody Tests based on Chemiluminescence and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Methods used in the Diagnosis of Hepatitis C Infections in Turkey. **Journal of International Medical Research**, v. 37, n. 5, p. 1420–1429, 1 out. 2009.

LIMA, T. A. DE. **Caracterização de Mediadores Inflamatórios em Doadores de Sangue infectados com o vírus da hepatite C**. Dissertação de Mestrado—Manaus: Universidade do Estado do Amazonas, 2010.

MARTINS, T.; NARCISO-SCHIAVON, J. L.; SCHIAVON, L. DE L. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 57, p. 107–112, 2011.

OLIVEIRA-FILHO, A. B. et al. Prevalence and genotyping of hepatitis C virus in blood donors in the state of Pará, Northern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 103–106, 2010.

OPAS. **Organização Pan-Americana da Saúde**. Disponível em: <http://www.paho.org/bireme/index.php?option=com_content&view=article&id=251%3Adia-mundial-da-hepatite-2014-pense-novamente&Itemid=73&lang=pt>. Acesso em: 14 jul. 2015.

PALTANIN, L. F.; REICHE, E. M. V. Soroprevalência de anticorpos antivírus da hepatite C em doadores de sangue, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, p. 393–399, 2002.

PEREIRA, F. M.; BERTOLLO, L. A.; ZARIFE, M. Comparison of two automated chemiluminescence tests for the detection of antibodies against the hepatitis C virus. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 1, p. 17–21, 2010.

RAMOS, V. F.; FERRAZ, F. N. Perfil epidemiológico dos doadores de sangue do Hemonúcleo de Campo Mourão-PR no ano de 2008. v. 5, n. 2, p. 14–21, 2010.

REICHE, E. M. V. et al. Evaluation of surrogate markers for human immunodeficiency virus infection among blood donors at the blood bank of “Hospital Universitário Regional Norte do Paraná”, Londrina, PR, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, p. 23–27, 2003.

SILVA, K. L. T. **Caracterização sorológica e molecular da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em doadores de sangue do Estado do Amazonas**. Tese de doutorado—São Paulo: Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, 2008.

SILVEIRA, L. DA et al. Clinical and epidemiological profile of blood donors with positive serology for viral hepatitis in southern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 269–273, 2011.

SMITH, D. B. et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource. **Hepatology**, v. 59, n. 1, p. 318–327, 1 jan. 2014.

SOUTO, F. J. D. et al. Imunoblot como teste suplementar para detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C em doadores de sangue. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p. 69–71, 2002.

SOUZA, M. G. DE et al. Co-infecção HIV e vírus da hepatite B: prevalência e fatores de risco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, p. 391–395, 2004.

STASI, C. et al. The epidemiological changes of HCV and HBV infections in the era of new antiviral therapies and the anti-HBV vaccine. **Journal of Infection and Public Health**, n. 0, 2015.

TORRES, K. L. et al. Hepatitis C Virus in Blood Donors, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 4, p. 676–678, abr. 2009.

VALENTE, V. B.; COVAS, D. T.; PASSOS, A. D. C. Marcadores sorológicos das hepatites B e C em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 488–492, 2005.

WHO. **World Health Organization.** Disponível em:
<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>>. Acesso em: 14 jul. 2015.

APÊNDICE D – ARTIGO 2

“AVALIAÇÃO DOS MARCADORES SOROLÓGICOS PARA DETECÇÃO DA HEPATITE C NO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO ESTADO DE RORAIMA”.

Iaci Gama Fortes ^{1,2} Andrea MonteiroTarragô^{1,4} Regina Cláudia Rebouças Mendes Alho ^{2,5}
Fabiana Granja ³ Adriana Malheiro ^{1,4}

1 Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada - Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus-AM, Brasil;

2 Programa de Pós- Graduação em Hematologia – Universidade Estadual do Amazonas – UEA, Manaus-AM, Brasil;

3 Centro de Estudos da Biodiversidade – Universidade Federal de Roraima – UFRR, Boa Vista-RR, Brasil;

4 Departamento de Ensino e Pesquisa, Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas-Hemoam, Manaus-AM, Brasil

5 Centro de Hematologia e Hemoterapia de Roraima – HEMORAIMA, Boa Vista-RR, Brasil.

Endereço para correspondência: Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada - Universidade Federal do Amazonas – UFAM. Av. Rodrigo Otávio, 6200 – Coroado. CEP 690700-000. Manaus – AM, Brasil. Campus Universitário, Setor Sul, Prédio das Pós-Graduações do ICB/FCA – BIOAGRO.

Telefone:55 92 9181-1422, 991149478

E-mail: malheiroadriana@yahoo.com.br

Instituição financeira: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM).

RESUMO

Introdução: A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em bancos de sangue atualmente é realizada pela detecção do anticorpo contra o vírus HCV (anti-HCV) e pela detecção de ácidos nucleicos do HCV (NAT HCV). No Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Roraima, o NAT foi implementado no meio do ano de 2013. Entretanto, foi observado que doadores que retornavam meses depois da doação de sangue para a realização do teste de 2ª amostra, considerado como confirmatório não tinham o resultado NAT. O objetivo do estudo foi investigar o RNA viral do HCV em doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado que não tinham submetidos ao teste NAT da triagem da doação de sangue.

Métodos: Foram selecionados candidatos a doação de sangue com sorologia positiva ou indeterminada (anti-HCV positivo ou indeterminado) durante o comparecimento na consulta médica e coleta de 2ª amostra no período de abril de 2014 à maio de 2015. Foram coletados resultados da triagem da doação de sangue, resultados da 2ª amostra e uma amostra de sangue periférico. As amostras de sangue foram submetidas a quantificação de RNA viral do HCV por meio da plataforma automatizada AbbottRealTime™ HCV Assay(AbbottDiagnostic).

Resultados: Oito doadores com resultado anti-HCV positivo ou indeterminado foram selecionados. No teste de 2ª amostra apenas três doadores foram reagentes para anti-HCV, sendo que em nenhum doador foi possível quantificar RNA viral do HCV. **Conclusões:** Sugere-se que estes doadores podem apresentar baixa carga viral, *clearance* plasmático ou resultados falso-positivos provenientes dos testes de triagem sorológica, não determinando assim a infecção pelo HCV.

Palavras-chave: doador de sangue; anti-HCV, RNA HCV.

INTRODUÇÃO

A infecção pelo HCV apresenta-se na forma tanto aguda quanto crônica e na maioria das vezes é assintomática. É uma doença de curso variável, podendo evoluir para cura espontânea ou, quando estabelecida, pode evoluir para cirrose, hepatocarcinoma e morte. Além disso, é o principal indicador de transplante de fígado, sendo responsável por aproximadamente 350.000 mortes ao ano em todo mundo (OPAS, 2014; WHO, 2014; STASI et al., 2015).

A principal via de transmissão do HCV é a parenteral, portanto o HCV pode ser transmitido por meio do sangue contaminado através do compartilhamento de equipamentos para uso de drogas injetáveis, terapias invasivas, hemodiálise e o compartilhamento de objetos de higiene pessoal (aparelho de barbear e cortadores de unhas)(LOPES et al., 2009; HAHN et al., 2010; MARTINS; NARCISO-SCHIAVON; SCHIAVON, 2011; CEPEDA et al., 2013). Práticas sexuais desprotegidas apresentam-se como fator de risco por haver a descrição da detecção do vírus no sêmen.(CIORLIA; ZANETTA, 2007; CAVALHEIRO et al., 2008, 2009, 2010).

A presença da infecção pelo HCV pode ser determinada por meio de testes sorológicos pela detecção do anticorpo contra o HCV (anti-HCV) ou detecção combinada do antígeno e anticorpo, e técnicas de biologia molecular. Em bancos de sangue, a Portaria nº 2.712/ 2013 e RDC nº 34/2014 preconiza o emprego de duas metodologias: detecção do anti-HCV e detecção da partícula viral, por meio da tecnologia de detecção de ácidos nucleicos (NAT) (GARCIA et al., 2008; BRASIL, 2013).

Devido a existência de doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado na triagem da doação de sangue antes da implementação do teste de ácidos nucleicos. Portanto, o objetivo do estudo foi quantificar o RNA do HCV em doadores de sangue que não tinham realizado teste RNA do HCV qualitativo e que apresentaram anti-HCV positivo/indeterminado nos testes sorológicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionados candidatos a doação de sangue com sorologia positiva ou indeterminada (anti-HCV positivo ou indeterminado) durante o comparecimento na consulta médica e coleta de 2ª amostra no período de abril de 2014 à maio de 2015.

Foram coletados resultados da triagem da doação de sangue (valor de absorbância do teste, ponto de corte e kit sorológico), resultados da 2ª amostra e uma amostra de sangue periférico.

As amostras foram submetidas a metodologias sorológicas diferentes para detecção de anti-HCV de acordo com o ano da doação de sangue, sendo ELISA (ensaio por imunoabsorvência ligado à enzima) kit Murex anti-HCV 3ª geração DiaSorin, MEIA (Imunoensaio Enzimático por Micropartículas) kit AxSYM HCV 3.0 e CMIA (Quimioluminescência) kit Architect Anti-HCV Abbott. Os testes foram empregados de acordo com orientações do fabricante.

As amostras de sangue foram coletadas em tubo PPT (*Plasma Preparation Tube, Vacutainer BD, Franklin Lakes, NJ, USA*) para quantificação de RNA HCV e possivelmente a identificação do genótipo. Após a coleta, os tubos foram centrifugados a 3500 rpm por 5 minutos e armazenados em freezer - 80°C no laboratório de biologia molecular da Universidade Federal de Roraima – UFRR. As amostras foram armazenadas por um período de 12 meses e posteriormente processadas no laboratório de Hepatites Virais do Laboratório Central do Estado de Roraima para determinação de RNA do HCV.

A determinação de RNA de HCV foi realizada por meio da plataforma de biologia molecular automatizada Abbott RealTime™ HCV Assay (*Abbott Diagnostic*). Para esta metodologia foi utilizado 0,5 ml de cada amostra e kit de Preparação de Amostra da marca *Abbott Molecular Inc.* (Lote 10567411) seguindo as orientações técnicas contidas nos protocolos preconizados pelo fabricante. O teste foi realizado juntamente com amostras controle RNA HCV positivo e controle RNA HCV negativo. O limite de detecção de RNA HCV é de 12 UI/mL e a interpretação do resultado foi liberado como RNA HCV detectável ou RNA HCV não detectável. As análises descritivas foram apresentadas em tabelas e gráficos de distribuição de frequências.

O estudo foi submetido à avaliação ao pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemoam e aprovado em 27 novembro de 2013 sob nº CAAE: 18465613.6.0000.0009.

RESULTADOS

Na triagem da doação de sangue 6 doadores apresentaram resultado reagente e 2 doadores apresentaram resultado anti-HCV indeterminado (Tabela 1), totalizando 8 doadores de sangue que aceitaram participar do estudo. A tabela 1 apresenta os resultados de acordo com o ano da triagem, a metodologia utilizada no momento da triagem com o ponto de corte considerando a zona cinza entre 10-20% e a informação sobre ser a primeira doação ou não.

Esses indivíduos tinham realizado doação de sangue em anos anteriores (2010 ou 2011 ou 2012) a implementação do NAT em bancos de sangue públicos brasileiros.

Ao avaliar as metodologias empregadas durante a triagem da doação de sangue, observou-se que três (9, 12 e 16) doadores foram reagentes pelo método ELISA e dois (3 e 13) foram indeterminados. Dois (2 e 7) doadores foram reagentes no método CMIA, enquanto que o doador 18 foi reagente no método MEIA.

Foi observado que seis doadores eram doadores de repetição (2,3,7,9,16,18) enquanto dois eram doadores de primeira vez (12 e 13).

Tabela 1: Resultado da Triagem anti-HCV de candidatos a doadores de sangue triados em 2010-2011.

Nº do doador	Ano da triagem da doação	Resultado da triagem da doação para anti-HCV (S/CO)	Ponte de Corte do método	Método	Resultado	Primeira doação?
2	2012	2,41	1,00	CMIA	reagente	NÃO
3	2012	0,66	0,720	ELISA	indeterminado	NÃO
7	2012	1,05	1,00	CMIA	reagente	NÃO
9	2012	0,73	0,692	ELISA	reagente	NÃO
12	2011	1,74	1,00	ELISA	reagente	SIM
13	2011	0,622	0,731	ELISA	indeterminado	SIM
16	2010	1,02	1,00	ELISA	reagente	NÃO
18	2012	0,792	0,743	MEIA	reagente	NÃO

As análises da 2ª amostra foram realizadas no período de coleta do estudo, 2014 à 2015. Os resultados foram classificados em reagente, não reagente e indeterminado, pois nem todos os doadores tinham resultado descrito da S/CO. Amostras que foram submetidas pela metodologia MEIA foram processadas no LACEN, enquanto as outras foram realizadas no Hemocentro.

Ao avaliar as metodologias empregadas para a realização da 2ª amostra, observou-se que pelo método CMIA, dois doadores (9 e 16) foram não reagentes. Pelo método MEIA, três doadores foram reagentes (2, 3, e 12) enquanto que quatro foram não reagentes (7, 9, 13 e 18), conforme tabela 2. Nenhuma amostra foi considerada indeterminada no teste de 2ª amostra.

Após a análise da quantificação HCV-RNA das amostras no Laboratório Central de Roraima, foi verificado que nenhuma das amostras em estudo apresentaram RNA do HCV. Portanto, não foi possível a realização da identificação de genótipos.

Tabela 2 – Resultado do teste de 2ª amostra e teste RNA HCV

Nº do doador	Resultado da 2ª amostra (Metodologia)	Resultado HCV RNA
2	Reagente (MEIA)	Indetectável
3	Reagente (MEIA)	Indetectável
7	Não reagente (MEIA)	Indetectável
9	Não reagente (CMIA)	Indetectável
12	Reagente (MEIA)	Indetectável
13	Não reagente (MEIA)	Indetectável
16	Não reagente (CMIA)	Indetectável
18	Não reagente (MEIA)	Indetectável

DISCUSSÃO

A prática hemoterápica em todo mundo requer a triagem e o diagnóstico das infecções possivelmente transmissíveis pelo sangue a fim de assegurar a qualidade dos hemocomponentes, bem como a segurança transfusional, visto que ainda não há disponível um substituto para o sangue.

Estudos de prevalência e análise de marcadores de doenças infecciosas têm sido descritos em diversas localidades do Brasil, especificamente em doadores de sangue, sendo que as variáveis populacionais de cada região podem influenciar, bem como o conhecimento do HCV em regiões específicas considerando sua variabilidade genética (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; GARCIA et al., 2008; SILVA, 2008; LIMA, 2010; BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012).

Estudos realizados com doadores de sangue relatam a prevalência maior de anti-HCV em doadores de primeira vez (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; GARCIA et al., 2008; SILVA, 2008; LIMA, 2010; BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012). No presente estudo, foi observado que doadores de repetição (n=6) apresentaram maior proporção quando comparados aos candidatos a doadores de primeira vez (n=2). Doadores de primeira vez já foram considerados grupo de risco entre os doadores para transmissão do HCV (BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012). Doadores de repetição são considerados mais seguros do que doadores de primeira vez, uma vez que os doadores de repetição estão acostumados com os questionamentos da triagem clínica da doação (CHOUDHURY et al., 2011).

Neste estudo foi observado que os doadores durante a convocação para a coleta de 2ª amostra, demoram entre 6 a 12 meses para comparecer a unidade. Considera-se este fato motivo de limitação para o estudo. É comum o não comparecimento dos doadores para a realização do

teste confirmatório de aproximadamente 60% daqueles que são convocados, sobre os quais nada se sabe em termos de serem ou não infectados (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; GARCIA et al., 2008).

Testes ELISA/MEIA/CMIA fornecem um resultado quantitativo de absorbância estes são reportados como reativos ou não reativos, quando superiores ao valor do “*cut-off*” informado pelo fabricante. Foi observado que as amostras reagentes durante a triagem da doação de sangue estiveram muito próximas ao *cut-off* do método. Estudos utilizando testes imunoenzimáticos para anti-HCV demonstraram que em amostras com valores de absorbância próximos ao valor de *cut-off* existe uma maior probabilidade de apresentarem resultados falso-positivos, ou seja, essas amostras quando testadas por ensaios confirmatórios (RIBA, RNA HCV), geralmente apresentam resultados negativos. Sugere-se que resultados positivos próximos ao *cut-off* sejam confirmados por outra metodologia afim de evitar comunicação de resultados falso-positivos (DUFOUR et al., 2003; TORRES et al., 2009; LIMA, 2011). Além disso, até a confirmação do diagnóstico, o doador convive com o estigma de uma doença muitas vezes inexistente, gerando grande tensão além de perdas financeiras para o Sistema Único de Saúde (SUS) em decorrência do descarte de bolsas de hemocomponentes possivelmente não infectados (SALLES et al., 2003; GARCIA et al., 2008).

Outro fator que contribui para essa problemática é a frequente troca na marca dos testes de triagem sorológica utilizados, em função das normas de licitação a que estão subordinados os bancos de sangue públicos para a compra de tais produtos. Esse fenômeno ocorre mesmo quando são usados testes de alta sensibilidade e especificidade. Cada marca de teste gera resultados falso-positivos em amostras diferentes. Com isso, quando a marca dos reagentes é frequentemente trocada, ocorre uma somatória dos resultados falso-positivos — em outras palavras, aumenta a chance de um doador sadio ter reatividade cruzada a pelo menos uma das marcas utilizadas (SALLES et al., 2003).

Dependendo do número de amostras nos estudos, observa-se que a prevalência do HCV em doadores de sangue decai com a realização de um segundo teste (2ª amostra) e/ou teste confirmatório em aproximadamente 0,10% a 0,30% do valor inicial com base no teste anti-HCV, ou seja, prevalências de anti-HCV que variam entre 0,3-0,4% podem decair para 0,15-0,1% com a realização do teste confirmatório, semelhante ao ocorrido neste estudo (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; GARCIA et al., 2008; TORRES et al., 2009; JOSAHKIAN et al., 2010; LIMA, 2010; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010; BEDOYA; MÁRQUEZ; ARIAS, 2012).

Na Colômbia, testes realizados na triagem de doação de sangue resultaram em seis casos para HCV entre mil doações, e ao analisar testes confirmatórios não houve número de casos

entre mil doações, sendo que no teste NAT os resultados foram todos negativos (BEDOYA; MÁRQUEZ; ARIAS, 2012).

Também não se pode descartar a possibilidade de *clearence* plasmático na amostra deste estudo, pois reações inconclusivas ou indeterminadas foram sugeridas como resultado do *clearence* viral e/ou cura da infecção, o que ocorre em aproximadamente 20% a 50% dos infectados pelo HCV (MICALLEF; KALDOR; DORE, 2006; GARCIA et al., 2008).

Foi realizado um estudo com doadores de sangue que foram submetidos a triagem por diversos kits sorológicos para anti-HCV e testes confirmatórios incluindo RIBA e NAT. Foi considerado que amostras de doador de sangue devem ser avaliadas por mais de um kit ELISA visando o aumento do valor preditivo positivo da reação e ainda assim foi observado doadores reativos em mais de um kit ELISA, porém negativos no testes RIBA e NAT, resultados semelhantes ao encontrado neste estudo, excluindo-se o teste RIBA que não foi realizado (CHOUDHURY et al., 2011).

A detecção do RNA do HCV é utilizada como confirmatório para infecção pelo HCV em bancos de sangue, pois elimina o período de janela imunológica de 51 dias para 7 dias - período compreendido entre o contato com o antígeno hemotransmissível e a produção de anticorpos em níveis detectáveis pelos testes sorológicos atuais. Indivíduos no período de janela imunológica apresentam resultados não reagentes ou inconclusivos nos métodos sorológicos e com a realização do NAT (STRAMER et al., 2004; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007; DOGBE; ARTHUR, 2015). Sugere-se que estes doadores possam ser acompanhados e que os testes de RNA- HCV possam ser repetidos posteriormente.

Entretanto, foi observado que doadores que apresentavam anti-HCV positivo ou indeterminado e que retornavam meses após a doação para a coleta de 2ª amostra, como teste confirmatório proveniente de doações anteriores a implementação do NAT HCV, não eram submetidos ao NAT no teste de 2ª amostra, apresentando uma lacuna desses doadores para confirmação do diagnóstico.

Considerando os resultados do teste de RNA -HCV foram todos negativos, nenhuma amostra foi encaminhada para genotipagem. Como os doadores do estudo não foram submetidos a metodologia NAT na triagem da doação que só foi implementada em 2013, a realização da quantificação RNA foi importante para excluir a possibilidade de serem portadores do HCV.

CONCLUSÃO

A realização do teste da 2ª amostra diminui resultados considerados positivos ou indeterminados para o marcador anti-HCV durante a triagem. Sugere-se que o emprego de diversas metodologias de detecção para o HCV dificulta o acompanhamento do doador, inclusive daqueles considerados doadores de repetição. Além disso, os resultados do presente estudo reforçam a ideia de que a maioria dos exames de triagem para hepatite C pode até o momento não corresponder ao real perfil sorológico dos doadores em relação à doença e que estes precisam monitorados em futuras doações. Sendo que não foi encontrado evidências da presença do RNA HCV após teste confirmatório, sugerindo baixa carga viral, *clearance* plasmático ou resultados falso-positivos provenientes dos testes de triagem sorológica.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM); ao Laboratório de Hepatites Virais do Laboratório Central de Roraima e ao Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de Roraima.

REFERÊNCIAS

- BARRIL, G. et al. Occult Hepatitis C Virus Infection among Hemodialysis Patients. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 19, n. 12, p. 2288–2292, 1 dez. 2008.
- BARROSO, E. DO C.; BRITO JUNIOR, L. C. Demographic characteristics of HCV EIA repeat reactive blood donors. **Revista Paraense de Medicina**, v. 26, n. 4, 2012.
- BEDOYA, J. A. P.; MÁRQUEZ, M. M. C.; ARIAS, J. A. C. Seroprevalence of markers of transfusion transmissible infections in blood bank in Colombia. **Revista de Saúde Pública**, v. 46, n. 6, p. 950–9, 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 2.712 de 12 de Novembro de 2013.
- CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C virus detection in the semen of infected patients. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, p. 358–361, 2008.
- CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C: sexual or intrafamilial transmission? Epidemiological and phylogenetic analysis of hepatitis C virus in 24 infected couples. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 239–244, 2009.

- CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C virus: molecular and epidemiological evidence of male-to-female transmission. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. 427–432, 2010.
- CEPEDA, J. A. et al. Moderate/heavy alcohol use and HCV infection among injection drug users in two Russian cities. **Drug and alcohol dependence**, v. 132, n. 3, p. 571–579, 1 out. 2013.
- CHOUDHURY, N. et al. Serial follow-up of repeat voluntary blood donors reactive for anti-HCV ELISA. **Asian Journal of Transfusion Science**, v. 5, n. 1, p. 26–31, jan. 2011.
- CIORLIA, L. A. DE S.; ZANETTA, D. M. T. Hepatite C em profissionais da saúde: prevalência e associação com fatores de risco. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, p. 229–235, 2007.
- DOGBE, E. E.; ARTHUR, F. Diagnostic accuracy of blood centers in the screening of blood donors for viral markers. **The Pan African Medical Journal**, v. 20, p. 119, 2015.
- DUFOUR, D. R. et al. Low-Positive Anti-Hepatitis C Virus Enzyme Immunoassay Results: An Important Predictor of Low Likelihood of Hepatitis C Infection. **Clinical Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 479–486, 1 mar. 2003.
- GARCIA, F. B. et al. Importância dos testes sorológicos de triagem e confirmatórios na detecção de doadores de sangue infectados pelo vírus da hepatite C. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 218–222, 2008.
- HAHN, J. A. et al. Hepatitis C virus risk behaviors within the partnerships of young injecting drug users. **Addiction (Abingdon, England)**, v. 105, n. 7, p. 1254–1264, jul. 2010.
- HOUGHTON, M. et al. Molecular biology of the hepatitis C viruses: Implications for diagnosis, development and control of viral disease. **Hepatology**, v. 14, n. 2, p. 381–388, 1 ago. 1991.
- JOSAHKIAN, J. A. et al. Prevalência de Inaptidão Sorológica pelo Vírus HCV em doadores de sangue no Hemocentro Regional de Uberaba (MG), Fundação Hemominas. v. 39, n. 4, p. 261–271, 2010.
- LEÃO, J. R.; PACE, F. H. DE L.; CHEBLI, J. M. F. Infecção pelo vírus da hepatite c em pacientes em hemodiálise: prevalência e fatores de risco. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 47, p. 28–34, 2010.
- LIMA, T. A. DE. **Caracterização de Mediadores Inflamatórios em Doadores de Sangue infectados com o vírus da hepatite C**. Dissertação de Mestrado—Manaus: Universidade do Estado do Amazonas, 2010.
- LOPES, C. L. R. et al. Prevalência, fatores de risco e genótipos da hepatite C entre usuários de drogas. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, p. 43–50, 2009.
- MARTINS, T.; NARCISO-SCHIAVON, J. L.; SCHIAVON, L. DE L. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 57, p. 107–112, 2011.
- MICALLEF, J. M.; KALDOR, J. M.; DORE, G. J. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 13, n. 1, p. 34–41, 1 jan. 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. O teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAT) e as demais estratégias para detecção dos vírus HIV-1 e HCV na triagem de sangue doado. **Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde**, v. 3, 2007.

OLIVEIRA-FILHO, A. B. et al. Prevalence and genotyping of hepatitis C virus in blood donors in the state of Pará, Northern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 103–106, 2010.

OPAS. **Organização Pan-Americana da Saúde**. Disponível em: <http://www.paho.org/bireme/index.php?option=com_content&view=article&id=251%3Adia-mundial-da-hepatite-2014-pense-novamente&Itemid=73&lang=pt>. Acesso em: 14 jul. 2015.

SALLES, N. A. et al. Descarte de bolsas de sangue e prevalência de doenças infecciosas em doadores de sangue da Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 13, p. 111–116, 2003.

SILVA, K. L. T. **Caracterização sorológica e molecular da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em doadores de sangue do Estado do Amazonas**. Tese de doutorado—São Paulo: Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, 2008.

STASI, C. et al. The epidemiological changes of HCV and HBV infections in the era of new antiviral therapies and the anti-HBV vaccine. **Journal of Infection and Public Health**, n. 0, 2015.

TORRES, K. L. et al. Hepatitis C Virus in Blood Donors, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 4, p. 676–678, abr. 2009.

VALENTE, V. B.; COVAS, D. T.; PASSOS, A. D. C. Marcadores sorológicos das hepatites B e C em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 488–492, 2005.

WHO. **World Health Organization**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>>. Acesso em: 14 jul. 2015.

APÊNDICE E – ARTIGO 3

“POSSÍVEIS FATORES DE RISCO PARA INFECÇÃO PELO HCV EM CANDIDATOS A DOAÇÃO DE SANGUE NO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE RORAIMA”

Iaci Gama Fortes ^{1,2} Andrea MonteiroTarragô^{1,4} Regina Cláudia Rebouças Mendes Alho ^{2,5}
Fabiana Granja ³ Adriana Malheiro ^{1,4}

1 Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada - Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus-AM, Brasil;

2 Programa de Pós- Graduação em Hematologia – Universidade Estadual do Amazonas – UEA, Manaus-AM, Brasil;

3 Centro de Estudos da Biodiversidade – Universidade Federal de Roraima – UFRR, Boa Vista-RR, Brasil;

4 Departamento de Ensino e Pesquisa, Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas-Hemoam, Manaus-AM, Brasil

5 Centro de Hematologia e Hemoterapia de Roraima – HEMORAIMA, Boa Vista-RR, Brasil.

Endereço para correspondência: Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada - Universidade Federal do Amazonas – UFAM. Av. Rodrigo Otávio, 6200 – Coroado. CEP 690700-000. Manaus – AM, Brasil. Campus Universitário, Setor Sul, Prédio das Pós-Graduações do ICB/FCA – BIOAGRO.

Telefone:55 92 9181-1422, 991149478

E-mail: malheiroadriana@yahoo.com.br

Instituição financeira: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM).

RESUMO

Objetivo: descrever perfil de doadores de sangue e possíveis fatores de risco naqueles que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado e/ou NAT HCV detectável. **Métodos:** Estudo descritivo realizado por meio de questionário epidemiológico aplicado em doadores de sangue com sorologia positiva ou indeterminada para anti-HCV e/ou NAT HCV durante o comparecimento na consulta médica e coleta de 2ª amostra no período de abril de 2014 à maio de 2015. Calculada prevalência do marcador anti-HCV para o ano de 2014. **Resultados:** Compareceram 22 doadores a consulta médica e coleta de 2ª amostra. A média de idade foi de 29 anos, na faixa etária entre 18-29 anos (63,6%), do gênero masculino (72,7%), doadores solteiros (50,0%) e sem histórico de trabalhar em locais com manuseio de amostras biológicas (72,7%), todos da capital Boa Vista, sendo 54,5% doadores de repetição. Os principais possíveis fatores de risco descritos foram: procedimentos cirúrgicos, uso de bebidas alcoólicas, compartilhamento de objetos de higiene, múltiplos parceiros e relações sexuais sem uso de preservativo. **Conclusões:** O conhecimento do perfil de doadores anti-HCV positivo ou indeterminado com ou sem NAT detectável e seus possíveis fatores de risco, pode subsidiar estratégias para atingir outros grupos de pessoas aptas a doar sangue.

Palavras-chave: fatores de risco; anti-HCV, doador.

INTRODUÇÃO

As estimativas apontam que a prevalência global varia em torno de 2% a 3%, ou seja, entre 123-170 milhões de pessoas são infectadas pelo vírus da hepatite C (HCV) em todo mundo. Portanto, a proporção de indivíduos infectados pode estar sendo subestimada pelo fato de existir desconhecimento por parte da população sobre a doença e seus riscos de infecção (CANDOTTI et al., 2003). A infecção pelo HCV representa atualmente um dos mais relevantes problemas de saúde pública, devido a características como o longo período de infecção assintomática, fazendo com que o indivíduo não tome conhecimento da doença e, assim, não procure atenção especializada. Visto que o HCV é o principal indicador de transplante de fígado, sendo responsável por aproximadamente 350.000 mortes ao ano em todo mundo (FAGUNDES et al., 2008; OPAS, 2014; WHO, 2014; STASI et al., 2015).

O HCV tem como principal via de transmissão a parenteral e diversos estudos evidenciam que o mesmo pode ser transmitido por meio do sangue contaminado através do compartilhamento de equipamentos para uso de drogas injetáveis, terapias invasivas, hemodiálise e o compartilhamento de objetos de higiene pessoal como aparelho de barbear e cortadores de unhas (LOPES et al., 2009; HAHN et al., 2010; MARTINS; NARCISO-SCHIAVON; SCHIAVON, 2011; CEPEDA et al., 2013). Devido a descrição do HCV presente em sêmen de indivíduos infectados, as práticas sexuais desprotegidas tornou-se fator de risco por haver exposição ano-genital a fluídos infecciosos (CIORLIA; ZANETTA, 2007; CAVALHEIRO et al., 2008, 2009, 2010).

No Brasil, foi observado em 2010 que a maior proporção da infecção pelo HCV está relacionado ao uso de drogas (27,4%), seguido de transfusão (26,9%), contato sexual (18,5%), acidente de trabalho (1,2%), contato domiciliar (1,1%), hemodiálise (0,9%), transmissão vertical (0,3%), entre outros (23,7%) (BRASIL, 2012).

A importância do conhecimento de possíveis fatores de risco pode auxiliar em estratégias de educação e conscientização de doadores de sangue, bem como na seleção dos mesmos. Desta forma, o objetivo do estudo foi descrever perfil de doadores de sangue e possíveis fatores de risco em candidatos a doadores de sangue que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado e/ou NAT HCV detectável.

MÉTODOS

Foram selecionados candidatos a doação de sangue com sorologia positiva ou indeterminada (anti-HCV positivo ou indeterminado) durante o comparecimento na consulta médica e coleta de 2ª amostra (rotina do Hemoraima) no período de abril de 2014 à maio de 2015. Para cálculo da prevalência do anti-HCV foi utilizado número total de doações e número total de bolsas descartas pelo marcador anti-HCV no ano de 2014. Os doadores foram convidados a participar do estudo, sendo incluso após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido e aplicado questionário epidemiológico. As variáveis investigadas foram: idade, gênero, estado civil, procedência, local de trabalho, se foi primeira doação ou não, seguido de questionamentos considerados fatores de risco para infecção do HCV.

Os dados foram tabulados e armazenados por meio do Software Microsoft Excel® (versão 2013 para Windows). As análises descritivas foram apresentadas em tabela de distribuição de frequências.

O estudo foi submetido à avaliação ao pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemoam e aprovado em 27 novembro de 2013 sob nº CAAE: 18465613.6.0000.0009.

RESULTADOS

Prevalência anti-HCV: Em 2014 foram realizadas 11.015 doações, sendo que 347 bolsas foram descartadas devido a reatividade aos marcadores da triagem sorológica, sendo que 19 (0,17%) unidades descartadas foram responsáveis pela presença do anti-HCV em doadores de sangue do Hemoraima, resultando na prevalência do anti-HCV de 0,17% no ano de 2014.

Foram convocados no período de abril de 2014 à março de 2015 cerca de 30 doadores incluindo aqueles que não tinham comparecido a consulta médica em anos anteriores. Contudo apenas 22 doadores compareceram ao Hemocentro de Roraima.

Na triagem da doação de sangue, foi evidenciado que 21 doadores obtiveram resultado positivo ou indeterminado para anti-HCV e 1 resultado com NAT HCV detectável.

Perfil dos candidatos a doação de sangue: A média de idade foi de 29 anos, sendo mais prevalente a faixa etária entre 18-29 anos (63,6%), com predomínio do gênero masculino (72,7%), doadores solteiros (50,0%) e sem histórico de trabalhar em locais com manuseio de amostras biológicas (72,7%) (Tabela 1). Os doadores foram todos procedentes da capital Boa Vista e cerca de 54,5% não eram doadores de primeira vez.

Tabela 1: Perfil epidemiológico dos candidatos a doação de sangue que apresentaram resultado anti-HCV positivo ou indeterminado.

Variáveis	N	(%)
Idade		
18-29	14	(63,6)
Acima de 29	8	(36,4)
Gênero		
Feminino	6	(27,3)
Masculino	16	(72,7)
Estado civil		
Casado	10	(45,5)
Solteiro	11	(50,0)
Divorciado	1	(4,5)
Trabalhou em		
Estabelecimentos de Saúde	6	(27,3)
Outros	16	(72,7)
1ª vez doação		
Sim	10	(45,5)
Não	12	(54,5)
Total	22	(100)

Possíveis fatores de risco: Foi observado alguns possíveis fatores de risco para infecção do HCV entre os doadores em questão, como a realização de cirurgias (68,2%), compartilhamento de objetos de higiene (36,6%), relação sexual desprotegida (n=9) (Tabela 2). Aqueles que evidenciaram a realização de cirurgias, foi questionado o período e em todos os questionários foi verificado tempo superior a 5 anos. O período em que um dos doadores precisou receber sangue/hemoderivados foi a cinco anos atrás. Nenhum doador evidenciou o uso de drogas injetáveis/inaláveis e terapia por acupuntura.

Tabela 2: Questionamentos realizados aos candidatos a doação de sangue que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado e/ou NAT HCV detectável.

Questionamentos	SIM (%)	NÃO (%)
Já teve hepatite?	1 (4,5)	21 (95,4)
Alguém da família já teve hepatite?	6 (27,2)	16 (72,7)
Já fez cirurgia? Extração dentária?	15 (68,2)	7 (31,8)
Faz ou fez uso de drogas injetáveis / inaláveis?	0	22 (100)
Possui tatuagem ou piercing?	2 (9)	20 (90,9)
Utiliza terapia por acupuntura?	0	22 (100)
Faz uso de bebidas alcoólicas?	8 (36,6)	14 (63,6)
Já fez exame de endoscopia?	1 (4,5)	21 (95,4)
Já precisou receber transfusão de sangue / hemoderivados?	1 (4,5)	21 (95,4)
Já compartilhou aparelho de barbear, escova de dente, entre outros objetos de higiene?	8 (36,6)	14 (63,6)
Já sofreu acidente com material biológico?	1 (4,5)	21 (95,4)
Múltiplos parceiros (sem uso de preservativo)?	2 (9)	20 (90,9)
Já fez ou faz sexo anal ou oral (sem uso de preservativo)?	7 (31,8)	15 (68,2)

DISCUSSÃO

No presente estudo a prevalência de anti-HCV no ano de 2014 foi de 0,17%. Nos últimos dez anos, as prevalências de anti-HCV em diversos bancos de sangue do Brasil apresentaram variações entre 0,3% a aproximadamente 0,4% (GARCIA et al., 2009; TORRES et al., 2009; JOSAHKIAN et al., 2010; RAMOS; FERRAZ, 2010; SILVEIRA et al., 2011). Alguns estudos tem demonstrado a queda significativa na soroprevalência de marcadores de doenças infecciosas desde a década de 90, deve-se ao fato de os bancos de sangue terem se apropriado de novas tecnologias que impedem que os doadores inaptos não sejam liberados para doar novamente, campanhas de conscientização, e programas de controle de qualidade que minimizam erros e diminuem a taxa de falso-positivos (GONÇALVES et al., 2006; JOSAHKIAN et al., 2010).

Neste estudo foi observado maior proporção de indivíduos entre 18-29 anos (63,6%), homens (72,7%), solteiros (50%) da capital Boa Vista. O Hemoraima como centro de referência em banco de sangue localizado na capital do Estado de Roraima recebe influência contínua de indivíduos procedentes da cidade de Boa Vista, o que explica a procedência de todos os doadores da capital. Essa variável possibilita que estes doadores sejam encaminhados ao centro de referência para investigar a possibilidade de infecção pelo HCV, como também possuem acesso a unidades básicas e de atenção especializada em saúde onde possam realizar testes rápidos para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), HCV, e hepatite B entre outros, caso o usuário deseje investigar sua condição.

No presente estudo, a proporção de anti-HCV entre doadores adultos jovens (entre 18-29 anos) e do sexo masculino poderia indicar maior frequência a exposição a potenciais fatores de risco entre os homens, inclusive se ainda forem solteiros onde se permitem relacionar-se com diferentes pessoas (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012).

Considerando relatos sobre a prevalência de HCV e HIV entre homens, evidenciando como fator de risco a existência de múltiplos parceiros (CALEGARI et al., 2011), no presente estudo, foi exposto no questionamento “múltiplos parceiros sem uso de preservativo”, sugerindo que, ainda que o indivíduo tenha diversos parceiros e recorra ao uso do preservativo, a exposição ao HCV e outras doenças sexualmente transmissíveis diminuem. Vale ressaltar que os questionamentos realizados aos participantes do estudo foram baseados na visão temporal sobre a possibilidade de terem sido acometidos ou realizadas ações que evidenciaram fatores de risco em algum momento da vida.

Estudos realizados com doadores de sangue relatam a prevalência maior de anti-HCV em doadores de primeira vez (GARCIA et al., 2008; SILVA, 2008; GARCIA et al., 2009; LIMA, 2010; BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012). Neste estudo, foi observado números aproximados entre doadores de primeira vez (45,5%) e doadores de repetição (54,5%) entre aqueles que aceitaram participar do estudo. Doadores de primeira vez já foram considerados grupo de risco entre os doadores para transmissão do HCV (BARROSO; BRITO JUNIOR, 2012). Doadores de repetição são considerados mais seguros do que doadores de primeira vez, uma vez que os doadores de repetição são acostumados com os questionamentos da triagem clínica da doação (CHOUDHURY et al., 2011). Entretanto, devido a população do estudo ser jovem, sugere-se que poderá haver uma influência desta população após comportamentos de risco e omissão de informações durante a triagem clínica.

Apesar do questionamento da possibilidade ou não de múltiplos parceiros, foi observado que 31,8% dos participantes responderam “sim” ao ser questionado se já fez ou faz sexo anal ou oral sem uso do preservativo, levando em consideração que tais exposições estão relacionadas ao aumento de doenças sexualmente transmissíveis, incluindo como fator de risco para a infecção pelo HCV. Não obstante, há descrições sobre a detecção de HCV na saliva de indivíduos infectados sugerindo a possibilidade de transmissão quando se realiza sexo oral pela troca de fluidos, mesmo que a mucosa apresente ou não alguma lesão (GONÇALVES et al., 2005; LUNA et al., 2008; MENEZES et al., 2012). E, muitas das vezes, a presença de RNA-HCV na saliva independe da carga viral do indivíduo (LINS et al., 2005).

Cerca de 68,2% dos participantes relataram a ocorrência de algum tipo de cirurgia, incluindo procedimentos de extração dentária e um participante (4,5%) relatou a necessidade de receber transfusão de sangue ou hemoderivados. Entretanto, quando questionados sobre a data dos procedimentos, foi observado período posterior ao ano de 1993, data a qual foi inserido os testes de triagem para a hepatite C nos bancos de sangue do Brasil.

Em um estudo realizado no sul do Brasil relacionando os genótipos HCV e os fatores de riscos, entre eles foi relatada baixa relação entre a terapia por acupuntura, tatuagens, piercing e a infecção pelo HCV (PARABONI et al., 2012), dados semelhantes ao encontrado neste estudo onde 100% dos participantes não utilizavam este tipo de terapia e 9% possuíam tatuagem ou piercing.

Entre os 22 doadores, 36,6% relataram o uso de bebidas alcoólicas, entretanto isso não afirma que estes doadores são dependentes de álcool. Existe possibilidade de aproximadamente 10,5% dos alcoolistas serem portador do HCV e o uso de drogas injetáveis é um dos fatores de risco (GALPERIM et al., 2006).

Além disso, tem-se descrito a possibilidade da transmissão do HCV por meio do contato com utensílios de uso pessoal ou por meio da contaminação de instrumental e utensílios contaminados com sangue infectado (CIORLIA; ZANETTA et al., 2007). Neste estudo foi evidenciado que 36,6% dos participantes já tinha compartilhado itens de higiene, todavia tem-se evidenciado a possível transmissão do HCV entre objetos de higiene, especificamente o compartilhamento de escova de dentes, lâminas de barbear e cortador de unhas (CAVALHEIRO et al., 2010). Em doadores de sangue com anti-HCV positivo e RNA- HCV positivo ao serem questionados sobre fatores de risco, foi associado o uso de compartilhamento desses objetos, inclusive em salões de beleza, manicure, pedicure e barbearia sugerindo que esses doadores foram expostos ao HCV (VALOIS et al., 2014).

No presente estudo, um doador relatou um episódio de acidente ocupacional com material biológico (4,5%). A transmissão do HCV após acidente com agulha pode ocorrer com risco aproximadamente dez vezes maior que a transmissão pelo HIV, sem a possibilidade de prevenção após a exposição, o que já acontece com o vírus HIV (MONTELLA et al., 2005; CIORLIA; ZANETTA et al., 2007). A ocorrência de HCV entre os profissionais da saúde varia de 2% a 10%, associando-se o risco de contágio com o tempo de serviço, realização de procedimentos invasivos e ocorrência de acidentes percutâneos, sendo o sangue fonte de infecção de maior frequência. Além do mais o risco de infecção varia de acordo com o tipo de exposição e outros fatores de risco (MONTELLA et al., 2005; MARCONI et al., 2010).

Ainda, foi observado uma perda (não comparecimento) dos doadores durante a convocação para a coleta de 2ª amostra, considerando que alguns demoram entre 6 a 12 meses para comparecer a unidade. Sendo este fato, motivo de limitação para o estudo. É comum o não comparecimento dos doadores para a realização do teste confirmatório de aproximadamente 60% daqueles que são convocados (VALENTE; COVAS; PASSOS, 2005; GARCIA et al., 2008).

Atualmente, a infecção pelo vírus HCV requer a combinação de marcadores, como a detecção do anti-HCV e a detecção do RNA viral por meio do teste de ácidos nucleicos (NAT). Neste estudo, os doadores estavam se submetendo ao teste de 2ª amostra para confirmação da infecção pelo HCV.

Contudo, não se pode descartar evidências do marcador anti-HCV, mesmo que resultados sejam indeterminados, pois há possibilidade desses doadores passarem por *clearence* plasmático sugerindo possível *clearence* viral e e/ou cura da infecção, o que ocorre em aproximadamente 20% a 50% dos infectados pelo HCV (MICALLEF; KALDOR; DORE, 2006; GARCIA et al., 2008).

Os hemocomponentes oriundos desses doadores foram descartados conforme preconizado legislação vigente no período da triagem da doação de sangue e com a finalidade de manter a segurança transfusional.

CONCLUSÃO

A prevalência do anti-HCV no ano de 2014 foi de 0,17% no Hemoraima. O perfil dos doadores que apresentaram anti-HCV positivo ou indeterminado e/ou NAT HCV tiveram como características jovens entre 18-29 anos, predomínio do sexo masculino, solteiros, procedentes da capital Boa Vista, sem histórico de atividade laborais de risco para a infecção pelo HCV e de doadores de repetição. Alguns doadores apresentaram evidências de exposição a fatores de risco, sendo os principais: procedimentos cirúrgicos, uso de bebidas alcoólicas, compartilhamento de objetos de higiene, múltiplos parceiros e relações sexuais sem uso de preservativo.

O conhecimento do perfil de doadores anti-HCV positivo ou indeterminado com ou sem NAT detectável e seus possíveis fatores de risco, pode subsidiar estratégias para atingir outros grupos de pessoas aptas a doar sangue.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) e ao Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Roraima.

REFERÊNCIAS

BARROSO, E. DO C.; BRITO JUNIOR, L. C. Demographic characteristics of HCV EIA repeat reactive blood donors. **Revista Paraense de Medicina**, v. 26, n. 4, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais**, Brasília, 2012.

CALEGARI, C. B. et al. Perfil Epidemiológico dos Pacientes Portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) Coinfectados com o Vírus da Hepatite C (HCV) no

Ambulatório de DST/Aids da Cidade de Criciúma. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 23, n. 2, p. 90–94, 2011.

CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C virus detection in the semen of infected patients. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, p. 358–361, 2008.

CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C: sexual or intrafamilial transmission? Epidemiological and phylogenetic analysis of hepatitis C virus in 24 infected couples. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 239–244, 2009.

CAVALHEIRO, N. DE P. et al. Hepatitis C virus: molecular and epidemiological evidence of male-to-female transmission. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. 427–432, 2010.

CEPEDA, J. A. et al. Moderate/heavy alcohol use and HCV infection among injection drug users in two Russian cities. **Drug and alcohol dependence**, v. 132, n. 3, p. 571–579, 1 out. 2013.

CANDOTTI, D. et al. Frequent Recovery and Broad Genotype 2 Diversity Characterize Hepatitis C Virus Infection in Ghana, West Africa. **Journal of Virology**, v. 77, n. 14, p. 7914–7923, jul. 2003.

CHOUDHURY, N. et al. Serial follow-up of repeat voluntary blood donors reactive for anti-HCV ELISA. **Asian Journal of Transfusion Science**, v. 5, n. 1, p. 26–31, jan. 2011.

CIORLIA, L. A. DE S.; ZANETTA, D. M. T. Hepatite C em profissionais da saúde: prevalência e associação com fatores de risco. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, p. 229–235, 2007.

FAGUNDES, G. D. et al. Detection of the Hepatitis C virus in a population of adults. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 16, p. 396–400, 2008.

GALPERIM, B. et al. Prevalence of hepatitis C virus in alcoholic patients: role of parenteral risk factors. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 43, p. 81–84, 2006.

GARCIA, F. B. et al. Importância dos testes sorológicos de triagem e confirmatórios na detecção de doadores de sangue infectados pelo vírus da hepatite C. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 218–222, 2008.

GARCIA, F. B. et al. Epidemiological profile of hepatitis C in blood donors at the Uberaba Regional Blood Center. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 1–4, 2009.

GONÇALVES et al. Soroprevalência de HIV - 1/2 em doadores de sangue de Goiânia-Goiás. v. 38, n. 4, p. 263–266, 2006.

GONÇALVES, P. L. et al. Detection of hepatitis C virus RNA in saliva samples from patients with seric anti-HCV antibodies. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, p. 28–34, 2005.

HAHN, J. A. et al. Hepatitis C virus risk behaviors within the partnerships of young injecting drug users. **Addiction (Abingdon, England)**, v. 105, n. 7, p. 1254–1264, jul. 2010.

JOSAHKIAN, J. A. et al. Prevalência de Inaptidão Sorológica pelo Vírus HCV em doadores de sangue no Hemocentro Regional de Uberaba (MG), Fundação Hemominas. v. 39, n. 4, p. 261–271, 2010.

LIMA, T. A. DE. **Caracterização de Mediadores Inflamatórios em Doadores de Sangue infectados com o vírus da hepatite C**. Dissertação de Mestrado—Manaus: Universidade do Estado do Amazonas, 2010.

LINS, L. et al. Detection of hepatitis C virus RNA in saliva is not related to oral health status or viral load. **Journal of Medical Virology**, v. 77, n. 2, p. 216–220, 1 out. 2005.

LOPES, C. L. R. et al. Prevalência, fatores de risco e genótipos da hepatite C entre usuários de drogas. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, p. 43–50, 2009.

LUNA, M. et al. Detección de arn de virus hepatitis c en la saliva de un grupo de pacientes con hepatitis c crónica. **Acta Odontológica Venezolana**, v. 46, p. 269–272, 2008.

MARCONI, A. et al. Prevalence of hepatitis C virus infection among health-care workers: A 10-year survey. **Molecular medicine reports**, v. 3, n. 4, p. 561–564, 2010.

MARTINS, T.; NARCISO-SCHIAVON, J. L.; SCHIAVON, L. DE L. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 57, p. 107–112, 2011.

MENEZES, G. B. L. et al. Hepatitis C virus quantification in serum and saliva of HCV-infected patients. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 680–683, 2012.

MICALLEF, J. M.; KALDOR, J. M.; DORE, G. J. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 13, n. 1, p. 34–41, 1 jan. 2006.

MONTELLA, M. et al. An assessment of hepatitis C virus infection among health-care workers of the National Cancer Institute of Naples, Southern Italy. **The European Journal of Public Health**, v. 15, n. 5, p. 467–469, 12 out. 2005.

OPAS. **Organização Pan-Americana da Saúde**. Disponível em: <http://www.paho.org/bireme/index.php?option=com_content&view=article&id=251%3Adia-mundial-da-hepatite-2014-pense-novamente&Itemid=73&lang=pt>. Acesso em: 14 jul. 2015.

PARABONI, M. L. R. et al. Risk Factors for Infection with Different Hepatitis C Virus Genotypes in Southern Brazil. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 946954, 2012.

RAMOS, V. F.; FERRAZ, F. N. Perfil epidemiológico dos doadores de sangue do Hemonúcleo de Campo Mourão-PR no ano de 2008. v. 5, n. 2, p. 14–21, 2010.

SILVA, K. L. T. **Caracterização sorológica e molecular da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em doadores de sangue do Estado do Amazonas**. Tese de doutorado—São Paulo: Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, 2008.

SILVEIRA, L. DA et al. Clinical and epidemiological profile of blood donors with positive serology for viral hepatitis in southern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 269–273, 2011.

STASI, C. et al. The epidemiological changes of HCV and HBV infections in the era of new antiviral therapies and the anti-HBV vaccine. **Journal of Infection and Public Health**, n. 0, 2015.

TORRES, K. L. et al. Hepatitis C Virus in Blood Donors, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 4, p. 676–678, abr. 2009.

VALENTE, V. B.; COVAS, D. T.; PASSOS, A. D. C. Marcadores sorológicos das hepatites B e C em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 488–492, 2005.

VALOIS, R. C. et al. HCV infection through perforating and cutting material among candidates for blood donation in Belém, Brazilian Amazon. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, p. 511–515, 2014.

WHO. **World Health Organization**. Disponível em:
<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>>. Acesso em: 14 jul. 2015.



Foto: Defesa da dissertação de mestrado.

Dra. Kátia, Dra. Adriana, Iaci e Dr. Vallinoto.