

Giovanni Faria Silva

**GENÓTIPOS DO VÍRUS DA HEPATITE C (VHC) EM
DOADORES DE SANGUE DA REGIÃO DE
BOTUCATU: RELAÇÃO COM ASPECTOS
EPIDEMIOLÓGICOS E COM A SEVERIDADE DAS
LESÕES HEPÁTICAS.**

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

CAMPINAS

2001

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Giovanni Faria Silva

**GENÓTIPOS DO VÍRUS DA HEPATITE C (VHC) EM
DOADORES DE SANGUE DA REGIÃO DE
BOTUCATU: RELAÇÃO COM ASPECTOS
EPIDEMIOLÓGICOS E COM A SEVERIDADE DAS
LESÕES HEPÁTICAS.**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Clínica Médica, área de Clínica Médica.

Orientadora:
Profª. Dra. **Elza Cotrim Soares**

CAMPINAS

2001



FE0107003

UNIDADE	BC		
N.º CHAMADA	T/ UNICAMP		
	Si 38g		
V.	Ex.		
TOMBO BC	44546		
PROC.	16-392101		
C	<input type="checkbox"/>	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREC.	R\$ 11,00		
DATA	17/05/01		
N.º CPD			

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

CM-00155210-2

Si38g Silva, Giovanni Faria
Genótipos do vírus da hepatite C (VHC) em doadores de sangue da região de Botucatu : relação com aspectos epidemiológicos e com a severidade das lesões hepáticas / Giovanni Faria Silva. Campinas, SP : [s.n.], 2001.

Orientador : Elza Cotrim Soares
Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hepatite por vírus. 2. Histopatologia. 3. Epidemiologia. I. Elza Cotrim Soares. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador(a): *Profa. Dra. Elza Cotrin Soares*



Membros:

1. _____

2. _____

3. _____

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data:

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

À meus pais Maria Vicência e João
Aos meus irmãos Leonardo e Marcelo
À Raquel, Giovanni, Lucas e Luiza, com
amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus.

À Profa. Dra. Elza Cotrim Soares pela orientação, amizade e confiança. Sua ajuda e incentivo foram imprescindíveis na realização deste trabalho.

Aos doadores de sangue que participaram deste estudo.

À Disciplina de Gastroenterologia Clínica do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, em especial aos grandes amigos: Prof. Dr. Pedro Achilles, Prof. Dr. Carlos Antonio Caramori, Prof. Dr. Tibirê Alves de Rezende, Dr. Pedro Padula Neto.

À Dra. Nancy F. Nishimura, responsável pela realização da genotipagem do VHC desta pesquisa, e pela amizade.

À Profa. Dra. Kunie Iabuki Rabello Coelho pela revisão histopatológica dos casos, e também pelo incentivo.

Aos amigos José Grassi, Amando de Assis Laperuta e José Georgette, pela colaboração na pesquisa.

Ao amigo e colega Dr. Marcos Mauad do Hospital Amaral de Carvalho de Jaú, pelo encaminhamento de doadores.

Aos residentes da Disciplina de Gastroenterologia Clínica da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, pela ajuda na realização da biópsia hepáticas.

Aos grandes amigos: Jadir N. Moraes, Luiz C. Vecchia, pelo auxílio neste trabalho.

Ao meu primo Jorge Antonio Cury Saad, pela sua agradável companhia em Campinas.

Às biólogas Natalicia e Darci, do Laboratório de Hepatologia do Gastrocentro, FCM/UNICAMP.

Ao meu amigo Mario Augusto Dallaqua, que muito me ajudou na editoração do texto.

À Andreia, Cleide e Helimar da Comissão de Pesquisa e Estatística da FCM/UNICAMP.

À Jorgette, José Ramos e família pelo carinho e incentivo.

Ao Dr. Fábio Iuan, responsável pelo Hemocentro da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, pela sua colaboração.

Às pessoas que me auxiliaram durante a realização deste estudo, que involuntariamente possa ter esquecido de mencionar.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro dado a Profª. Dra. Elza Cotrim Soares, minha orientadora, que permitiu a realização da genotipagem do vírus da hepatite C nesta pesquisa.

SUMÁRIO

RESUMO	xxxiii
1. INTRODUÇÃO	37
1.1 Histórico	39
1.2 História Natural da Hepatite C	40
1.3 Epidemiologia da Hepatite C	44
1.4 Aspectos Morfológicos do VHC	51
1.5 Patogênese do VHC	55
1.6 Heterogeneidade Genética do VHC	56
2. OBJETIVOS	63
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	66
3.1 Casuística	68
3.2 Métodos	69
3.3 Avaliação Histopatológica	71
3.4 Método da Genotipagem	75
3.4.1 Amplificação da Região 5'NC do VHC	75
3.4.2 Método da Genotipagem	76
3.5 Método Estatístico	78
4. RESULTADOS	79
5. DISCUSSÃO	108
5.1 Considerações sobre a Casuística	110
5.2 Considerações sobre os Resultados	112
5.2.1 Gênero	112
5.2.2 Idade	112
5.2.3 Doações de Sangue Prévias	113
5.2.4 Fatores de Risco	114
5.2.4.1 UDI	115
5.2.4.2 UDIn	116
5.2.4.3 Uso do Gluconergan®	117

5.2.4.4	Passado de Transfusões antes de 1993	118
5.2.4.5	Tatuagem	118
5.2.4.6	Risco Sexual	119
5.2.4.7	Outros Fatores de Risco	120
5.2.5	Genótipos do VHC	120
5.2.5.1	Associações com Fatores Epidemiológicos	121
5.2.5.2	Associações com Gradação Histológica	122
5.2.6	Avaliação Histológica: Estadiamento da Fibrose	123
5.2.6.1	Associações com Gênero, modo de Transmissão e consumo de álcool	124
5.2.6.2	Associações com Idade na Contaminação e com a Duração da Infecção	125
5.2.6.3	Associação com Marcador Anti-HBc do VHB	126
5.2.6.4	Associação com os Genótipos do VHC	126
5.2.6.5	Associação com a Atividade das Transaminases	127
5.2.7	Regressão Logística	127
5.2.7.1	Análise Univariada	127
5.2.7.2	Análise Multivariada	129
6.	CONCLUSÕES	130
7.	SUMMARY	133
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	136
9.	ANEXOS	158

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição dos pacientes quanto ao gênero	81
Tabela 2: Distribuição dos pacientes quanto à idade	81
Tabela 3: Distribuição dos pacientes quanto ao estado civil	82
Tabela 4: Distribuição dos pacientes quanto a doações prévias	82
Tabela 5: Distribuição dos pacientes quanto ao uso de drogas inalatória (UDIn)	84
Tabela 6: Distribuição dos pacientes quanto ao uso de drogas injetáveis (UDI)	84
Tabela 7: Distribuição dos pacientes quanto à presença de tatuagem	84
Tabela 8: Distribuição dos pacientes quanto ao uso de Gluconergan®	84
Tabela 9: Distribuição dos pacientes quanto ao passado de transfusão sanguínea antes de 1993	85
Tabela 10: Distribuição dos pacientes quanto ao passado de promiscuidade sexual	86
Tabela 11: Distribuição dos pacientes quanto ao passado de relação homossexual	86
Tabela 12: Distribuição dos pacientes quanto ao passado de Doença Sexualmente Transmissíveis (DST)	86
Tabela 13: Distribuição dos pacientes quanto ao passado de trabalho como profissionais de saúde	86
Tabela 14: Distribuição dos pacientes quanto a contatos com familiares	87
Tabela 15: Distribuição dos pacientes a antecedentes de hepatite	88
Tabela 16: Distribuição dos pacientes quanto à dose de álcool (em gramas) ingerida diariamente	88
Tabela 17: Distribuição dos pacientes quanto à presença do anti-HBc	89
Tabela 18: Distribuição dos pacientes quanto ao número de vezes a atividade da AST está do LSN	89
Tabela 19: Distribuição dos pacientes quanto ao número de vezes a atividade da ALT está do LSN	90
Tabela 20: Distribuição dos pacientes quanto ao estadiamento da fibrose hepática (alterações estruturais)	91
Tabela 21: Distribuição dos pacientes quanto a atividade necro-inflamatória no CP.....	91
Tabela 22: Distribuição dos pacientes quanto a atividade necro-inflamatória no CPP ...	91
Tabela 23: Distribuição dos pacientes quanto à atividade necro-inflamatória no CL	92
Tabela 24: Distribuição dos pacientes quanto aos genótipos agrupados	93
Tabela 25: Distribuição dos pacientes quanto aos genótipos do VHC, classificados em subtipos	93
Tabela 26: Distribuição dos pacientes quanto ao tempo estimado da duração da infecção, em anos	95
Tabela 27: Distribuição dos paciente quanto a faixa etária no momento da contaminação	95
Tabela 28: Distribuição do gênero dos pacientes quanto ao estadiamento da fibrose	96
Tabela 29: Distribuição dos pacientes com passado de UDIn quanto ao estadiamento da fibrose	97
Tabela 30: Distribuição dos pacientes com passado de UDI quanto ao estadiamento da fibrose	97
Tabela 31: Distribuição dos pacientes que usaram Gluconergan® quanto ao estadiamento da fibrose	97
Tabela 32: Distribuição dos pacientes com passado transfusional quanto ao estadiamento da fibrose	98

Tabela 33:	Distribuição dos pacientes de acordo com a dose de álcool ingerida por dia quanto ao estadiamento da fibrose	98
Tabela 34:	Distribuição da atividade da AST em número de vezes acima do LSN quanto ao estadiamento da fibrose	99
Tabela 35:	Distribuição da atividade da ALT em número de vezes acima do LSN quanto ao estadiamento da fibrose	99
Tabela 36:	Distribuição do intervalo de tempo estimado da infecção pelo VHC quanto ao estadiamento da fibrose	100
Tabela 37:	Distribuição dos pacientes em grupos de faixa etária no provável momento da contaminação pelo VHC, quanto ao estadiamento da fibrose	100
Tabela 38:	Distribuição dos genótipos do VHC quanto ao estadiamento da fibrose	100
Tabela 39:	Distribuição dos pacientes com passado de UDI quanto ao genótipo do VHC	101
Tabela 40:	Distribuição dos pacientes com passado de UDI quanto ao genótipo do VHC	101
Tabela 41:	Distribuição dos pacientes com antecedentes de uso do Gluconergan®, quanto ao genótipo do VHC	101
Tabela 42:	Distribuição dos pacientes com antecedentes transfusionais quanto ao genótipo do VHC	102
Tabela 43:	Distribuição dos pacientes com história de contato familiar quanto ao genótipo do VHC	102
Tabela 44:	Distribuição dos pacientes de acordo com o tempo estimado da infecção pelo VHC, quanto ao genótipo	103
Tabela 45:	Distribuição dos pacientes de acordo com a idade estimada na época da contaminação pelo VHC, quanto aos genótipos	103
Tabela 46:	Regressão logística univariada para a variável (estadiamento)	106
Tabela 47:	Resultado final da regressão logística para estadiamento (n=76)	107

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Organização Genômica do VHC modificada de Fang et al., 1997	53
Figura 2: Material de biópsia hepática corado por HE (10X). Classificação histológica (GAYOTTO et al., 2000): Estadiamento 4	73
Figura 3: Material de biópsia hepática corado por Masson (10X). Classificação histológica (GAYOTTO et al., 2000): Estadiamento 3.....	73
Figura 4: Material de biópsia hepática corado por Masson (10X). Classificação histológica (GAYOTTO et al., 2000): Estadiamento 2.....	74
Figura 5: Material de biópsia hepática corado por Masson (10X). Classificação histológica (GAYOTTO et al., 2000): Estadiamento 1.....	74
Gráfico 1: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto ao gênero	81
Gráfico 2: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto as doações de sangue prévias	82
Gráfico 3: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto aos fatores de risco	85
Gráfico 4: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto aos fatores de risco associados às atividades sexual e a ocupacional	87
Gráfico 5: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto à dose de álcool ingerida diariamente	88
Gráfico 6: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto ao número de vezes a atividade da AST e ALT está acima do LSN	90
Gráfico 7: Representação gráfica dos pacientes quanto à análise histológica: estadiamento da fibrose e atividade necro-inflamatória	92
Gráfico 8: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto aos genótipos agrupados do VHC	93
Gráfico 9: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto aos genótipos e subtipos do VHC	94
Gráfico 10: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto ao tempo estimado da infecção (em anos)	95
Gráfico 11: Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto a faixa etária do provável momento em que ocorreu a contaminação	96

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	: Alanina-aminotransferase (TGP)
Anti-HBc	: Anticorpo anti-antígeno core do vírus da hepatite B
Anti-VHC	: Anticorpo anti-vírus da hepatite C
AST	: Aspartato-aminotransferase (TGO)
bDNA	: Técnica de amplificação do DNA de cadeia ramificada
CDC	: Centro de controle de doenças
c-DNA	: Ácido deioxiribonucleico complementar
DST	: Doenças Sexualmente Transmissíveis
E1/E2	: Região envelope 1/envelope 2 do vírus da hepatite C
ELISA	: Técnica imunoenzimática
Gama-GT	: Gama glutamil transferase
HIV	: Vírus da imunodeficiência adquirida
HLA	: Antígeno de histocompatibilidade
LiPA	: “Line Probe Assay” – Técnica de genotipagem baseada na hibridização reversa
LSN	: Limite superior da normalidade
NANB	: Não-A, Não-B
NC	: Região não codificada do vírus da hepatite C
NS	: Região não estrutural do vírus da hepatite C
PCR	: Reação em cadeia da polimerase
RFLP	: Técnica de genotipagem que usa sítio de restrição (restrição do fragmento polimórfico)
RIBA	: Técnica “imunoblot” recombinante
RNA	: Ácido ribonucleico
RNA VHC	: Ácido ribonucleico do vírus da hepatite C
VHB	: Vírus da hepatite B
VHC	: Vírus da hepatite C
UDI	: Uso de drogas injetáveis
UDIn	: Uso de drogas inalatórias

RESUMO

Os objetivos deste estudo foram pesquisar as associações entre os genótipos do VHC, e modos de transmissão da infecção por este vírus em uma população de doadores de sangue da região de Botucatu, São Paulo, estudar a associação entre estadiamento da doença e os genótipos encontrados, além de avaliar os fatores de risco envolvidos na progressão da doença. A população avaliada foi composta por 100 doadores de sangue consecutivos, portadores do anti-VHC positivo, em todos com posterior determinação do VHC por PCR. Foram estudados diversas variáveis: sexo, idade, comportamento sexual, idade à contaminação, tempo de infecção, e fatores de risco associados a infecção pelo VHC entre outros. A biópsia hepática foi realizada para avaliar o estadiamento da doença e atividade necro-inflamatória. Em 8 doadores, não se conseguiu a extração do RNA do VHC, em 3 não se conseguiu o c-DNA e em 78 deles foi permitida a biópsia hepática. A maioria dos doadores era de homens (84,3%) e em apenas 3,3% não foi relatado qualquer fator de risco para esta infecção. A contaminação ocorreu por UDI (25,8%), uso de injeções não seguras do medicamento Gluconergan® (48,2%) e, por transfusão de sangue (14,9%). Em 44,9% deles encontramos o genótipo 1, em 40,5% o 3, e em uma minoria o genótipo 2. Não houve associações entre os diversos fatores relacionados à infecção e os genótipos, bem como o estadio da fibrose e os genótipos. Também não houve associação entre a progressão da doença e o etilismo crônico, bem como com a idade na ocasião da infecção e com a duração desta doença. Houve, sim, uma associação significativa entre as atividades da AST e da ALT e o estadiamento da fibrose. A análise de regressão univariada revelou que a idade na contaminação, a idade do paciente, os níveis elevados de gama-GT e a atividade das transaminases acima de 3 vezes o LSN foram associadas a fibrose nos estadios de 2 a 4. A regressão logística multivariada detectou como fatores independentes, influenciando na progressão da doença: a idade (Odds = 1,19) e níveis de gama-GT (Odds = 2,02).

1. INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO

Após a descoberta dos vírus B, A e posteriormente do agente D, remanesceu uma população de pacientes com hepatite adquirida por via parenteral ou esporádica, cujos exames sorológicos eram negativos para estes vírus. Entretanto, com base em estudos epidemiológicos em meados de 1970, ficou sugestivo que os casos de hepatites com sorologia negativa para os vírus B, A e D poderiam ser secundários a pelo menos dois tipos diferentes de vírus, um relacionado a hepatite pós-transfusional (PRINCE et. al., 1974), e outro com transmissão fecal-oral, semelhante ao vírus A, sem evolução para a cronicidade. Em consequência destas observações epidemiológicas, a doença passou a ser denominada de hepatite não-A, não-B (NANB).

Posteriormente, pesquisadores do CDC, estudando pacientes que desenvolveram hepatite pós-transfusional NANB, demonstraram que o agente infeccioso apresentava determinadas propriedades físico-químicas. No início dos anos 80 foi demonstrado que a doença era transmitida a humanos e a chimpanzés. Estas confirmações fizeram cair as dúvidas a respeito da inexistência de uma doença viral distinta, ao invés de uma anormalidade laboratorial que cursava com aumento de transaminases, acompanhando estados pós cirúrgicos (ALTER & SEEFF,2000).

Nesta mesma época, estudos usando filtros, com membrana de policarbonato apresentando poros de diversos calibres, mostraram que o agente transmissor da hepatite pós-transfusional tinha entre 30 a 50 nm de tamanho (FANG, CHOW, LAU, 1997).

Ensaio clínicos iniciais, reconheceram as hepatites NANB como uma doença relativamente benigna e discreta, que geralmente não apresentava as manifestações clínicas das hepatites A ou B (DIENSTAG, 1983).

Apenas em 1989, pesquisadores da Chiron Corporation realizaram a clonagem de um vírus, a partir de sua extração do plasma de chimpanzés infectados por soros de pacientes que tiveram hepatite pós-transfusional NANB (CHOO et. al., 1989). Após a síntese do DNA complementar, e sua inserção em um vetor (*E. coli*), colocou-se este substrato em contato com o soro de um paciente com hepatite pós-transfusional NANB. Formou-se assim um reativo com um clone largo, chamado C 100-3. Detectou-se a seguir, por meio de imunoensaio, um anticorpo complementar, surgindo assim o teste de primeira geração (CHOO et al., 1989; SHERLOK, 1996) para este microorganismo.

A descoberta e a caracterização do vírus da hepatite transfusional NANB, agora denominado de vírus da hepatite C (VHC), por CHOO et al. (1989), representaram um marco na história da virologia, mostrando que a maior parte das hepatites virais NANB tinham por agente etiológico o vírus recém descoberto. KUO et al. (1989) demonstraram que a hepatite NANB era responsável por mais de 90% dos casos de hepatite pós-transfusionais nos Estados Unidos da América. Dados similares foram relatados por KOPSTEIN et al. (1984), no Brasil.

1.2 HISTÓRIA NATURAL DA HEPATITE C

A infecção pelo VHC é um problema de saúde pública mundial, extremamente grave. Sua prevalência global é de 3% da população, com uma variação de 0,1 a 5% em diferentes países (EASL, 1999; WASLEY & ALTER, 2000). Portanto, estima-se que pelo menos 170 milhões de pessoas estão infectadas pelo VHC em nosso planeta. No Brasil, a partir de dados procedentes de bancos de sangue, presume-se que cerca de 3.000.000 de pessoas são portadoras do VHC (VANDERBORGHT et al., 1993; LIMA, LIMA, PETER, 1995).

Esta doença, na fase aguda, é freqüentemente sub-clínica e tem uma evolução para a cronicidade em torno de 85% (SEEFF, 1997; ALTER et al., 1997; PURCELL, 1997; ALTER & SEEFF, 2000), a qual resulta em cirrose hepática em aproximadamente 20% dos casos, apresentando potencial para desenvolver hepatocarcinoma em cerca de 1 a 4% destes pacientes por ano (EASL, 1999; DI BISCEGLIE, 1997). A partir da publicação de KIYOSAWA et al. (1990), a trajetória evolutiva da infecção pelo VHC ficou mais clara, inclusive sua relação com o hepatocarcinoma. Posteriormente TONG et al. (1995) também reportaram a evolução da infecção aguda pelo VHC para hepatite crônica, desta para cirrose hepática e para hepatocarcinoma, nos períodos de tempo de 13, 20 e 28 anos respectivamente, ratificando os dados de KIYOSAWA et al. (1990).

Nos Estados Unidos da América, dados de 1998 demonstram que 20% das hepatites agudas, 70% das crônicas e 30% das hepatopatias terminais são causadas pelo VHC (HOOFNAGLE, 1997). Através de um modelo matemático, DAVIS et al. (1998), projetaram para o ano de 2008 os futuros resultados da infecção pelo VHC, mostrando um aumento da participação deste agente em 60% dos casos de cirrose hepática por esta etiologia, de 280% dos casos de doenças do fígado descompensadas, de 68% dos hepatocarcinomas, além de 530% das indicações de transplante hepático.

Entretanto, alguns estudos mostram que a história natural da infecção pelo VHC ainda não é totalmente conhecida, uma vez que o desenvolvimento inevitável para a cirrose hepática não parece ser uma regra bem definida em todas as populações estudadas, como por exemplo em mulheres irlandesas contaminadas em 1977 e 1978 por imunoglobulina anti-D. Destas, apenas 2% desenvolveram cirrose hepática após 17 anos de seguimento (KENNY-WALSH & IRISH HEPATOLOGY RESEARCH GROUP, 1999). Outra população estudada que tem mostrado tendência a uma menor evolução para cirrose hepática são os usuários de drogas injetáveis (SILINI et al., 1995; OSTAPOWICZ, BELL,

DESMOND, 1999), quando comparados com pacientes transfundidos. GORDON et al. (1998), usando a análise de regressão logística, demonstraram que apenas o modo de transmissão pós-transfusional, teve um valor preditivo para o desenvolvimento da falência hepática, na infecção pelo VHC. TONG et al. (1995), estudando 131 pacientes com hepatite C pós-transfusional, mostraram que a maioria apresentava cirrose hepática e uma boa parte deles evoluíram para óbito em decorrência de complicações relacionadas à cirrose.

Com relação à evolução dos pacientes com cirrose hepática instalada, FATTOVICH et al. (1997) observaram que muitos deles são assintomáticos e parecem gozar de uma longa sobrevida. Este estudo foi um coorte com 384 pacientes europeus, com seguimento por um período de 5 anos, que mostrou uma taxa de 18% dos casos com descompensação da cirrose hepática, e 7% com evolução para hepatocarcinoma. A mortalidade no grupo foi de 13,3%, sendo que 9% deles morreram de causas relacionadas à descompensação hepática. O cálculo da probabilidade de sobrevida foi de 91% e 79% em 5 e 10 anos, respectivamente, a menos que ocorresse descompensação do quadro. Quando esta aconteceu, a sobrevida em 5 anos caiu para 50%. Um estudo francês (SERFATY et al., 1998) mostrou que 25% de 103 pacientes com cirrose desenvolveram complicações em um período médio de 4 anos de seguimento, consistindo de 11 pacientes com hepatocarcinoma e 14 que descompensaram na ausência da neoplasia. A mortalidade foi de 16% no período, todos com causas relacionadas à cirrose. HU & TONG (1999), acompanhando 112 pacientes americanos por um tempo médio de 4,5 anos, encontraram uma probabilidade cumulativa de descompensação hepática e de desenvolver hepatocarcinoma de 22 e 10%, em 5 anos. Portanto, os estudos mostram que os pacientes com cirrose tem uma evolução lenta e progressiva, porém uma vez desenvolvida a descompensação da cirrose, a doença progride mais rapidamente, aumentando a mortalidade.

Cerca de 30 a 40% dos pacientes com hepatite crônica pelo VHC apresentam atividade das transaminases séricas persistentemente dentro da normalidade (ALTER et al., 1999). A história natural destes pacientes ainda não está totalmente clara. ZYLBERBERG et al. (1999a), estudando 23 pacientes com atividade de transaminases persistentemente normal, observaram 20% deles apresentando à biópsia fibrose acentuada ou cirrose, e a maioria com atividade inflamatória moderada. Entretanto, PERSICO et al. (2000) em estudo prospectivo, acompanhando 37 pacientes com biópsias, no início da pesquisa e após 5 anos de seguimento, revelaram resultados histológicos comparáveis no início e término do estudo, e 73% dos pacientes permaneceram com a atividade das transaminases normal durante todo o seguimento.

A história natural da infecção pelo VHC mostra que a doença tem uma importância considerável, pela sua elevada prevalência, porém na grande maioria dos pacientes infectados a doença manifesta-se de uma forma branda, com morbidade e mortalidade insignificante ou talvez com evolução muito lenta. O grande problema é que não se pode prever os 20 a 30% dos pacientes que desenvolverão cirrose hepática, com suas temíveis complicações.

Este paradoxo na evolução da infecção VHC tem sido motivo de inúmeras pesquisas, para tentar elucidar tais dúvidas, e talvez responder algumas perguntas dos indivíduos infectados, como: “*eu estou realmente com alguma doença?*”; ou “*quando eu vou começar a ter sintomas desta doença?*”; ou “*qual a probabilidade de eu morrer com esta doença?*”; ou “*eu preciso realmente tratar esta doença?*”. (Parodiando ALTER & SEEFF (2000)).

Atualmente, vários estudos sugerem alguns fatores que parecem ter influência na progressão da hepatite pelo VHC. Postulam-se os seguintes fatores virais: carga viral, genótipo do VHC, multiplicidade de quasispécies. Os fatores do hospedeiro são: idade do

paciente quando ocorreu a infecção, duração da infecção, sexo, deficiência imune, susceptibilidade genética, co-infecção com outros vírus (vírus da hepatite B, vírus da imunodeficiência humana), co-morbidades como hemocromatose, sobrecarga de ferro ou obesidade. Fatores ambientais: alcoolismo crônico, dieta, cigarro, medicamentos, hepatotoxinas estabelecidas, contaminantes ambientais (BELLENTANI et al., 1999; MARTINOT-PEIGNOUX et al., 1999; ALTER & SEEFF, 2000; DI BICEGLIE, 2000).

Portanto, a infecção pelo VHC é uma doença caracterizada por um início silencioso e raro de ser identificado na maioria dos pacientes, mesmo com sua elevada prevalência. Apresenta também uma alta taxa de persistência viral, sendo a infecção crônica assintomática na maioria dos casos e com potencial para desenvolver doença hepática terminal, como na evolução de hepatite crônica para cirrose hepática e para hepatocarcinoma. Em decorrência destas características, a sua história natural não é tão precisa e clara, motivando a continuidade de estudos.

1.3 EPIDEMIOLOGIA DA HEPATITE C

Estudos da prevalência do VHC na população geral dos EUA, mostram que entre 10.132 indivíduos, 1,4% apresentaram anti-VHC positivo (ALTER, 1995), sugerindo que cerca de 3,9 milhões de americanos estão infectados pelo HCV (DI BICEGLIE & HOOFNAGLE, 1996; ALTER, 1997a; ALTER, 1997b). Mais recentemente, ALTER et al. (1999), analisando 21.241 pessoas que participaram de um estudo populacional sobre nutrição (Third National Health and Nutrition Examination Survey), revelaram que a prevalência de anti-VHC foi de 1,8%, correspondendo à estimativa prévia. Setenta e cinco por cento destes tinham positividade para o RNA do VHC, correspondendo a uma população estimada de cerca de 2,7 milhões de americanos com infecção crônica pelo VHC .

Na Itália, cerca de 2,9% da população geral apresenta positividade para anti-VHC. No Oriente, a soroprevalência é abaixo de 1% na Austrália, Nova Zelândia, China e Coréia, e acima de 2% no Japão, Yemen e Arábia Saudita (MANSELL & LOCARNINI, 1995).

A prevalência da infecção VHC é estudada em doadores de sangue, nos quais a taxa de infecção não deve ser tão alta como na população em geral. No Reino Unido e na Escandinávia a prevalência em doadores é em torno de 0,1% (0,01-0,1%). Taxas pouco mais elevadas são encontradas na América do Norte, Europa Ocidental, em alguns países da América Central e do Sul, Austrália, e em áreas limitadas da África. Uma prevalência intermediária (1,1 a 5%) é encontrada no Brasil, Leste Europeu, Mediterrâneo, Oriente Médio, subcontinente Indiano e partes da África e Ásia. Prevalência em doadores acima de 5% é descrita no Egito e na Líbia (WASLEY & ALTER, 2000).

No Brasil, a prevalência de seropositividade para o anti-VHC em doadores de sangue é em média de 2%, porém apresenta variações (de 1 a 2,6%) nas diversas regiões do país (VANDERBORGHT et al., 1993; LIMA et al., 1995). Dados mais recentes, em uma população de 1,17 milhões de doadores de sangue nas 5 regiões do Brasil, mostram uma prevalência global de 1,23% de anti-VHC positivo (GRUPO DE ESTUDO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA, 1999).

As variações encontradas na prevalência e incidência da infecção VHC são geográficas e de ordem temporal. Possivelmente muitas dessas variabilidades são explicadas pelas diferenças na frequência e extensão pelo qual diferentes fatores de risco tem contribuído na transmissão do VHC.

Existe um limitado número de estudos populacionais sobre a prevalência idade-específica da infecção VHC. Estes estudos demonstram 3 padrões epidemiológicos distintos da transmissão do VHC. Estes padrões refletem não somente variações regionais na

prevalência, mas também variações no período de tempo em que houve uma exacerbação no risco de adquirir esta infecção (WASLEY & ALTER, 2000).

Nos Estados Unidos da América e na Austrália, os estudos mostram uma baixa prevalência idade-específica em pessoas com menos de 20 anos de idade, ocorrendo um aumento constante e atingindo um pico entre os 30 a 49 anos de idade, e um declínio agudo a seguir. Este padrão sugere que a infecção VHC ocorreu em um passado recente (aproximadamente 10 a 30 anos atrás).

Um segundo padrão é encontrado no Japão e na Itália, onde a prevalência idade-específica é baixa em crianças e adultos jovens e eleva-se agudamente nas pessoas com mais de 50 anos, refletindo um risco elevado de infecção em um passado remoto (cerca de 30 a 50 anos atrás).

Um terceiro padrão é encontrado no Egito, onde as taxas de infecção pelo VHC aumentam constantemente com a idade, com altos índices de infecção em todas as faixas etárias. Este padrão mostra risco elevado de transmissão em um passado distante, que permanece nos dias atuais.

Vários estudos epidemiológicos mostram que o VHC é um vírus do “doador de sangue”. Entretanto, muitos pacientes portadores desta infecção não relatam transfusões, nem exposições diretas percutâneas, realçando um possível papel de exposições inaparentes.

Os estudos iniciais em pacientes portadores de positividade para o anti-VHC nos EUA revelaram passado de uso de drogas injetáveis em 38%, de transfusões em 4%, de pacientes hemo-dialisados em 1%. Pessoas com risco ocupacional, 2%, contato sexual ou contato familiar, 10% e população de baixo poder sócio-econômico, 44% (ALTER, 1995). Mais recentemente, um grupo de estudo das hepatites virais agudas (WILLIAMS et al., 1998) publicou uma casuística de 334 casos de hepatites agudas NANB, no período de 1991 a 1996. Em 89% dos casos, foi diagnosticado como fator etiológico o VHC, sendo que 58% eram

usuários de drogas injetáveis e 21% tinham como fator de risco a atividade sexual. Também, 4% deles apresentavam antecedentes de uso de drogas inalatórias, outros 4% história de doenças sexualmente transmissíveis e 8% foram associados a baixo nível sócio-econômico, sem causas aparentes.

No Oriente, a incidência de pessoas contaminadas pelo VHC sem uma forma de contágio aparente é de cerca de 50 a 70%. Em alguns países, como na Austrália e Taiwan, em torno de 70% dos drogaditos são soropositivos. Portanto, esta classe constitui um reservatório do VHC (MANSELL & LOCARNINI, 1995).

A transmissão iatrogênica diminuiu consideravelmente com o advento do teste “screening” anti-VHC nos doadores, reduzindo, portanto, o risco de hepatite pós-transfusional. No Japão, 10,3% dos pacientes transfundidos com 10 unidades de sangue se convertiam para anti-VHC. Atualmente, 3,9% dos pacientes transfundidos com 14 unidades se soroconvertem (MANSELL & LOCARNINI, 1995).

Como as transfusões de hemo-componentes, os transplantes de órgãos sólidos de pacientes infectados pelo VHC são fontes de transmissão. São vários os relatos da elevada eficiência na transmissão da infecção VHC através de enxertos contaminados, seja no transplante renal (TESI et al., 1994; KASI et al., 1994), ou no cardíaco (PFAN et al., 2000), ou mesmo no próprio transplante hepático (THUNG et al., 1993).

Após o melhor controle dos bancos de sangue, o uso de drogas injetáveis passou a ser a rota mais freqüente e eficaz na transmissão da infecção pelo VHC. Nos Estados Unidos da América e na Austrália, onde a maioria das infecções ocorreram em um passado recente, o modo de transmissão dominante é o uso de drogas ilícitas (MURPHY et al., 2000; RODGER et al., 2000). Em países como a Itália e Japão, onde a incidência da infecção pelo VHC é maior na faixa etária após 50 anos, esta via de contaminação é expressiva apenas na população mais jovem (WASLEY & ALTER, 2000).

O uso de cocaína intra-nasal é uma rota de transmissão do VHC que ainda deve ser melhor esclarecida, embora essa transmissão seja biologicamente viável pelo compartilhamento do “canudinho” infectado. CONRY-CANTINELLA et al. (1996), confirmaram esta hipótese estudando doadores de sangue. ALTER (1997), usando um modelo de regressão logística, demonstrou que o uso de cocaína intra-nasal, como fator de risco, em doadores de sangue RIBA positivo e negativo, foi estatisticamente significante (68x11%, $p < 0,001$). Neste mesmo estudo, através de um questionário realizado nos usuários de cocaína inalatória, mostrou que 84% compartilhavam o “canudinho”, 29% apresentavam epistaxes durante a aspiração e outros 27% relataram observar o sangramento nasal nos parceiros. Portanto, o uso de cocaína inalatória quando compartilha-se o “canudinho”, em pacientes com epistaxes, poderia representar um mecanismo de transmissão do VHC.

Com relação à transmissão sexual, parece não ser desprezível, principalmente quando existe comportamento promíscuo (doenças sexualmente transmissíveis, sexo com prostitutas ou mais de 5 parceiros por ano), ou longo tempo de exposição sexual, ou ainda co-infecção com o HIV (WILLIAMS et al., 1998; KODA et al., 1996; GUYADER et al., 1998; BRANDÃO et al., 1998). Este modo de transmissão não é totalmente isento de dúvidas. No entanto, existem evidências favoráveis, como a presença do RNA VHC no sêmen e secreção vaginal e testes com biologia molecular (genotipagem e sequenciamento do genoma), sugerindo que a transmissão sexual pode ocorrer (WEJSTAL, 1999). A discreta relação da presença do risco sexual na transmissão do VHC em casais monogâmicos é mostrada em dois estudos, um deles Irlandês, cujas esposas foram contaminadas através da imunoglobulina anti-D no final de 1970. Após 10 a 18 anos de seguimento em 500 casais monogâmicos, apenas em 0,4% dos parceiros observou-se anti-VHC positivo. O outro, um estudo alemão onde à contaminação feminina também ocorreu através da imunoglobulina anti-D, mostrou resultados similares quanto a contaminação nos parceiros sexuais monogâmicos (MEISEL et al., 1995;

POWER et al., 1995). Em estudos realizados nos Estados Unidos da América e na Europa Ocidental, a média de positividade para o anti-VHC é de 1,3% entre esposos que negam outros fatores de risco. Em contraste, no sul da Europa e na Ásia, a taxa de positividade para o anti-VHC entre esposos é de 11 e 27%, respectivamente (WASLEY & ALTER, 2000). NEUMAYR et al. (1999-QJM) examinaram 80 pacientes com doença hepática pelo VHC e seus parceiros monogâmicos. O anti-VHC foi detectado em 5% dos esposos e em 4% o RNA VHC foi positivo, havendo uma concordância do genótipo do VHC em 2 casais (2,5% da amostra). Portanto, aparentemente o risco de contaminação sexual em casais monogâmicos existe, porém é muito baixo. Entretanto, um outro estudo (ZILBERBERG, 1999b), analisando 24 casais, detectou 75% de positividade para o RNA VHC em ambos os parceiros. Em 12 casais houve concordância dos genótipos, porém em 11 deles existia um outro fator de risco além da exposição sexual.

A transmissão intra-familiar do VHC, ou seja, em pessoas que habitam a mesma residência, porém sem contato sexual, também é motivo de dúvidas na literatura. ACKERMAN, ACKERMAN, PALTIEL (2000), em uma revisão sistemática, analisaram 23 estudos não controlados, em pessoas com contatos intra-familiares com pacientes adultos e pediátricos infectados pelo VHC. O cálculo da prevalência para o anti-VHC nos contatos intra-familiares variou de 1,14 a 10,96%. Entretanto, quando os autores dividiram os artigos em dois subgrupos, classificando-os em japoneses e não-japoneses, a prevalência do anti-VHC em contatos nos “japoneses” foi significativamente maior que nos “não-japoneses”. Em outra análise, agora avaliando 7 estudos controlados, novamente subdividindo-os da mesma maneira, no subgrupo “japonês” ficou muito claro que a taxa de infecção pelo VHC em contatos anti-VHC positivo foi maior que nos contatos anti-VHC negativo ($17 \times 10,4\%$, $p = 0,002$). No subgrupo “não-japonês”, não foi notado aumento na taxa de infecção VHC. Todavia, estas diferenças parecem ser decorrentes de fatores de risco não relatados, que

atualmente tem sido reportados como práticas de medicina folclórica, ou como injeções feitas por paramédicos, que tinham o hábito de compartilhar seringas e até mesmo de reutilizá-las entre familiares, vizinhos e amigos.

A transmissão vertical ou peri-natal também pode acontecer, embora com uma frequência muito baixa, e acontece exclusivamente quando a mãe é RNA VHC positivo no momento do parto. Uma série de estudos demonstram que o risco médio de transmissão vertical do VHC é de 6% (0-42%) quando a mãe não é portadora do HIV. Se a mãe é co-infectada pelo VHC e HIV, o risco médio é de 17% (8,5 a 44%). É controversa a relação entre transmissão vertical e carga viral (WASLEY & ALTER 2000).

Procedimentos médicos e o uso inapropriado de injeções, colaboram para incrementar os fatores de risco na transmissão do VHC. O risco de transmissão em procedimentos médicos é difícil de ser analisado, graças à freqüente ausência de sintomas durante o quadro agudo da hepatite C. No entanto, nos países desenvolvidos o índice de contaminação do VHC através de atos médicos parece ser desprezível, exceto em unidades de hemodiálise. Exemplificando este modo de transmissão, há um relato de 2 pessoas terem sido contaminadas durante um exame de colonoscopia cujo aparelho não foi adequadamente lavado e esterilizado (WASLEY & ALTER, 2000). Em países cuja transmissão do VHC ocorreu em um passado remoto, procedimentos realizados por médicos ou por paramédicos parecem ser os grandes responsáveis pela infecção. Nestes países, com este padrão de prevalência, os relatos são de reutilização e compartilhamento de seringas de vidro entre familiares, amigos e vizinhos, acupuntura e outros procedimentos folclóricos (GUADAGNINO et al., 1997; NOGUCHI et al., 1997).

É pequena a proporção de pacientes com infecção pelo VHC que relatam exposição ocupacional. Os fatores de risco envolvidos neste tipo de contágio parecem ser os acidentes com perfuração por agulhas, e mais raramente o contato de sangue com mucosas

(MURPHY et al., 2000). O índice de sero-conversão em trabalhadores que se acidentaram com agulhas é em torno de 1,8% (PETROSILLA et al., 1994).

MURPHY et al. (2000), estudando fatores de risco em doadores de sangue não encontraram nenhuma razão para a infecção em 10 % da amostra de 758 questionários retornados. Por este motivo, eles imaginam que existam outros fatores de risco envolvidos na transmissão da VHC. Estes fatores poderiam ser uma variedade de exposições percutâneas, tais como: tratamentos cosméticos, tatuagens, “piercing”, barbeiros, circuncisão, atos religiosos de escarificação. No entanto, estes fatores de risco não apresentam comprovação, embora existam fundamentos científicos justificando a propagação da infecção pelo VHC através destes meios.

No Brasil, os estudos mostram taxas de 30 a 40 %, onde não se relata qualquer via da infecção pelo VHC (LIMA et al., 1995; GUZ, 1998; BASSIT et al., 1999). Estes estudos reportam que as principais rotas de contaminação do VHC são as transfusões sanguíneas e o uso de drogas ilícitas injetáveis.

1.4 ASPECTOS MORFOLÓGICOS DO VHC

VHC é um vírus RNA, com um genoma constituído com cerca de 9400 pares de nucleotídeos . Sua estrutura genômica e seu presumido modo de replicação é muito similar aos membros de família Flaviridae, possuindo todos uma polaridade positiva com uma única quebra no genoma (SIMMONDS, 1995; BUKH, MILLER, PURCELL, 1995; LAU, SIMMONDS, URDEA, 1995). Com base em estudos na sua seqüência, o VHC foi classificado em um novo gênero denominado “hepacivirus”. Este nome foi escolhido para indicar o seu tropismo pelo fígado (SIMMONDS , 1999).

Analogamente aos Flavivirus, o VHC é uma poliproteína que se quebra após translação, produzindo uma série de outras proteínas estruturais e não estruturais que são necessárias para a formação viral e sua replicação. Sua estrutura é composta por duas regiões terminais, uma chamada de 5' não codificada (5'NC), que é altamente conservada, sendo seguida pelo "core" ou nucleocapsídeo (c) e pelo "envelope proteico". Mais adiante, por componentes "não estruturais" (NS), que vão até à outra extremidade terminal denominada de 3'NC (Figura 1). Algumas destas regiões são altamente variáveis. As proteínas não estruturais são denominadas de NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a e NS5b (LAU et al., 1995a; SIMMONDS et al., 1993; SIMMONDS et al., 1994).

A região 5'NC contém propriedades diversas, formando estruturas imprescindíveis na iniciação e controle da translação. Nesta região, a sequência dos nucleotídeos é extremamente conservada. Portanto, esta região tem uma função fundamental na replicação viral e na síntese de proteínas virais. Nesta região, também, localiza-se uma estrutura denominada de IRES (internal ribosome entry site), inicialmente descrita em poliovirus (LEMMON & HONDA, 1997), cuja função é essencial na translação (FANG et al., 1997; BRANCH, 2000).

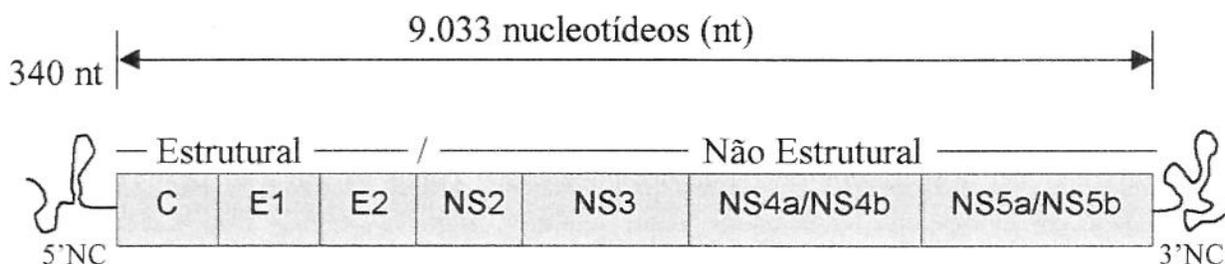
A função da região 3'NC ainda permanece obscura. Esta região também contém uma sequência de nucleotídeos bastante conservada. É dividida em 3 partes e promove a ativação de uma polimerase RNA- dependente. Portanto, parece ser importante na translação e replicação do VHC (BRANCH, 2000).

As proteínas estruturais (c, envelope 1 ou E1, e envelope 2 ou E2) são diferentes (Figura 1). A primeira é a mais conservada do genoma, enquanto a E2 é altamente variável e contém uma sequência de nucleotídeos denominada de região hipervariável 1 (HVR 1). A sequência de nucleotídeos nesta região passa por uma variação intensa no decorrer dos anos, em um mesmo indivíduo infectado. Possivelmente estas variações nas sequências dos

nucleotídeos é o fator mais importante na explicação da alta taxa de persistência viral, promovendo o escape dos anticorpos neutralizantes, ou seja, fazendo com que o vírus dribles o sistema imune (FANG et al., 1997).

As proteínas não-estruturais formam um complexo em associação com o retículo endoplasmático, e exercem funções na replicação viral ainda incertas. As regiões de maior importância clínica são a NS4 e NS5A. A primeira, contém uma seqüência de aminoácidos bem conservada dentro dos genótipos, porém varia significativamente entre os diversos genótipos. Esta propriedade tem sido útil na detecção dos diversos genótipos, através de uma reação por imuno ensaio utilizando anticorpos genotipo-específicos (FANG et al., 1997). A região NS5A tem sido relatada como mediadora da resistência do VHC à ação do interferon (FRANCESCO et al., 2000).

Figura 1 – Organização Genômica do VHC modificado de FANG et al., 1997.



Conhecendo a estrutura do VHC, pode-se entender os testes utilizados para o diagnóstico das enfermidades causadas por ele. Basicamente, existem 2 categorias de testes para o diagnóstico e tratamento da infecção pelo VHC, incluindo os testes sorológicos e os exames que usam biologia molecular (PAWLOTSKY, 1999).

No primeiro método, descrito originalmente por CHOO et al. (1989), a técnica utilizada foi enzima imunoensaio (ELISA), que utilizou antígenos da região NS4 (epitope c-

100-3). Os exames ELISA, de gerações subsequentes, incorporam outras regiões do genoma (2ª geração: putativo core c22, c33 da NS3, com o c100-3; 3ª geração: c22, c100-3, e o antígeno da região NS5). Os exames anti-VHC ELISA apresentam uma boa especificidade e sensibilidade em pacientes com alto risco para a infecção VHC. Porém, não tanto para os pacientes de baixo risco, necessitando nestes casos de exames confirmatórios (SCHIFF, MEDINA, KAHN, 1999).

Outro método diagnóstico é o RIBA (recombinant immunoblot assay), chamado de teste suplementar. Apresenta reatividade para os mesmos antígenos citados para o ELISA e, quando utilizamos os de última geração, são considerados bastante confiáveis (ESTEBAN et al., 1991). A relevância clínica deste método é sua realização em pacientes com baixo risco de infecção pelo VHC, sendo possível excluir ou confirmar o anti-VHC ELISA.

Finalmente, há a pesquisa do RNA do VHC no soro ou no tecido hepático, proporcionando um diagnóstico seguro de infecção aguda ou crônica pelo VHC. Os exames que detectam anticorpos não possibilitam o diagnóstico diferencial entre infecção ativa e resolvida e, também, na fase aguda da doença, não podem ser detectados no soro dos pacientes. Outras situações em que os anticorpos para o VHC são escassos e raramente detectados, são nos estados de imuno-incompetência, como na infecção pelo HIV, ou em pacientes em hemodiálise. A utilização da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) (MEDINA & SCHIFF, 1995) pode proporcionar o diagnóstico seguro da infecção pelo VHC, e quando realizada a mensuração dos níveis séricos de RNA do VHC, pode-se ter uma noção da eficácia do tratamento anti-viral. Outro meio de detectar o RNA do VHC é a utilização do método b-DNA, onde faz-se a amplificação do sinal. Sua única limitação é a sensibilidade, sendo porém menos susceptível de contaminação quando comparado ao PCR (SCHIFF et al., 1999).

1.5 PATOGÊNESE DO VHC

Os conhecimentos sobre os mecanismos de replicação viral e a patogênese do VHC são escassos, em razão da ausência de um sistema de cultura celular e da inexistência de um modelo animal experimental.

O principal mecanismo para justificar a perpetuação da infecção pelo VHC parece ser o seu escape do sistema imunológico do hospedeiro, decorrente de suas altas taxas de mutações. Observações feitas em chimpanzés, que não se protegeram de reinfecções do VHC, tanto com linhagens homólogas quanto heterólogas, e episódios recorrentes de hepatite aguda em crianças politransfundidas, comprovam uma ausência de imunidade humoral protetora para o VHC (FARCI & PURCELL, 2000). A principal explicação para tais fatos seria a ocorrência de mutações no genoma do VHC, que burlam o sistema imunológico.

Com relação ao sistema imune celular, alguns estudos mostram que os indivíduos infectados exibem uma resposta CD-4 célula T, aumentada e sustentada nas fases aguda e crônica da infecção VHC. Entretanto, os pacientes que clareiam o vírus, apresentam a resposta CD4 célula T bem mais vigorosa (FARCI & PURCELL, 2000). Portanto, a causa dominante da persistência viral parece ser uma débil resposta imune anti-viral, com correspondente insuficiência na erradicação de células infectadas.

O dano celular hepático na infecção VHC estende de células infectadas para não infectadas, via mediadores citotóxicos e a ativação de células inflamatórias, com formação de resposta necro-inflamatória. O VHC não é citopático para a célula infectada e a resposta imune tem um papel importante na injúria celular. Na infecção primária do VHC, o dano celular coincide com o desenvolvimento da resposta imune e não com a replicação viral (CERNY & CHISARI, 1999).

Atualmente existe uma série de estudos no sentido de descobrirem polimorfismos no genoma humano, e correlacioná-los com doenças específicas. Em relação ao VHC, muitas associações com antígenos de histocompatibilidade (HLA) diferentes foram identificadas. Entretanto, existem poucos dados para associá-las com o clareamento e a progressão da doença causada pelo VHC (THIO, THOMAS, CARRINGTON, 2000).

NAGAYAMA et al. (2000) estudaram 27 pacientes infectados pelo VHC 1b, 14 com ALT persistentemente normal e 13 pacientes cirróticos com hepatocarcinoma. Após a definição de um escore de progressão nas seqüências de amino-ácidos ou nucleotídeos, concluíram que este escore foi maior no grupo de pacientes com hepatocarcinoma. Portanto, sugeriram uma relação entre mudanças no genoma do VHC 1b, com a progressão da doença hepática.

1.6 HETEROGENEIDADE GENÉTICA DO VHC

A clonagem e o sequenciamento do VHC pôde proporcionar-lhe uma classificação, uma vez que não existe um meio de cultura “in vitro” para ele. Este vírus tem uma divisão biológica caracterizada pela seqüência de nucleotídeos, comparando genomas completos ou fragmentos subgenômicos (SIMMONDS, 1995; BUKH et al., 1995), dentro das variações.

O termo aclamado para referenciar os genomas heterogêneos no meio dos grupos distintos do VHC é **genótipos**, sendo estes os resultados de acúmulos de mutações durante a evolução do VHC.

Em um curto espaço de tempo, uma expressiva quantidade de seqüências genômicas do VHC foi isolada em várias partes do mundo. Vários investigadores têm classificado os VHCs em diferentes “tipos” e “subtipos” determinados pela homologia das

suas seqüências e confirmados pela análise do traço filogenético, sendo os primeiros correspondentes às maiores ramificações na árvore filogenética .

O consenso atual para definir os diferentes **tipos** seria uma similitude na seqüência de 55 a 72% (média 64%), e, para os **subtipos**, de 75 a 86% (média 80%) (SIMMONDS, HOMES, CHA, 1993; SIMMONDS et al., 1994; BRECHOT, 1996).

Existia um total de 9 grupos genéticos maiores e pelo menos 30 subgrupos, até que MIZOKAMI et al. (1996) sugeriram que os tipos 7, 8 e 9 poderiam ser classificados como subtipos do VHC 6.

Para fazer a análise da seqüência, usa-se todo o genoma ou parte dele. Comparando as seqüências da região 5'NC, SIMMONDS et al. (1995) encontraram equivalência em cada um dos 6 genótipos e os subtipos descritos, além de demonstrar que as regiões E1 e NS5 são também equivalentes. Portanto, parece que qualquer região codificada poderia ser usada para identificação de genótipos.

A denominação dos genótipos do VHC também é motivo de controvérsias. Inicialmente, foi proposta uma nomenclatura baseada em números arábicos por ordem de descoberta (BUKH et al., 1995). Posteriormente, OKAMOTO et al. (1991) sugeriram a denominação por números romanos de acordo com a seqüência de nucleotídeos descoberta. Para evitar confusões, alguns combinaram as duas denominações por certo tempo.

Mais tarde, foi proposta a nomenclatura dos genótipos VHC, baseada na identificação provisória pela medição da similitude sequencial, usando-se as variações já conhecidas e, posteriormente, mostrando a equivalência filogenética. Assim, os tipos foram numerados de 1 a 6, e os subtipos têm sido letrados a, b, c etc..., em ambos os casos pela ordem de descoberta (SIMMONDS et al., 1994).

Além dos genótipos, é conhecida uma outra característica do VHC, que é a sua heterogeneidade genética dentro de um único indivíduo infectado, resultante de mutações

ocorridas durante a replicação viral, sob a pressão do sistema imunológico. Estas seqüências heterogêneas são denominadas de **quasispécies**. As seqüências dominantes nestes indivíduos tem uma semelhança de 98%.

Essas quasispécies são implicadas na patogênese, na imunidade e na prevenção da infecção do VHC (BUKH et al., 1995; NAGASAKA et al., 1996; CERNY & CHISARI, 1999; FARCI & PURCELL, 2000). Suas conseqüências biológicas seriam o estabelecimento da infecção crônica, como resultado da seleção de mutantes que escapam do sistema imune, até mesmo dificultando a produção de uma vacina.

A taxa de mutações encontradas em um indivíduo infectado já foi calculada por alguns investigadores. É calculada em intervalos de tempo, tendo uma ordem de mais ou menos $1,92 \times 10^{-3}$ ou de $1,44 \times 10^{-3}$ substituições de bases por sítio do genoma, por ano. Estas taxas aumentam em uma proporção direta com a pressão do sistema imune ou também com a utilização do interferon (SIMMONDS, 1995; BUKH et al., 1995; NAGASAKA et al., 1996; SHINDO et al., 1996). Em algumas situações que cursam com deficiência imunológica, como em pacientes com agamaglobulinemia, esta taxa de mutações praticamente não altera, ou seja, os isolados virais são praticamente homogêneos (FARCI & PURCELL, 2000).

Os métodos utilizados para determinar os genótipos do VHC são obtidos pela análise da seqüência individual dos genes do vírus isolado, ou pela análise de fragmentos menores destes genes. Como a seqüência completa do genoma tem cerca de 9400 pares, a pesquisa da sua variabilidade não é aplicável na rotina, embora seja o método com a melhor acurácia. Desta maneira, pequenas regiões do genoma viral tem sido utilizadas para o sequenciamento e análise filogenética. Dentre estas, particularmente a NS5 (329 a 340) e o envelope (E1) (CARITHERS, MARQUARDT, GRETCH, 2000).

A análise do genótipos também pode ser realizada pela técnica da RFLP (restrição do fragmento polimórfico). Com o conhecimento de que determinados genótipos

possuem um único sítio de restrição, o genótipo do VHC pode ser determinado utilizando enzimas de restrição específicas. No entanto, apesar da sua boa acurácia, este exame tem a sua sensibilidade e especificidade diminuídas, para reconhecer alguns subtipos clinicamente relevantes (FRIED, 1997).

Um outro método utilizado é o “Line Probe Assay” (LiPA), que detecta diferença nos nucleotídeos da região 5'NC. Esta tecnologia é baseada no princípio da hibridização reversa (STUYVER et al., 1996). Vários estudos tem mostrado uma boa correlação deste método com o sequenciamento direto e uma superioridade sobre o método de Okamoto e o RFLP. Alguns estudos que têm demonstrado a precisão deste método, como o de DOORN et al. (1994), que comparando o soro de 54 pacientes entre o sequenciamento direto e o LiPA, encontraram resultados similares na identificação de 5 genótipos diferentes. MAHANEY et al. (1994), analisando pacientes americanos, demonstraram vantagens do método LiPA em relação ao RFLP, na possibilidade de determinar subtipo, na padronização de reagentes e na não necessidade de utilizar radio-isótopos. Outros autores também relataram bons resultados com este método (LAU et al., 1995b; GIANINI et al., 1995; LAU et al., 1996). MARTINOT-PEIGNOUX et al. (1995) e LINDSAY et al. (1996), aplicando este método em 141 e 248 pacientes, respectivamente, também obtiveram bons resultados.

Outra metodologia aplicada para a análise dos diferentes tipos do VHC e que não necessita de sequenciamento é a tipagem sorológica. Trata-se de uma reação determinada por ELISA, que usa proteínas recombinantes “tipo-específicas” do VHC. Este método é denominado serotipagem. A sua utilização tem sido proposta em estudos epidemiológicos (TANAKA et al., 1994; TSUBOTA et al., 1996). Porém, quando os comparam com o método LiPA, apresentam algumas desvantagens (MAHANEY et al., 1994). Estes exames são baseados na detecção dos anti-corpos genotipo-específicos da região NS4 do genoma do VHC (FANG et al., 1997; SCHIFF et al., 1999). PAWLITSKY (1997) comparou dois testes

de serotipagem com um método de hibridização reversa. Os resultados mostraram que a serotipagem é menos sensível que o método que utiliza a amplificação do RNA VHC por PCR.

Uma área de pesquisa relacionada ao VHC é a investigação de possíveis diferenças no curso da doença, associada aos diferentes genótipos. Dentro das perspectivas atuais, é impossível prever, exatamente, o quanto o grau de seqüências diferentes entre os vários genótipos influenciaria o comportamento do vírus. Entretanto, é evidente o comportamento de certos genótipos quanto à resistência ao tratamento anti-viral.

As utilidades clínicas e epidemiológicas da genotipagem são amplas. A distribuição geográfica dos genótipos é muito variável até mesmo dentro de um mesmo país e esta distribuição pode diferir em pacientes jovens e com idade avançada, em pessoas com doença crônica comparados com doadores, em drogaditos comparados com outros grupos. É óbvio que quando se pensa na possibilidade da criação de uma vacina, faz-se necessário conhecer os genótipos prevalentes em cada região específica. Ainda mais que possíveis variações na progressão da doença, diferenças de genótipos na rota e frequência de transmissão pessoa-pessoa, já indicam uma grande utilidade para a identificação do tipo infectante (SIMMONDS, 1995; BUKH et al., 1995; BERG et al., 1997).

Existem fatores que influenciam a resposta ao interferon, como: idade, duração da infecção, presença de fibrose ou de cirrose, nível de RNA-VHC circulante, estado imunológico e o genótipo.

Com relação à associação do genótipo com a resposta ao tratamento anti-viral (interferon), a literatura é farta em mostrar diferenças no grau de resposta. Esta é favorável na presença do genótipo 2, independentemente da carga viral e do avanço da doença hepática, enquanto o tipo 1, particularmente o subtipo 1b, está associado à resposta pobre ao interferon

(TSUBOTA et al., 1996; LINDSAY et al., 1996; ZEIN et al., 1996a; IDEO et al., 1996; FERNANDEZ et al., 1997; DI MARCO et al., 1997; EASL, 1999).

Somando, ainda, encontramos a relação dos genótipos com a evolução da doença hepática. Parece existir uma associação do tipo 1b com a severidade da hepatopatia, e até mesmo uma possível relação com o desenvolvimento de hepatocarcinoma (SALMERON et al., 1996; TASSOPOULOS, 1996; ZEIN et al., 1996b; FERNANDEZ et al., 1997). Entretanto, não há concordância entre os diversos estudos, quanto à progressão da doença hepática relacionada com determinados genótipos (REID et al., 1999). Todavia, ainda é controversa a associação do genótipo 1b com a severidade da doença hepática (MONDELLI & SILINI, 1999).

Os genótipos apresentam uma ampla variação nos diversos países estudados. O tipo 1 é o mais frequente em todo o mundo, o subtipo 1a predomina nas Américas e na Europa, enquanto que o 1b predomina em muitos países Asiáticos. Os tipos 2 e 3 também são largamente distribuídos pelo mundo, porém o subtipo 3b tem sido encontrado apenas no Japão e em outros países do Pacífico sul. Interessantemente, a distribuição no continente Africano é muito diferente, sendo rara a presença dos tipos 1, 2 e 3, e predominando o tipo 4 no norte e centro e o 5 no sul deste continente. O tipo 6 é encontrado significativamente em Hong Kong e os 7, 8 e 9, atualmente classificados como subtipos do genótipo 6, somente no Vietnã (MANSELL & LOCARNINI, 1995; BUKH et al., 1995).

No Brasil, os estudos mostram uma prevalência do tipo 1 em doadores de sangue da cidade de São Paulo, incidindo em cerca de 70%, e do tipo 3 em 20% (BASSIT et al., 1994; GINABREDA, YOSHIDA, NIEL, 1997; GUZ, 1998; GRUPO DE ESTUDO DA SBH, 1999; SILVA et al., 2000). Esta distribuição é variável nas diversas regiões do país, com uma semelhança no Nordeste, Norte e Sudeste. Porém na região Sul, há um aumento na prevalência do tipo 3 (CAMPIOTTO et al., 1998; CHEINQUER et al., 1998). Entretanto,

estes estudos foram realizados em populações heterogêneas, havendo a necessidade de aprofundamento destes dados.

Considerando-se a importância da infecção pelo VHC e pelo exposto acima, vê-se que é extremamente importante um melhor conhecimento da frequência da distribuição dos diferentes genótipos e suas possíveis implicações epidemiológicas, patogênicas e terapêuticas. Há uma lacuna no entendimento do papel dos genótipos do VHC, associados ou não com outros fatores na história natural desta doença, principalmente nos aspectos relacionados a sua progressão, particularmente no Brasil, onde os estudos são ainda em pequeno número. Portanto, o interesse pelo maior conhecimento da associação dos diferentes genótipos, relacionando-os com os vários fatores de risco implicados na patogênese da infecção pelo VHC, pode levar-nos a uma maior compreensão da mesma, em seus diferentes estádios, na região em que atuamos.

2.OBJETIVOS

- Conhecer a frequência dos diferentes genótipos do VHC em pacientes infectados com este vírus, na região de Botucatu.
- Pesquisar a associação entre os diversos genótipos e modos de transmissão da doença, evolução e estadiamento da mesma.
- Verificar a associação entre os genótipos e gradação da atividade histológica das lesões hepáticas existentes.
- Verificar quais fatores de risco podem influenciar na gravidade da hepatite C.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 CASUÍSTICA

Para este estudo prospectivo foram selecionados 100 pacientes consecutivos, portadores do VHC, entre outubro de 1997 a abril de 1999. Estes pacientes eram doadores voluntários de sangue do Hemocentro da Faculdade de Medicina de Botucatu e do Hemonúcleo do Hospital Amaral de Carvalho, da cidade de Jaú, portanto uma população homogênea e bem definida, calculada previamente.

Critérios de inclusão:

- Doadores de sangue que apresentaram a reação positiva para o anti-VHC ELISA, com uma densidade óptica pelo menos 3 vezes acima do “cutoff”. Neste caso, existe uma concordância significativa com os testes suplementares (ESTEBAN et al., 1991; FARCI et al., 1991; GONÇALES et al., 1998).
- Doadores de sangue com sorologia positiva para o anti-VHC ELISA, porém, com valor menor que 3 vezes o cutoff, que foi confirmada por exame suplementar RIBA III (Orth Diagnostics, Rariton, NJ, USA) (MEDINA & SCHIFF, 1995).

Critérios de exclusão:

- Os pacientes com presença do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (AgHBs).
- Os pacientes com presença do anticorpo para o vírus da imunodeficiência humana (HIV).
- Os pacientes com a não extração do RNA do VHC, nos soros estocados.

Os pacientes foram informados a respeito do estudo e assinaram um termo de consentimento esclarecido. Este estudo foi aprovado pela Comitê de Ética em Pesquisa, do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu.

3.2 MÉTODOS

Os pacientes cujos testes sorológicos para o anti-VHC (ELISA, Abbott Chicago- segunda ou terceira geração) foram repetidamente positivos, submeteram-se a um protocolo clínico e laboratorial. A entrevista e o preenchimento do referido protocolo foram realizados pelo autor.

O protocolo constava de: dados de identificação, fatores de risco para contágio pelo VHC, dados clínicos de doença hepática crônica e dados laboratoriais bioquímicos e sorológicos.

Os prováveis fatores de risco para a infecção pelo VHC investigados foram :

- Idade e sexo.
- Uso de drogas injetáveis (UDI).
- Uso de drogas inalatórias (UDIn).
- Uso de energisantes ou anabolisantes, cuja aplicação ocorreu com compartilhamento de seringas ou com seringas de vidro.
- Transfusões sanguíneas ou de hemoderivados, antes e depois de 1993.
- Tatuagens.
- Antecedentes cirúrgicos (abdominal, cardiotorácico, ginecológica, ortopedia e trauma).
- Ocupação profissional na área de saúde.
- Antecedentes sexuais de risco (promiscuidade, sexo com prostitutas, homossexualismo).
- Contatos com familiares e grupos de risco com infecção pelo VHC.

- Outros, como: tratamento dentário de canal, acupuntura, internações prolongadas, atendimentos em pronto-socorro por trauma, compartilhamento de objetos pessoais.
- Duração da infecção pelo VHC. Este intervalo de tempo foi calculado levando-se em conta a data do primeiro contato com um fator de risco conhecido para a aquisição da infecção e o dia da inclusão no estudo.
- Idade do doador na ocasião da contaminação pelo VHC.

Do protocolo também constavam informações sobre hábitos, como o tempo de ingestão e a dose diária de álcool, sendo esta classificada de acordo com a quantidade diária ingerida. Os dados referentes a sintomatologia foram minuciosamente preenchidos, como também dados de exame físico.

Em todos os pacientes foram realizados exames bioquímicos. Entre outros, constavam os de dosagem da alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama- glutamil transpeptidase (gama-GT), eletroforese de proteínas, bilirrubinas, como também exames de coagulação e hematológicos. Estes exames bioquímicos foram processados no Laboratório Clínico da Faculdade de Medicina de Botucatu com os seguintes aparelhos de automatização : Cobas Mira S, RAXT e o RA1000.

Também foi realizada a coleta de 10 mililitros de sangue por venóclise, em tubo a vácuo com gel separador, com posterior retirada do soro e armazenagem em freezer a -80 graus centígrados, até a realização da determinação do RNA do VHC por PCR, e posterior genotipagem do vírus em estudo, se confirmada sua presença no material examinado.

Algumas variáveis foram classificadas para uma avaliação mais precisa. As atividades da AST e da ALT foram classificadas em 3 categorias: A primeira, com o resultado até uma vez o LSN; a segunda, até três vezes o LSN; a terceira, acima de três vezes o LSN. O resultado da gama-GT também foi classificado de acordo com o mesmo critério, porém sem observância dos intervalos acima..

A provável duração da infecção foi classificada em 3 categorias: de 0 a 10 anos, de 11 a 20 e acima de 20 anos. A idade do doador na ocasião da contaminação foi classificada em 2 categorias: uma com aqueles menores que 20 anos de idade e outra com os de idade entre 20 e 41 anos.

3.3 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Em 78 pacientes foi permitida a biópsia hepática. Os procedimentos foram realizados ambulatorialmente, por punção com agulha tipo Menghini, e os pacientes ficaram em observação por um período mínimo de 4 horas. Os fragmentos foram considerados adequados para a análise, quando presentes pelo menos 8 espaços-porta, ou com pelo menos 1 cm. de extensão. Foram realizadas as colorações de rotina para todas as lâminas (Hematoxilina-eosina, Reticulina, Tricrômio de Masson).

Além da análise diagnóstica de rotina, todas as lâminas foram revisadas por uma experiente patologista e pelo autor em um mesmo período de tempo .

Os critérios utilizados para a classificação das hepatites crônicas ou das lesões hepáticas foram os preconizados por DESMET et al. (1994), e modificados por GAYOTTO & COMITÉ SBP/SBH (1999).

Segundo estes critérios, foram determinados:

- O estadiamento histológico das lesões hepáticas, isto é, a avaliação das alterações estruturais, realizando-se a semi-quantificação de 0 a 4:
 - 0 = arquitetura lobular normal.
 - 1 = expansão fibrosa dos espaços-porta.
 - 2 = expansão fibrosa com septos porta-porta.
 - 3 = preservação parcial da arquitetura, com septos porta-porta e porta-centro, podendo visualizar-se esboços de nódulos.
 - 4 = cirrose.

- A gradação de 0 a 4 da atividade necro-inflamatória das regiões:

Portal:

- 0 = raros linfócitos portais.
- 1 = aumento discreto dos linfócitos portais.
- 2 = aumento moderado dos linfócitos.
- 3 = aumento acentuado dos linfócitos.
- 4 = aumento muito acentuado dos linfócitos portais.

Peri-portal:

- 0 = ausência de lesões de interface.
- 1 = extravasamento de linfócitos para a interface (spill over).
- 2 = necrose em saca-bocados discreta, pequenas áreas em poucos espaços porta.
- 3 = necrose em saca-bocados moderada.
- 4 = necrose em saca-bocados em extensas áreas de muitos espaços porta.

Lobular:

- 0 = hepatócitos normais.
- 1 = alterações discretas dos hepatócitos, com raros focos de necrose e eventualmente infiltrado linfo-histiocitário e raros focos de necrose.
- 2 = necrose focal de hepatócitos circundados por agregados linfo-histiocitários em numerosos sítios.
- 3 = necrose focal de hepatócitos circundados por agregados linfo-histiocitários em muitos sítios, associada a áreas limitadas de necrose confluenta.
- 4 = necrose focal de hepatócitos circundados por agregados linfo-histiocitários em numerosos sítios, associada a necrose confluenta extensa ou múltipla.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

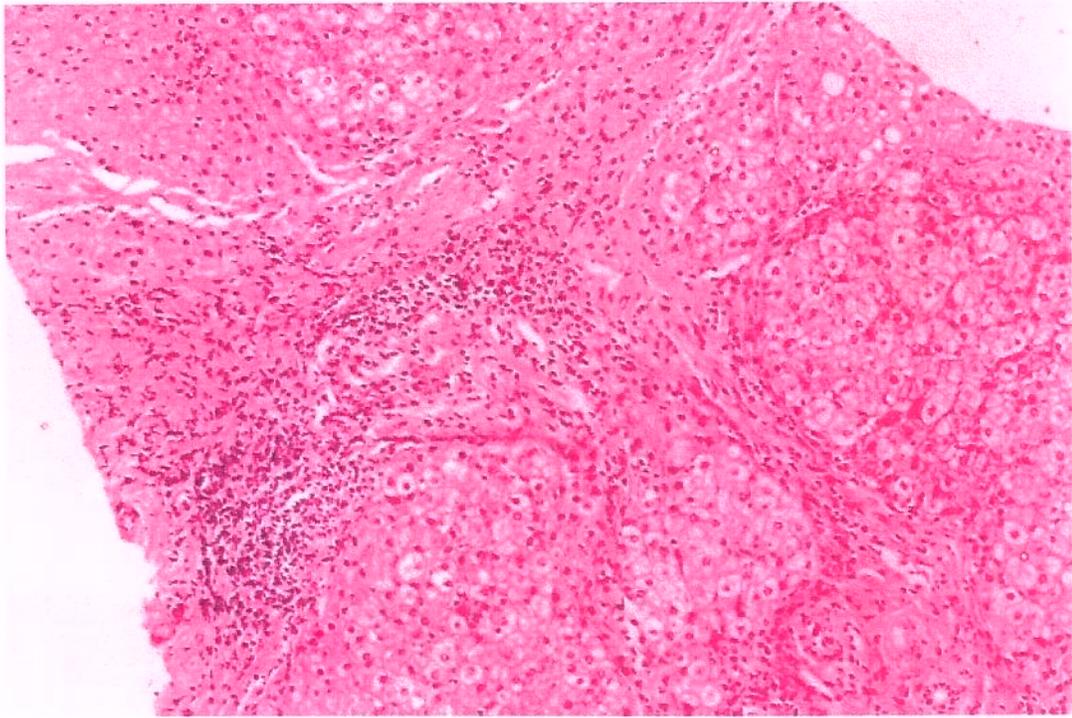


Figura 2 – Material de Biópsia Hepática corado por HE (10X). Classificação histológica (GAYOTTO et al., 2000): Estadiamento 4.

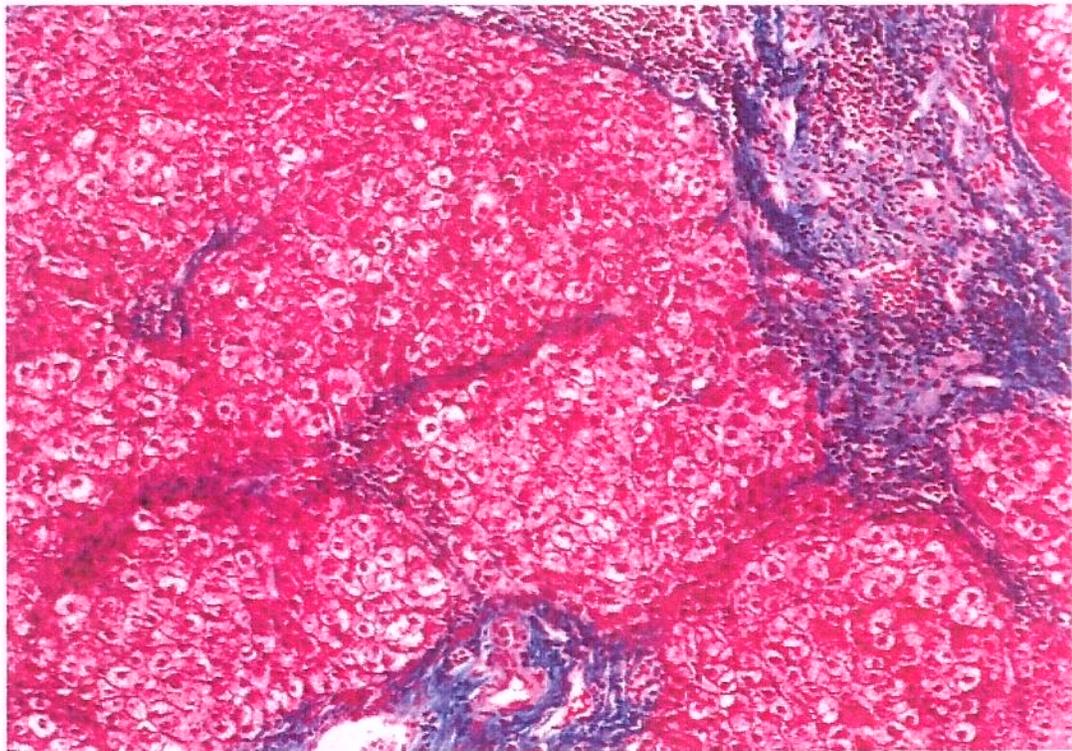


Figura 3 – Material de Biópsia Hepática corado por Masson (10X). Classificação histológica (GAYOTTO et al., 2000): Estadiamento 3.

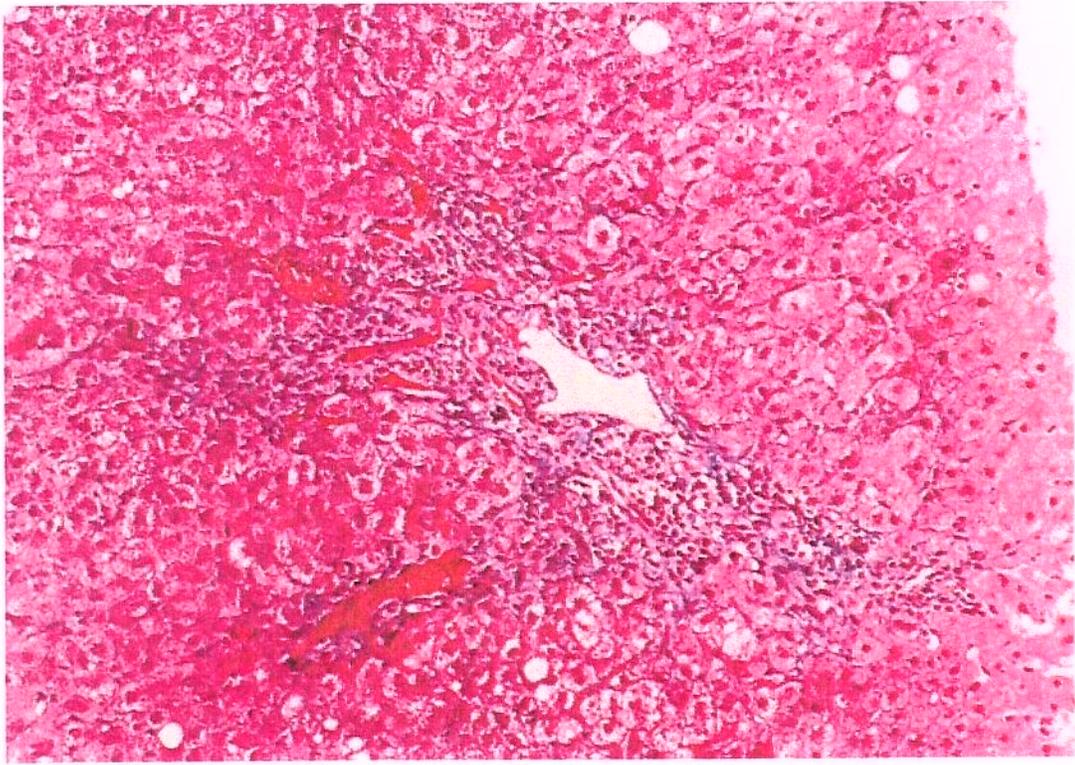


Figura 4 – Material de Biópsia Hepática corado por Masson (10X). Classificação histológica (GAYOTTO et al., 2000): Estadiamento 2.

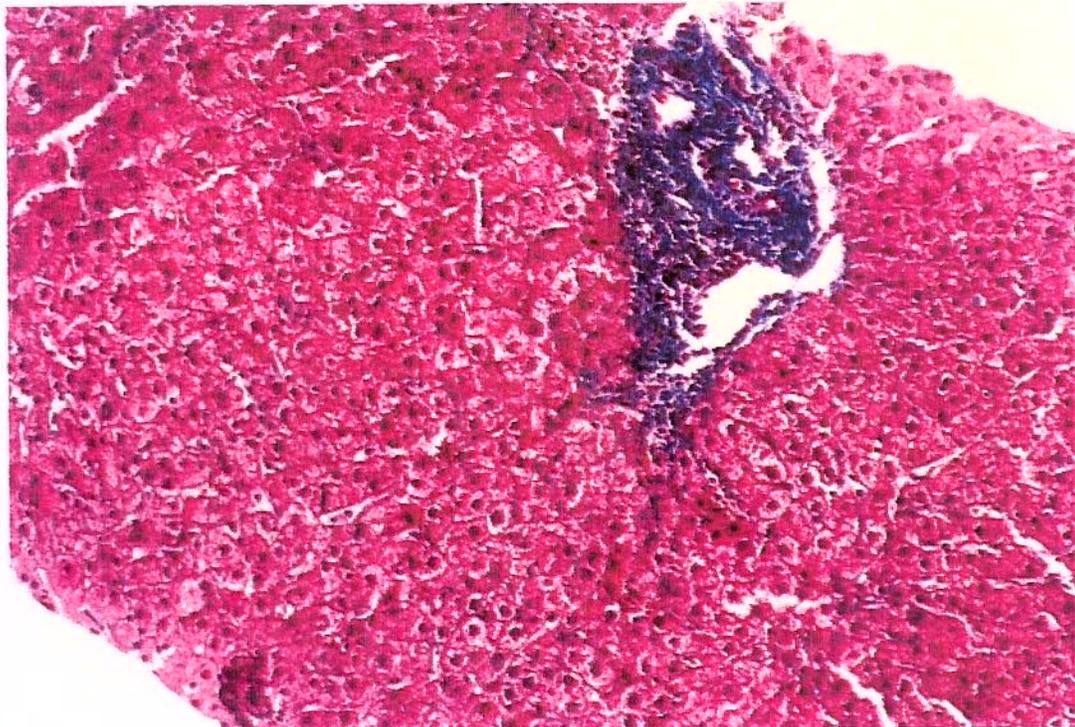


Figura 5 – Material de Biópsia Hepática corado por Masson (10X). Classificação histológica (GAYOTTO et al., 2000): Estadiamento 1.

3.4 MÉTODO DA GENOTIPAGEM

Foi utilizada a técnica de hibridização reversa, através do Kit INNO-LiPA II (Innogenetics, NV; Belgica) (STUYVER et al., 1996). Este método determina os 6 genótipos do VHC e seus subtipos, de uma maneira fácil e rápida. O ensaio é baseado nas variações encontradas na região 5'NC dos diferentes genótipos do VHC.

3.4.1 AMPLIFICAÇÃO DA REGIÃO 5'NC DO VHC

Inicialmente foi realizado o preparo da amostra, para o isolamento do RNA viral. Este preparo consistiu dos seguintes passos:

- Adicionou-se 150 µl do reagente TRIzol LS em 50 µl do soro a ser analisado.
- Após a incubação por 5 minutos, adicionou-se 40 µl de clorofórmio.
- Centrifugou-se o preparado a 12000 giros, a 4° C por 15 minutos.
- Em seguida, foi feita a transferência do RNA viral sobrenadante para outro tubo e acrescentou 20 µl de dextran T500 (1µg/µl).
- Adicionou-se 100µl de isopropanolol e incubou-se à temperatura ambiente.
- Após esta incubação, a amostra foi novamente centrifugada e, com a precipitação do RNA, foi feita a lavagem deste com 200 µl de etanol a 75% gelado.

A etapa seguinte foi para processar a síntese do DNA complementar (c-DNA), que necessitou dos cuidados abaixo:

- Após a dissolução do precipitado com uma mistura de água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC) e “primers” randomizados (pd-N-6), foi feita a incubação por 10 minutos a 70° C.

- A amostra foi colocada a 42°C e adicionou-se a solução “Master-mix” (25 U de inibidor de ribonuclease de placenta humana, 4 µl do tampão da transcriptase reversa-vírus da mieloblastose aviária: AMV-RT5x, 1 µl dNTPs a 10- mM e 8 U AMV-RT).
- Na seqüência, foi ajustado o volume total para cada amostra com DEPC e água para 8 µl, e adicionou-se à mistura 12 µl de “primers” randomizados desnaturados. Em seguida, foi feita a incubação por 90 minutos a 42°C.

Após todos estes procedimentos para a síntese do c-DNA, foi realizada a primeira amplificação por PCR, com a adição de 45 µl da mistura para a amplificação, que continha Taq polimerase e “primers” externos, para cada 5 µl de c-DNA. A solução foi colocada em um termociclador e repetiu-se por 40 vezes o ciclo de amplificação.

Posteriormente, foi feita a análise do produto da PCR em gel de agarose a 2%, com a intenção do aparecimento de uma banda específica para o VHC de aproximadamente 300 pares de bases. Quando a quantidade do produto não foi suficiente, uma segunda amplificação (“nested”) foi necessária. A segunda amplificação, quando realizada, foi idêntica à primeira, exceto com a substituição do c-DNA pelo produto amplificado na primeira etapa e os “primers” utilizados foram o “nested” (inner). Estes “primers”, tem uma seqüência complementar à seqüência do alvo amplificado na primeira PCR. Após esta segunda amplificação, surgiram bandas de 240 pares de bases.

3.4.2 MÉTODO DA GENOTIPAGEM

O método realizado foi o da hibridização reversa, através do “kit” INNO-LiPA II (Innogenetics M.V.; Belgica). O procedimento da genotipagem foi iniciado pela tomada de 2 amostras de 10 µl do produto amplificado pela PCR e de 10 µl do controle negativo. Em seguida foi realizada a denaturação e a hibridização, da seguinte maneira :

- Adicionou-se em canaletas, 10 μ l de uma solução denaturante e 10 μ l do produto amplificado, para posteriormente se fazer a denaturação por 5 minutos.
- Adicionou-se 2 μ l de solução de hibridização e imediatamente foi colocada uma tira com os probes específicos nas respectivas canaletas.
- Foi feita a incubação em banho-maria a 50°C por 60 minutos, em uma plataforma giratória orbital a 80 rpm.

Após a fase da hibridização, foi realizada a lavagem das canaletas com 2 μ l de uma solução especial por 10 a 20 segundos, à temperatura ambiente. Este procedimento foi repetido por 2 vezes e em seguida cada tira foi incubada com 2 μ l desta mesma solução em banho-maria a 50° C, por 30 minutos. Posteriormente às lavagens, foram realizadas as fases de desenvolvimento de cor, da seguinte forma:

- Todas as incubações foram realizadas em um agitador orbital a 20 ou 25°C.
- As tiras foram lavadas com solução Rinse, por 2 vezes, com duração de 1 minuto cada.
- Adicionou-se 2 μ l do conjugado diluído e incubou-se por 30 minutos.
- Lavou-se mais 2 vezes, por 1 minuto com a solução Rinse e outra vez com o tampão substrato.
- Adicionou-se 2 μ l da solução substrato e incubou-se novamente por mais 30 minutos no agitador.
- A reação foi interrompida, foram lavadas as tiras por 2 vezes, com água destilada por 3 minutos cada vez.
- Finalmente foi feita a transferência das tiras para uma folha de papel absorvente, utilizando-se uma pinça, até que elas ficassem completamente secas, para em seguida colocá-las em um ambiente escuro.

A leitura do resultado foi feita após a hibridização. Quando foi colocada a streptavidina marcada com a fosfatase alcalina, ocorreu uma ligação com os híbridos

biotinilados. A incubação com o cromógeno resultou em um precipitado lilás ou marron. As bandas, com as corês lilás ou marron, surgiram somente quando houve uma combinação perfeita entre o probe e o produto da PCR biotinilado.

Para realizar a leitura do resultado, utilizou-se um gabarito fornecido pelo fabricante do “kit”, e o resultado final foi determinado com o uso de uma tabela que contém o padrão de bandas de tipos e subtipos do VHC possíveis de serem detectados por este “kit”. Os tipos e subtipos detectáveis são: 1a, 1b, 1 a/1b, 1, 2a/2c, 2b, 2, 3a, 3b, 3c, 3, 4a, 4b, 4c/4d, 4e, 4f, 4h, 4, 5a e 6a.

3.5 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

As variáveis categóricas foram analisadas através de tabelas de frequências absolutas e relativas. Nas variáveis contínuas, utilizou-se estatística descritiva, com valores de média, desvio padrão, mediana e valores extremos.

Para verificar se existe associação entre estadiamento da fibrose e genótipo, com relação às variáveis categóricas, foi utilizado o teste Qui-quadrado (χ^2). Quando os valores esperados são menores que 5, utiliza-se o Teste Exato de Fisher, sendo considerado significativa a associação quando o p-valor $\leq 0,05$.

Para a análise das variáveis que influenciam na resposta gravidade da hepatite C, dada pela variável: estadio da fibrose (0 e 1 = normal; 2,3,4 = não normal), utilizou-se a análise de regressão logística univariada e multivariada, para a resposta dicotômica (modelo logito). Depois de feita a análise de regressão logística univariada, foi utilizado o procedimento “Stepwise” para selecionar as variáveis que melhor explicavam a variável resposta estadiamento.

O programa computacional utilizado foi ; The SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 6.12. SAS Institute Inc, 1989-1996, Cary, NC, USA.

4. RESULTADOS

Dos 100 indivíduos com anti-VHC estudados inicialmente por terem preenchidos os critérios iniciais, avaliamos 89 deles. Os 11 restantes, foram excluídos posteriormente do estudo pelas seguintes razões: em 8, a extração do RNA do VHC foi negativa pelo método utilizado; de três não se conseguiu obter a amplificação do c-DNA. Optamos por estudar apenas os pacientes cujo genótipo do VHC eram conhecidos.

Com relação à distribuição dos doadores quanto ao gênero (Tabela 1, gráfico 1), idade (Tabela 2), e estado civil (Tabela 3), observamos que a maioria deles são do sexo masculino, casados e encontram-se na faixa etária dos 30 aos 40 anos.

Tabela 1 – Distribuição dos pacientes quanto ao gênero.

Gênero	n (%)
Masculino	75 (84,3)
Feminino	14 (15,7)
Total	89 (100,0)

Gráfico 1 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto ao gênero.



Tabela 2 – Distribuição dos pacientes quanto à idade

	Média ± D.P.	Mediana	Mínimo	Máximo	n
Idade (anos)	37,50 ± 7,37	38	20	56	89

Tabela 3 – Distribuição dos pacientes quanto ao estado civil.

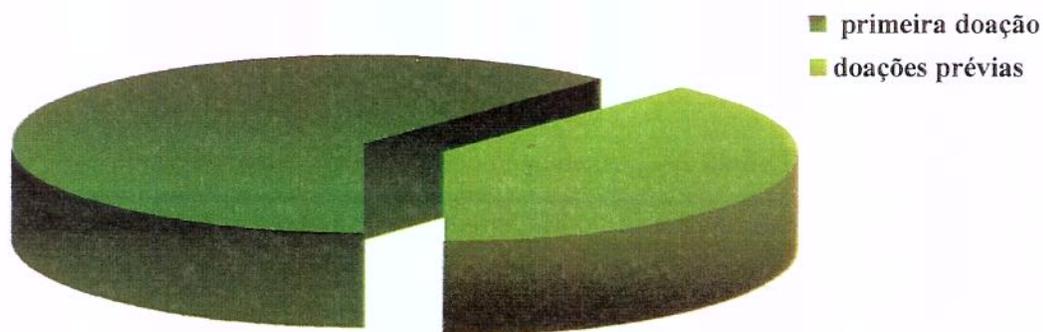
Estado Civil	n (%)
Casados	61 (68,5)
Solteiros	16 (18,0)
Outros	12 (13,5)
Total	89 (100,0)

Com relação à distribuição dos pacientes quanto ao número de doações anteriores a 1993, época em que se iniciou o teste anti-VHC para “screening” em doadores de sangue, observamos que cerca 25% deles eram doadores habituais e que 38% já tinham doado sangue anteriormente a esta data. (Tabela 4, gráfico 2).

Tabela 4 – Distribuição dos pacientes quanto a doações prévias.

Nº Doações < 1992	n (%)
0	50 (61,7)
1	10 (12,3)
2	01 (1,2)
>5	20 (24,8)
Total	81 (100,0)

Gráfico 2 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto às doações de sangue prévias.



Ao analisarmos os doadores quanto aos fatores de risco, observamos que a maioria deles (87,65%) apresentavam pelo menos um antecedente compatível com a infecção pelo VHC. Dos 11 pacientes que negaram qualquer fator de risco, 7 deles relataram antecedentes cirúrgicos (cirurgias abdominal, trauma e ginecológica), e 1 deles se referiu a uso de seringas de vidro para injeção de anabolisantes e vitaminas. Apenas 3 casos (3,33%) da amostra não relataram qualquer fator de risco ligado à infecção pelo VHC.

Os 39 pacientes (43,8%) com passado de uso de drogas inalatórias (UDIn), iniciaram este hábito há $12,2 \pm 7,03$ anos com mediana 10,0 anos (valores extremos: 1 - 33 anos). O tempo de uso da droga foi de $53,15 \pm 56,86$ meses, com uma mediana de 24,0 anos (valores extremos: 1 - 180 meses).

Os 23 pacientes (25,8%) que usaram drogas injetáveis (UDI), iniciaram o hábito há $14,39 \pm 6,6$ anos, com uma mediana 12,0 anos (valores extremos: 6 - 33 anos). Utilizaram drogas por $65 \pm 57,5$ meses, com uma mediana de 48,0 meses (valores extremos de 1 - 180 meses). Os 18 pacientes tatuados, realizaram-nas há $14,16 \pm 5,3$ anos, com uma mediana de 15,0 anos (valores extremos: 7 - 20 anos).

O uso do Gluconergan® foi mencionado por 48,2% dos doadores, para a obtenção de efeito energizante. Os indivíduos iniciaram o uso do medicamento há $16,6 \pm 3,6$ anos, com uma mediana 16,5 anos e valores extremos de 10 e 23 anos. O tempo de uso desta medicação foi de $20,6 \pm 18,41$ meses, com a mediana de 12 meses e valores extremos 1 e 120 meses.

Apenas 14,9% dos pacientes relataram ter sido transfundidos antes de 1993, ou seja, antes da realização do teste anti -VHC nos doadores de sangue. A média do tempo em que foi realizada a transfusão sanguínea foi de $20,9 \pm 8,19$ anos, com mediana de 20,0 anos e o valor mínimo e máximo de 7 e 35 anos respectivamente. Dois pacientes não souberam informar se já tinham se submetido à transfusão sanguínea.

Abaixo estão representadas as tabelas 5 a 9, com os doadores distribuídos quanto ao UDIn, ao UDI, à presença de tatuagem, ao uso de Gluconergan® e ao passado de transfusão sanguínea antes de 1993. Em seguida, o gráfico 3, com a distribuição destes indivíduos quanto a estes fatores de riscos.

Tabela 5 – Distribuição dos pacientes quanto ao uso de droga inalatória (UDIn)

UDIn	n (%)
Sim	39 (43,8)
Não	50 (56,2)
Total	89 (100,0)

Tabela 6 – Distribuição dos pacientes quanto ao uso de drogas injetáveis (UDI)

UDI	n (%)
Sim	23 (25,8)
Não	66 (74,2)
Total	89 (100,0)

Tabela 7 – Distribuição dos pacientes quanto à presença de tatuagem

Tatuagem	n (%)
Sim	18 (20,2)
Não	71 (79,8)
Total	89 (100,0)

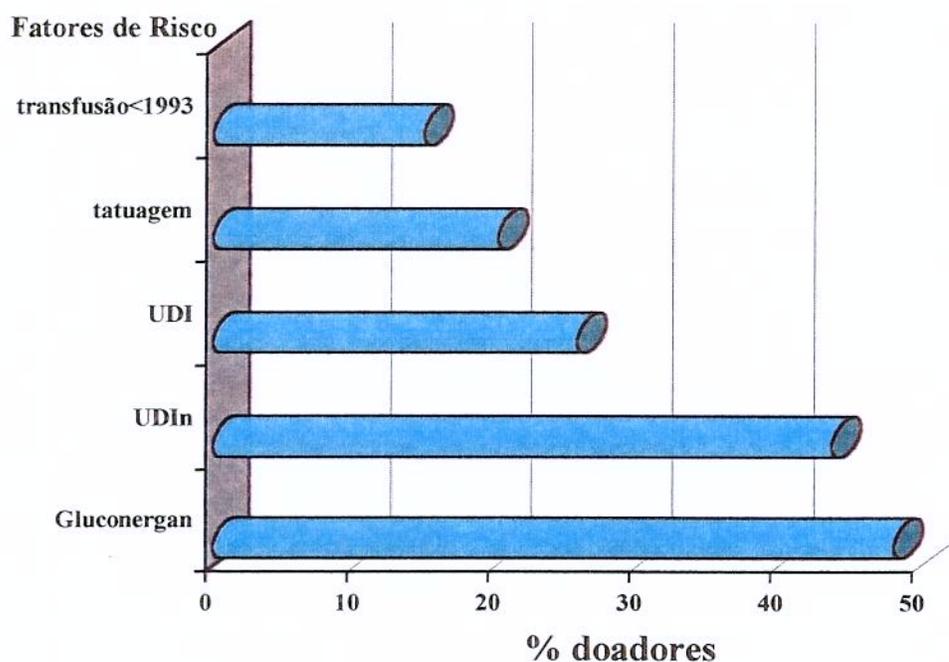
Tabela 8 – Distribuição dos pacientes quanto uso de Gluconergan®

Gluconergan®	N (%)
Sim	41 (48,2)
Não	44 (51,8)
Total	85 (100,0)

Tabela 9 – Distribuição dos pacientes quanto ao passado de transfusão sanguínea antes de 1993.

Transfusão	n (%)
Sim	13 (14,9)
Não	74 (85,1)
Total	87 (100,0)

Gráfico 3 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto aos fatores de risco.



A distribuição dos fatores de risco associados à atividade sexual, contatos familiares e ocupação profissional são mostradas nas tabelas de 10 a 14, e no gráfico 4. Observamos que 33% dos doadores tinham uma história de promiscuidade sexual, sendo definida com antecedentes de sexo com mais de 5 parceiros no ano, ou com prostitutas, sem o uso de preservativos.

Todos os 7 pacientes com história de terem ocupação como profissionais da saúde, negaram acidentes perfurantes com agulha. Em outros 7 indivíduos, tivemos história

de contato com cônjuges portadores do VHC (destes, nós avaliamos 2 casais na presente amostra).

Tabela 10 – Distribuição dos pacientes quanto ao passado de promiscuidade sexual.

Promiscuidade	n (%)
Sim	30 (33,7)
Não	59 (66,3)
Total	81 (100,0)

Tabela 11 – Distribuição dos pacientes quanto ao passado de relação homossexual.

Homossexualismo	n (%)
Sim	13 (14,6)
Não	76 (85,4)
Total	89 (100,0)

Tabela 12 – Distribuição dos pacientes ao passado de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST).

DST	n (%)
Sim	16 (22,5)
Não	55 (77,5)
Total	71 (100,0)

Tabela 13 – Distribuição dos pacientes quanto ao passado de trabalho como profissionais de saúde.

Profissionais Saúde	n (%)
Sim	07 (7,9)
Não	82 (92,1)
Total	89 (100,0)

Gráfico 4 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto aos fatores de risco associados às atividade sexual e a ocupacional.

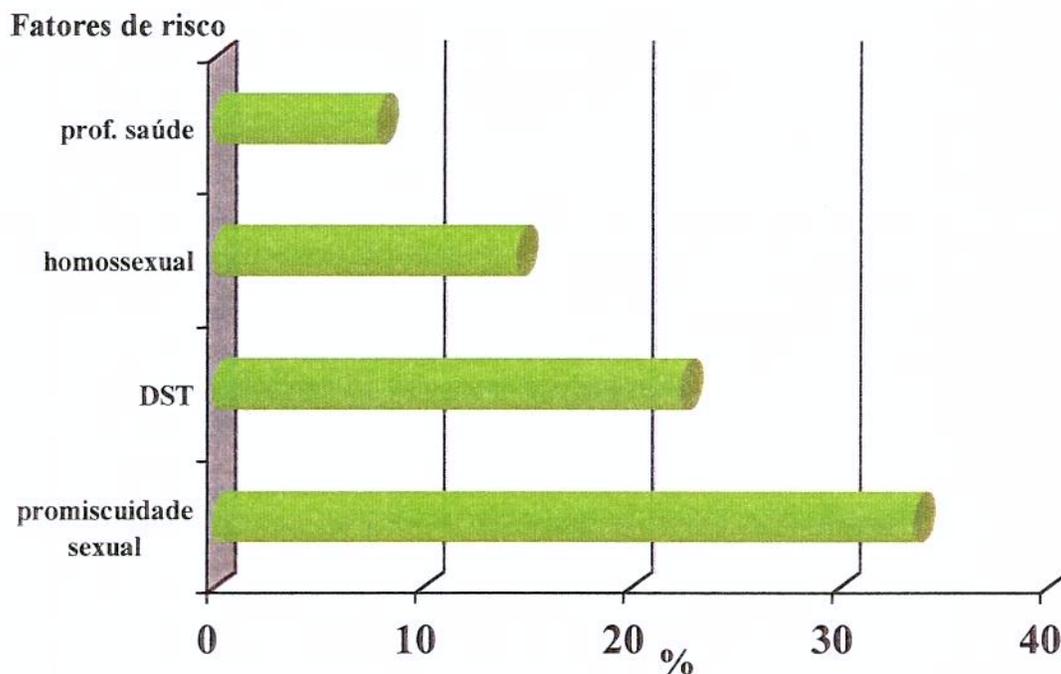


Tabela 14 – Distribuição dos pacientes quanto a contatos com familiares.

Contato Familiar	n (%)
Cônjuge	07 (7,9)
Outro (Pais/Irmãos)	05 (5,6)
Negam	77 (86,5)
Total	89 (100,0)

Na tabela 15 mostramos a distribuição dos pacientes quanto a antecedentes de hepatite ou de icterícia. Na tabela 16 e no gráfico 5 os doadores estão distribuídos quanto ao uso de álcool, de acordo com a dose diária ingerida. Observamos que apenas 10% dos doadores relataram um passado de hepatite ou de icterícia prévia, e que cerca de 45% deles tinham um passado de etilismo crônico.

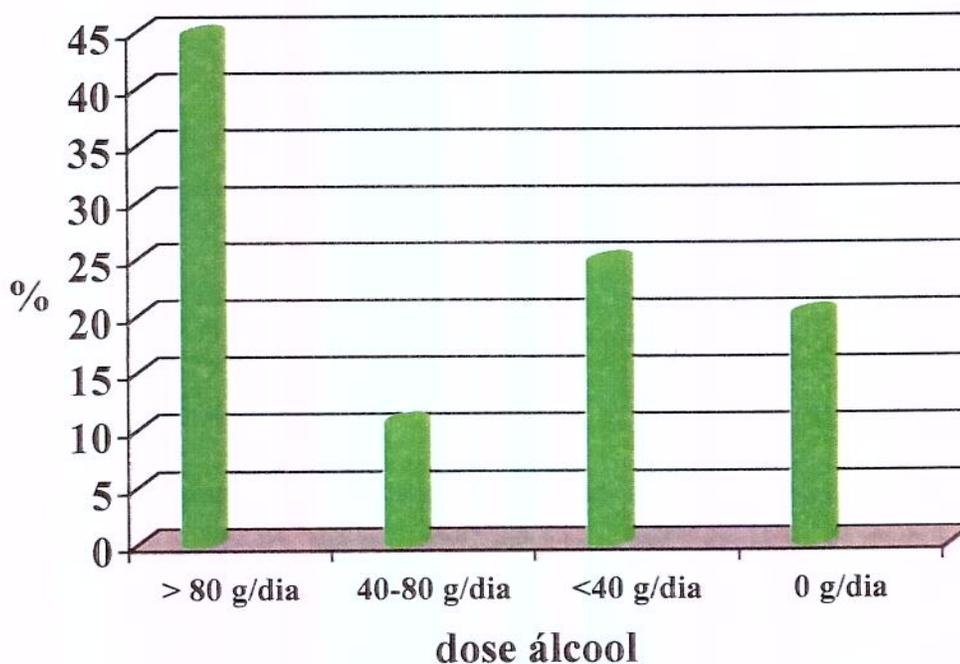
Tabela 15 – Distribuição dos pacientes quanto a antecedentes de hepatite

Ant. Hepatite	n (%)
Sim	09 (10,3)
Não	78 (89,7)
Total	87 (100,0)

Tabela 16 – Distribuição dos pacientes quanto à dose de álcool (em gramas) ingerida diariamente.

Dose álcool g/dia	n (%)
Nega	17 (20,0)
<40	21 (24,7)
40-80	09 (10,6)
>80	38 (44,7)
Total	89 (100,0)

Gráfico 5 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto à dose de álcool ingerida diariamente



Quando distribuímos os doadores quanto à presença do anticorpo HBc para o vírus da hepatite B (Tabela 17), notamos que apenas 7,1% deles apresentaram-no positivo.

Tabela 17 – Distribuição dos pacientes quanto à presença do anti HBc.

Anti HBc	n (%)
Positivo	06 (7,1)
Negativo	79 (92,9)
Total	85 (100,0)

A distribuição dos pacientes quanto à atividade das transaminases séricas, no momento da primeira consulta ou na ocasião da biópsia hepática (Tabelas 18 e 19, gráfico 6), mostrou que a AST variou de 0,4 a 7,6 vezes o limite superior da normalidade (LSN), e a sua média de atividade para o grupo estudado foi de $1,8 \pm 1,6$ vezes o LSN, com mediana de 1,2 vezes. A ALT variou de 0,38 a 12,8 vezes o LSN, a sua média de atividade foi de $3,2 \pm 2,7$ vezes o LSN e a mediana de 2,2 vezes. Para o estudo da atividade sérica das transaminases, os doadores foram classificados em 3 grupos: o primeiro, com a atividade menor que 1 vez o LSN, um outro com a variação de 1,1 a 3 vezes o LSN, e o último com mais de 3 vezes o LSN. Observamos que cerca de 40% dos doadores apresentaram a atividade da AST dentro do normal e apenas 15,1% deles tinham os resultados da atividade da ALT dentro da normalidade.

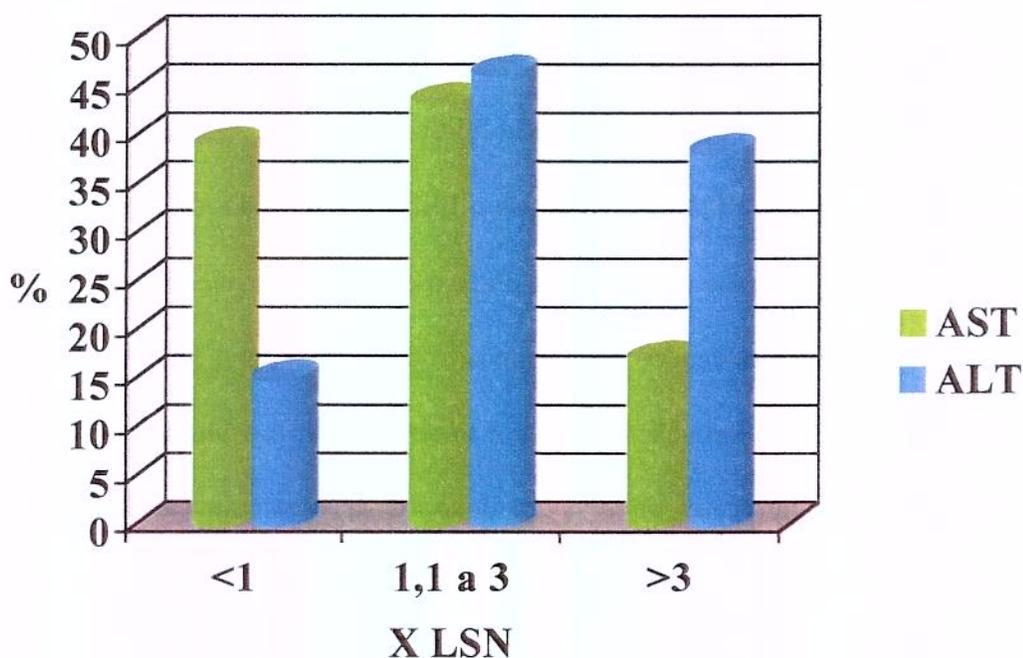
Tabela 18 – Distribuição dos pacientes quanto ao número de vezes a atividade da AST está do LSN.

AST	n (%)
≤ 1	34 (39,1)
1,1-3	38 (43,7)
> 3	15 (17,2)
Total	87 (100,0)

Tabela 19 – Distribuição dos pacientes quanto ao número de vezes a atividade da ALT está do LSN.

ALT	n (%)
≤1	13 (15,1)
1,1-3	40 (46,5)
>3	33 (38,4)
Total	0,0)

Gráfico 6 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto ao número de vezes a atividade da AST e ALT está acima do LSN.



A distribuição dos pacientes quanto ao estadiamento da fibrose hepática e a gradação da atividade necro-inflamatória nos compartimentos portal (CP), peri portal (CPP) e lobular (CL), está representada nas tabelas 20 a 23, e no gráfico 7. Dos 89 doadores em estudo, a biópsia hepática foi permitida em 78. Com relação ao estadiamento da fibrose, observamos que 62,8% da casuística apresentaram à biópsia hepática os estádios 0 e 1.

Cinquenta e nove por cento e 65,4%, apresentaram nos compartimentos peri-portal e lobular, respectivamente, a gradação da atividade necro-inflamatória 0 e 1.

Tabela 20 – Distribuição dos pacientes quanto ao estadiamento da fibrose hepática (alterações estruturais).

Estadio da Fibrose	n (%)
0	05 (6,4)
1	44 (56,4)
2	14 (17,9)
3	08 (10,3)
4	07 (9,0)
Total	78 (100,0)

Tabela 21 – Distribuição dos pacientes quanto a atividade necro-inflamatória no CP.

CP	n (%)
0	02 (2,6)
1	30 (38,5)
2	30 (38,5)
3	14 (17,9)
4	02 (2,6)
Total	78 (100,0)

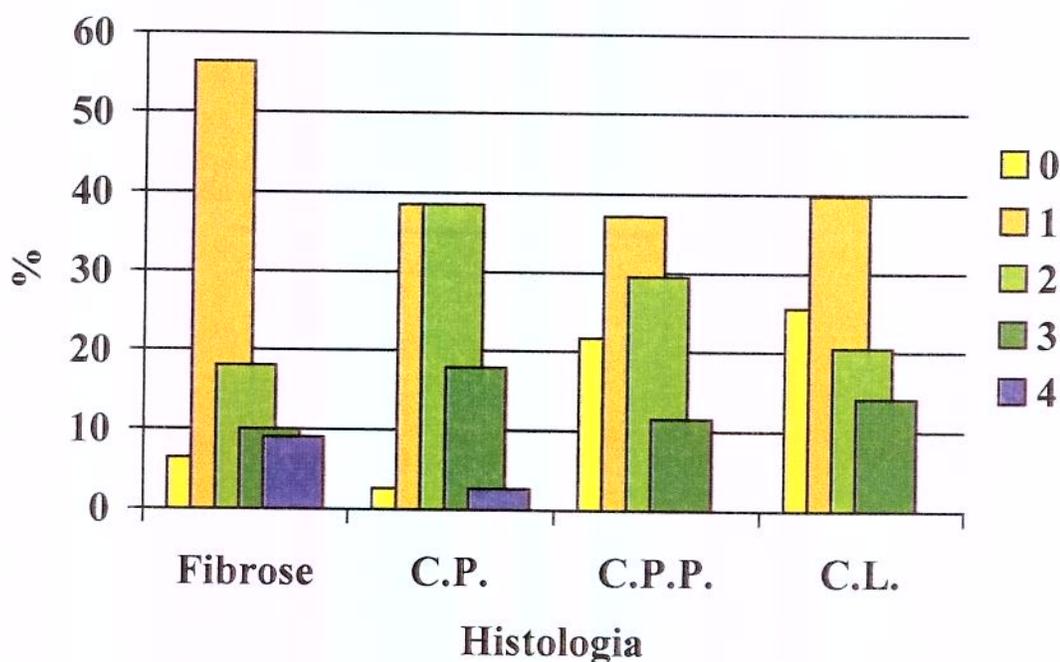
Tabela 22 – Distribuição dos pacientes quanto a atividade necro-inflamatória no CPP.

CPP	n (%)
0	17 (21,8)
1	29 (37,2)
2	23 (29,5)
3	09 (11,5)
Total	78 (100,0)

Tabela 23 – Distribuição dos pacientes quanto à atividade necro-inflamatória no CL.

CL	n (%)
0	20 (25,6)
1	31 (39,8)
2	16 (20,5)
3	11 (14,1)
Total	78 (100,0)

Gráfico 7 – Representação gráfica dos pacientes quanto à análise histológica: estadiamento da fibrose e atividade necro-inflamatória.



A distribuição dos pacientes quanto aos genótipos do VHC encontrados na amostragem está expressa nas tabelas 24 a 25, e nos gráficos 8 e 9. Encontramos em 44,9% dos doadores o genótipo 1 do VHC e, em 40,5% deles, o genótipo 3. Neste último, encontramos exclusivamente o subtipo 3a e no primeiro uma distribuição equitativa entre os subtipos 1a e 1b.

Tabela 24 – Distribuição dos pacientes quanto aos genótipos agrupados.

Genótipo	n (%)
1	40 (44,9)
2	05 (5,7)
3	36 (40,5)
Misto	08 (8,9)
Total	89 (100,0)

Gráfico 8 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto aos genótipos agrupados do VHC.

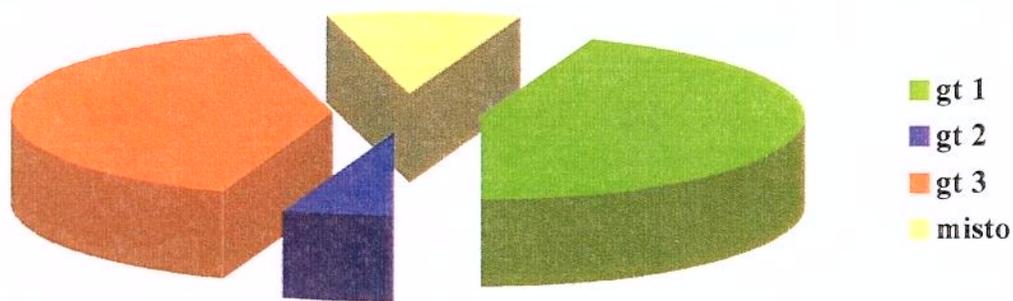
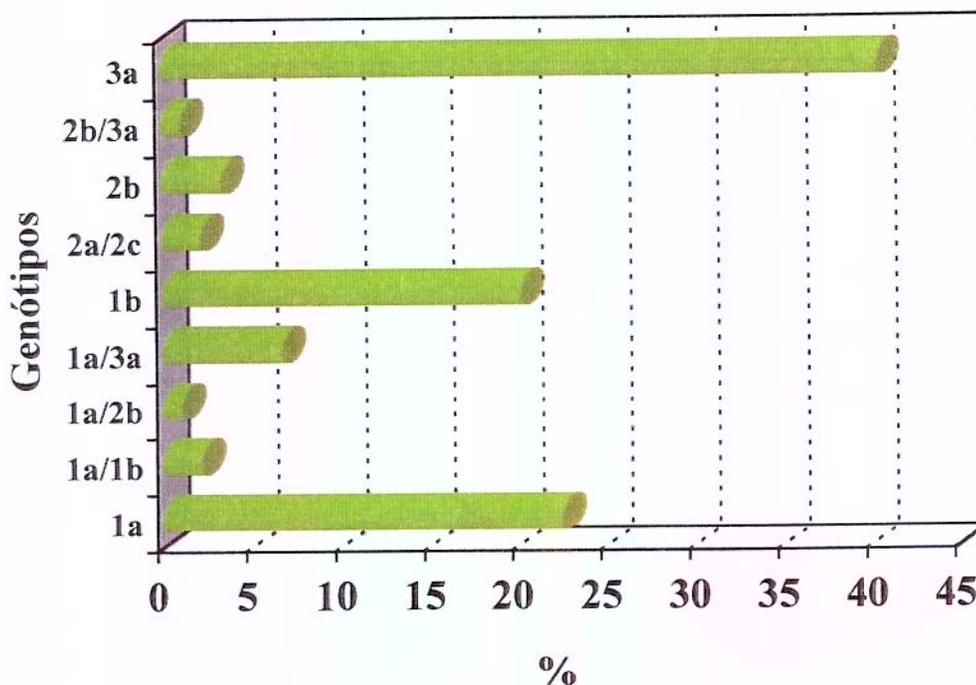


Tabela 25 – Distribuição dos pacientes quanto aos genótipos do VHC, classificados em subtipos.

Genótipo-Subtipo	n (%)
1a	20 (22,5)
1a/1b	02 (2,2)
1a/2b	01 (1,1)
1a/3a	06 (6,7)
1b	18 (20,2)
2a/2c	02 (2,2)
2b	03 (3,4)
2b/3a	01 (1,1)
3a	36 (40,4)
Total	89 (100)

Gráfico 9 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto aos genótipos e subtipos do VHC



Na distribuição dos pacientes quanto ao tempo estimado de duração da infecção pelo VHC e a idade do paciente na provável época da contaminação (tabelas 26 e 27, gráficos 10 e 11), consideramos como a provável época do início da doença a data do primeiro contato com um fator de risco conhecido para a infecção pelo VHC. Oitenta por cento da amostra tinham um tempo estimado de infecção pelo VHC abaixo de 20 anos. Os doadores apresentaram uma média de idade no momento da contaminação de $21,1 \pm 6,7$ anos, com mediana de 20 anos e uma variação de 1 a 41 anos.

Tabela 26 – Distribuição dos pacientes quanto ao tempo estimado da duração da infecção, em anos.

Tempo Infecção (anos)	n (%)
0-10	18 (22,0)
11-20	48 (58,5)
>20	16 (19,5)
Total	82 (100,0)

Gráfico 10 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto ao tempo estimado da infecção (em anos).

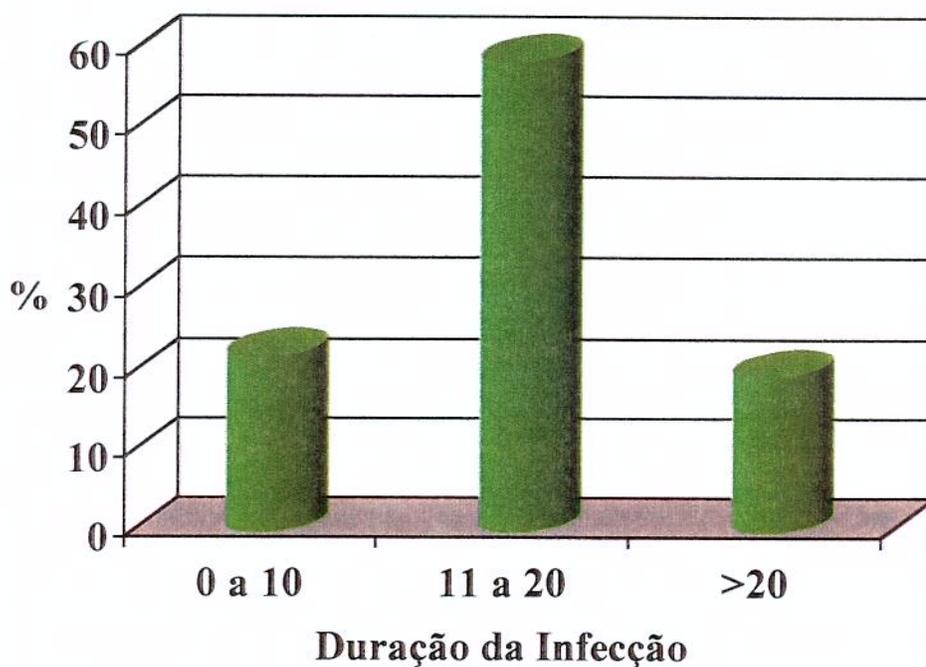
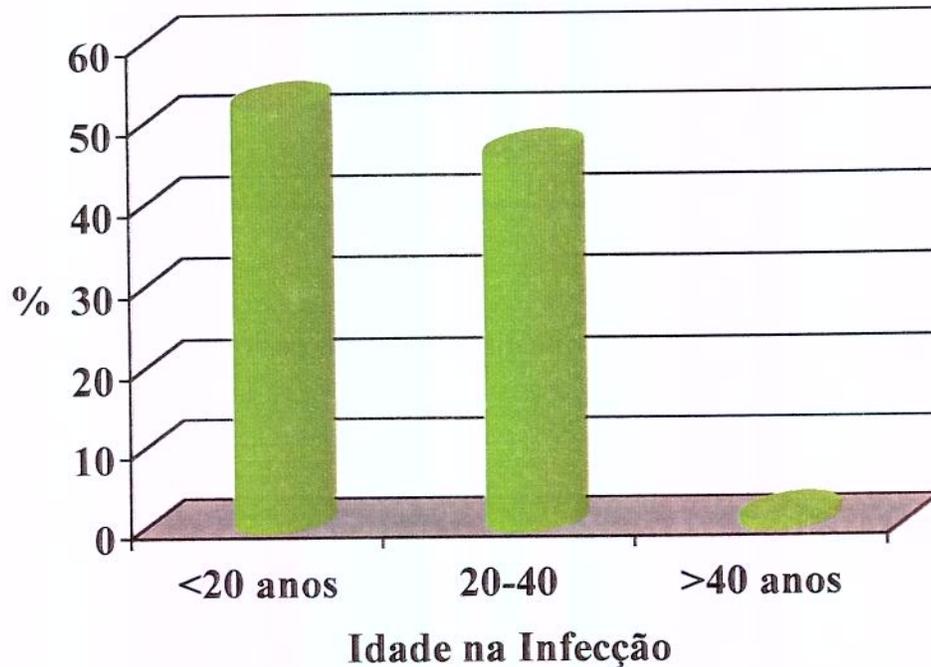


Tabela 27 – Distribuição dos pacientes quanto a faixa etária no momento da contaminação.

Idade/Contaminação	n (%)
≤20	43 (52,4)
20-40	38 (46,3)
>40	01 (1,2)
Total	82 (100,0)

Gráfico 11 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto à faixa etária do provável momento em que ocorreu a contaminação



A análise das possíveis associações entre a severidade da lesão hepática, caracterizada pelo estadiamento da fibrose com relação às variáveis categóricas, foram realizadas pelo método Exato de Fisher. Quando analisamos a distribuição do gênero dos pacientes, observamos uma predominância de ambos os sexos no estadio 1 da fibrose, e não houve diferenças estatisticamente significantes entre o gênero e o estadio da fibrose (tabela 28).

Tabela 28 – Distribuição do gênero dos pacientes quanto ao estadiamento da fibrose.

Gênero	Estadio da Fibrose n (%)					Total
	0	1	2	3	4	
Masculino	3 (3,85)	36 (46,15)	12 (15,38)	7 (8,97)	6 (7,69)	64 (82,05)
Feminino	2 (2,56)	8 (10,26)	2 (2,56)	1 (1,28)	1 (1,28)	14 (17,95)
Total	5 (6,41)	44 (56,41)	14 (17,95)	8 (10,26)	7 (8,97)	78 (100,0)
Teste Exato de Fisher		p = 0,770				

Quando analisamos as associações entre o estadio da fibrose hepática com relação aos vários fatores de risco para a infecção pelo VHC (UDI, UDIn, uso do Gluconergan® e passado de transfusão), não observamos diferenças estatisticamente significantes. Notamos que 66; 60; 65,7 e 61,5% dos doadores com passado de UDIn, UDI, uso do Gluconergan® e passado de transfusão, respectivamente, apresentavam à biópsia hepática os estadios da fibrose 0 e 1 (tabelas 29 a 32).

Tabela 29 – Distribuição dos pacientes com passado de UDIn quanto ao estadiamento da fibrose.

UDIn	Estadio da Fibrose n (%)					Total
	0	1	2	3	4	
Sim	2 (2,56)	20 (25,64)	5 (6,41)	3 (3,85)	3 (3,85)	33 (42,31)
Não	3 (3,85)	24 (30,77)	9 (11,54)	5 (6,41)	4 (5,13)	45 (57,69)
Total	5 (6,41)	44 (56,41)	14 (17,95)	8 (10,26)	7 (8,97)	78 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,979$

Tabela 30 – Distribuição dos pacientes com passado de UDI quanto ao estadiamento da fibrose.

UDI	Estadio da Fibrose n (%)					Total
	0	1	2	3	4	
Sim	2 (2,56)	10 (12,82)	4 (5,13)	1 (1,28)	3 (3,85)	20 (25,64)
Não	3 (3,85)	34 (43,59)	10 (12,82)	7 (8,97)	4 (5,13)	58 (74,36)
Total	5 (6,41)	44 (56,41)	14 (17,95)	8 (10,26)	7 (8,97)	78 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,602$

Tabela 31 – Distribuição dos pacientes que usaram Gluconergan® quanto ao estadiamento da fibrose.

Gluconergan®	Estadio da Fibrose n (%)					Total
	0	1	2	3	4	
Sim	2 (2,67)	21 (28,0)	4 (5,33)	6 (8,0)	2 (2,67)	35 (46,67)
Não	3 (4,0)	21 (28,0)	10 (13,33)	1 (1,33)	5 (6,67)	40 (53,33)
Total	5 (6,67)	42 (56,0)	14 (18,67)	7 (9,33)	7 (9,33)	75 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,129$

Tabela 32 – Distribuição dos pacientes com passado transfusional quanto ao estadiamento da fibrose.

Transfusão	Estadio da Fibrose n (%)					Total
	0	1	2	3	4	
Sim	1 (1,32)	7 (9,21)	3 (3,95)	1 (1,32)	1 (1,32)	13 (17,11)
Não	3 (3,95)	37 (48,68)	10 (13,16)	7 (9,21)	6 (7,89)	63 (82,89)
Total	4 (5,26)	44 (57,89)	13 (17,11)	8 (10,53)	7 (9,21)	76 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,923$

Quando analisamos a associação do estadiamento da fibrose hepática com relação à quantidade de álcool ingerida diariamente, não observamos diferenças estatisticamente significantes. Observamos que 57,5% dos doadores com antecedentes de etilismo crônico, com ingestão de álcool acima de 80 gramas por dia, apresentavam estadios da fibrose 0 e 1. O estadio 4 foi observado em 66,7% destes doadores com história de etilismo, e em 33,3% nos doadores com ingestão de álcool menor que 40 gramas por dia (tabela 33).

Tabela 33 – Distribuição dos pacientes de acordo com a dose de álcool ingerida por dia quanto ao estadiamento da fibrose.

Dose Álcool	Estadio da Fibrose n (%)					Total
	0	1	2	3	4	
0	2 (2,63)	9 (11,84)	3 (3,95)	1 (1,32)	1 (1,32)	16 (21,05)
<40	1 (1,32)	12 (15,79)	3 (3,95)	3 (3,95)	1 (1,32)	20 (26,32)
40-80	0 (0,0)	5 (6,58)	2 (2,63)	0 (0,0)	0 (0,0)	7 (9,21)
>80	2 (2,63)	17 (22,37)	6 (7,89)	4 (5,26)	4 (5,26)	33 (43,42)
Total	5 (6,58)	43 (56,58)	14 (18,42)	8 (10,53)	6 (7,89)	76 (100,0)

Teste exato de Fisher $p = 0,991$

Quando analisamos as associações entre o estadiamento da fibrose hepática com relação às atividades das aminotransferases, encontramos diferenças estatisticamente significantes. Observamos que 100 e 75% dos doadores classificados nos estadios de fibrose 4 e 3, respectivamente, apresentaram elevação da atividade da AST. O mesmo aconteceu para a

ALT, só que nas proporções de 83 e 100%, respectivamente. Ressaltamos, também, que 90% dos pacientes com a atividade da ALT normal, encontravam-se classificados nos estádios 0 e 1 (tabelas 34 e 35).

Tabela 34 – Distribuição da atividade da AST em número de vezes acima do LSN quanto ao estadiamento da fibrose.

AST	Estadio da Fibrose n (%)					Total
	0	1	2	3	4	
≤1	4 (5,26)	21 (27,63)	7 (9,21)	2 (2,63)	0 (0,0)	34 (44,74)
1,1-3	1 (1,32)	19 (25,0)	6 (7,89)	2 (2,63)	3 (3,95)	31 (40,79)
>3	0 (0,0)	3 (3,95)	1 (1,32)	4 (5,26)	3 (3,95)	11 (14,47)
Total	5 (6,58)	43 (56,58)	14 (18,42)	8 (10,53)	6 (7,89)	76 (100,0)

Teste Exato de Fisher **p = 0,010***

Tabela 35 – Distribuição das atividades da ALT em número de vezes acima do LSN quanto ao estadiamento da fibrose.

ALT	Estadio da Fibrose (4%)					Total
	0	1	2	3	4	
≤1	3 (4,0)	8 (10,67)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,33)	12 (16,0)
1,1-3	1 (1,33)	23 (30,67)	11 (14,67)	3 (4,0)	0 (0,0)	38 (50,67)
>3	1 (1,33)	11 (14,67)	3 (4,0)	5 (6,67)	5 (6,67)	25 (33,33)
Total	5 (6,67)	42 (56,0)	14 (18,67)	8 (10,67)	6 (8,0)	75 (100,0)

Teste Exato de Fisher **p = 0,002***

Na análise das associações entre a fibrose hepática com relação ao intervalo de tempo da duração da infecção pelo VHC, não observamos diferenças estatisticamente significantes. Entretanto, observamos uma tendência à diferença estatisticamente significativa quando analisamos a associação da fibrose em relação à idade do paciente na ocasião da contaminação. Oitenta e sete por cento dos doadores com estadio 3 da fibrose tinham idade acima de 20 anos na ocasião do contágio pelo vírus C. Dos doadores com cirrose hepática, 85,7% deles apresentaram um período de duração da infecção acima de 11 anos. Naqueles

indivíduos com mais de 20 anos de duração da doença, o estadio da fibrose foi maior que 2 em 87,5% deles. As tabelas 36 e 37 mostram estas análises.

Tabela 36 – Distribuição do intervalo de tempo estimado da infecção pelo VHC quanto ao estadiamento da fibrose.

Tempo de Infecção (anos)	Estadio da Fibrose n (%)					Total
	0	1	2	3	4	
0-10	0 (0,0)	9 (12,68)	4 (5,63)	1 (1,41)	1 (1,41)	15 (21,13)
11-10	3 (4,23)	26 (36,62)	5 (7,04)	4 (5,63)	4 (5,63)	42 (59,15)
>20	0 (0,0)	5 (7,04)	4 (5,63)	3 (4,23)	2 (2,82)	14 (19,72)
Total	3 (4,23)	40 (56,34)	13 (18,31)	8 (11,27)	7 (9,86)	71 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,472$

Tabela 37 – Distribuição dos pacientes em grupos de faixa etária no provável momento da contaminação pelo VHC, quanto ao estadiamento da fibrose.

Idade na Contaminação	Estadio da Fibrose n (%)					Total
	0	1	2	3	4	
≤20	3 (4,23)	22 (30,99)	5 (7,04)	1 (1,41)	3 (4,23)	34(47,89)
20-41	0 (0,0)	18 (25,35)	8 (11,27)	7 (9,86)	4 (5,63)	37 (52,11)
Total	3 (4,23)	40 (56,34)	13 (18,31)	8 (11,27)	7 (9,80)	71 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,071$

Analisando a associação do estadio da fibrose com relação aos genótipos do VHC, não encontramos diferenças estatisticamente significantes. O genótipo 1 apresentou-se em 67,5% dos pacientes com estadiamento 0 e 1, e o genótipo 3 em 58%.

Tabela 38 – Distribuição dos genótipos do VHC quanto ao estadiamento da fibrose.

Estadio da Fibrose	Genótipos n (%)				Total
	1	2	3	Misto	
0+1	25 (32,05)	2 (2,56)	18 (23,08)	4 (5,13)	49 (62,82)
2	4 (5,13)	3 (3,85)	6 (7,69)	1 (1,28)	14 (17,95)
3+4	8 (10,26)	0 (0,0)	7 (8,97)	0 (0,0)	15 (19,23)
Total	37 (47,44)	5 (6,41)	31 (39,74)	5 (6,41)	78 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,241$

A análise das possíveis associações entre os diversos genótipos do VHC encontrados na amostra com as variáveis categóricas, foram realizadas pelo método Exato de Fisher. Quando analisamos as associações entre os genótipos e os vários modos de contaminação desta infecção, não observamos diferenças estatisticamente significantes. Os genótipos 1 e 3 apareceram de uma forma equitativa entre os UDI, UDIn, usuários do Gluconergan® e os doadores com passado de transfusão, em torno de 40% para cada um destes genótipos (tabelas 39 a 42).

Tabela 39 – Distribuição dos pacientes com passado de UDIn quanto ao genótipo do VHC.

UDIn	Genótipos n (%)				Total
	1	2	3	Misto	
Sim	17 (19,1)	1 (1,12)	16 (17,98)	5 (5,62)	39 (43,82)
Não	23 (25,84)	4 (4,49)	20 (22,47)	3 (3,37)	50 (56,18)
Total	40 (44,94)	5 (5,62)	36 (40,45)	8 (8,99)	89 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,538$

Tabela 40 – Distribuição dos pacientes com passado de UDI quanto ao genótipo do VHC.

UDI	Genótipo VHC n (%)				Total
	1	2	3	Misto	
Sim	10 (11,24)	1 (1,12)	9 (10,11)	3 (3,37)	23 (25,84)
Não	30 (33,71)	4 (4,49)	27 (30,34)	5 (5,62)	66 (74,16)
Total	40 (44,94)	5 (5,62)	36 (40,45)	8 (8,99)	89 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,888$

Tabela 41 – Distribuição dos pacientes com antecedentes de uso do Gluconergan®, quanto ao genótipo do VHC.

Gluconergan®	Genótipo VHC n (%)				Total
	1	2	3	Misto	
Sim	18 (21,18)	1 (1,18)	18 (21,18)	4 (4,71)	41 (48,24)
Não	20 (23,53)	4 (4,71)	17 (20,0)	3 (3,53)	44 (51,76)
Total	38 (44,71)	5 (5,88)	35 (41,18)	7 (8,24)	85 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,632$

Tabela 42 – Distribuição dos pacientes com antecedentes transfusionais quanto ao genótipo do VHC.

Transfusão	Genótipo VHC n (%)				Total
	1	2	3	Misto	
Sim	6 (6,9)	0 (0,0)	5 (5,75)	2 (2,3)	13 (14,94)
Não	33 (37,93)	5 (5,75)	31 (35,63)	5 (5,75)	74 (85,06)
Total	39 (44,83)	5 (5,75)	36 (41,38)	7 (8,05)	87 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,6578$

Quando analisamos a associação dos genótipos do VHC dos doadores com contato familiar com portadores deste vírus, observamos diferença estatisticamente significativa. Houve um predomínio do genótipo 2 nos doadores cujo contato ocorreu com os cônjuges, em relação àqueles onde o contato foi com pais e irmãos (tabela 43).

Tabela 43 – Distribuição dos pacientes com história de contato familiar quanto ao genótipo do VHC.

Contato Familiar	Genótipo VHC n (%)				Total
	1	2	3	Misto	
Não	38 (42,7)	2 (2,25)	30 (33,71)	7 (7,87)	77 (86,52)
Esposo	2 (2,25)	3 (3,37)	2 (2,25)	0 (0,0)	7 (7,87)
Irmão/Pai	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (4,49)	1 (1,12)	5 (5,62)
Total	40 (44,94)	5 (5,62)	36 (40,45)	8 (8,99)	89 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,004^*$

Quando analisamos a associação entre os genótipos do VHC com relação à duração desta infecção, não observamos diferença estatisticamente significativa. Analisando a associação entre os genótipos com a idade do doador na ocasião da contaminação, observamos uma tendência a diferença estatisticamente significativa ($p = 0,056$), do genótipo 2 com relação aos doadores infectados na idade dos 20 aos 41 anos (tabelas 44 e 45).

Tabela 44 – Distribuição dos pacientes de acordo com o tempo estimado da infecção pelo VHC, quanto ao genótipo.

Tempo de Infecção	Genótipo VHC n (%)				Total
	1	2	3	Misto	
0-10	9 (10,98)	0 (0,0)	6 (7,32)	3 (3,66)	18 (21,95)
11-20	21 (25,61)	3 (3,66)	22 (26,83)	2 (2,44)	48 (58,54)
>20	6 (7,32)	1 (1,22)	7 (8,54)	2 (2,44)	16 (19,51)
Total	36 (43,9)	4 (4,88)	35 (42,68)	7 (8,54)	82 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,538$

Tabela 45 – Distribuição dos pacientes de acordo com a idade estimada na época da contaminação pelo VHC, quanto aos genótipos.

Genótipo	Idade Contaminação		Total
	≤20	20-41	
1	18 (21,95)	18 (21,95)	36 (43,9)
2	0 (0,0)	4 (4,88)	4 (4,88)
3	19 (23,17)	16 (19,51)	35 (42,68)
Misto	6 (7,32)	1 (1,22)	7 (8,54)
Total	43 (52,44)	39 (47,56)	82 (100,0)

Teste Exato de Fisher $p = 0,056$

Quando foi realizada a análise das possíveis associações da atividade inflamatória nos compartimentos portal, periportal e lobular, não houve diferença estatisticamente significativa em relação à distribuição dos genótipos encontrados nesta população. Também não encontramos diferenças significantes entre as associações dos genótipos com relação as atividades das transaminases séricas.

Na análise da regressão logística, tomou-se como variável resposta os estádios da fibrose hepática 2, 3 e 4. A variável resposta negativa (0) foram os estádios 0 e 1. As variáveis independentes, com suas respectivas categorias, foram comparadas com seus casos contrários (c.c.), e assim estão listados :

- Sexo (1 = masculino; 0 = feminino)

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SECÇÃO CIRCULANTE

- Idade
- Gama-GT classificatória (número de vezes do LSN).
- Idade na contaminação (1= idade > 20 anos; 0 = idade < 20 anos)
- Geno D1 (1 = genótipo 1; 0 = c.c. → genótipo misto)
- Geno D2 (1 = genótipo 2; 0 = c.c.)
- Geno D3 (1 = genótipo 3; 0 = c.c.)
- CIVI D1 (1= casado; 0 = c.c. → outro estado civil)
- CIVI D2 (1 = solteiro; 0 = c.c.)
- ADIn (1 = sim; 0 = não)
- ADI (1 = sim; 0 = não)
- Tatuagem (1 = sim; 0 = não)
- Transfusão (1 = sim; 0 = não)
- Homossexualismo (1 = sim; 0 = não)
- Promiscuidade (1 = sim; 0 = não)
- Prof. Saúde (1 = sim; 0 = não)
- DST (1 = sim; 0 = não)
- Contato com familiares (1 = sem história de contato; 0 = cônjuges e outros)
- Gluconergan® (1 = sim; 0 = não)
- Álcool dose D1 (1 = < 40 g; 0 = c.c. → 0g/dia)
- Álcool dose D2 (1 = 40 a 80 g; 0 = c.c.)
- Álcool dose D3 (1 = > 80g; 0 = c.c.)
- Anti-HBc (1 = positivo; 0 = negativo)
- TGO D1 (1 = TGO (AST) entre 1,1 a 3 vezes o LSN; 0 = c.c. → TGO<1)
- TGO D2 (1 = TGO > 3 vezes o LSN; 0 = c.c.)
- TGP D1 (1 = TGP(ALT) entre 1,1 a 3 vezes o LSN; 0 = c.c. → TGP<1)

- TGP D2 (1 = TGP > 3 vezes o LSN; 0 = c.c.)
- TINFEC D1 (1 = tempo da infecção entre 11 e 20 anos; 0 = c.c. → <10 anos)
- TINFEC D2 (1 = tempo da infecção > 20 anos; 0 = c.c.)

Os resultados da análise univariada estão representados na tabela 46. Observamos que as variáveis independentes : idade do doador na contaminação maior que 20 anos, resultados das atividades da TGO e da TGP acima de 3 vezes o LSN e o resultado da gama-GT classificatório, tiveram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$), com um intervalo de confiança (I.C.) de 95%.

Os resultados nos mostram que os doadores acima de 20 anos de idade apresentam 2,9 vezes mais chances de terem a variável resposta (estadiamento 2, 3 e 4) do que os doadores com idade menor que 20 anos. Os pacientes com os resultados das atividades da AST e da ALT acima de 3 vezes o LSN, tem 6,9 e 7 vezes mais chances, respectivamente, de apresentarem a variável resposta, do que os indivíduos com AST e ALT menor que 1 vez o LSN.

Com relação à análise da gama-GT classificatória e da idade dos doadores, observamos que os doadores apresentam chances de terem a variável resposta (estadiamento 2, 3 e 4) de 1,6 vezes mais para cada aumento na unidade da gama-GT classificatória. À medida que passa cada ano de idade do doador, tem-se uma chance de 1,17 vezes mais de encontrar a variável resposta.

Tabela 46 – Regressão logística univariada para a variável (estadiamento).

Variáveis	Parâmetro Estimado	p-valor	Odds	I.C. 95%
Sexo	0,7129	0,4645	1,603	0,453; 5,670
Idade Cont.	0,4277	0,0346	2,932	1,081; 7,955
CIVI D1 (cas.)	-0,9663	0,8096	0,852	0,231; 3,145
CIVI D2 (solt.)	-2,5257	0,0987	0,200	0,030; 1,351
GENO D1	0,3567	0,5778	1,920	0,193; 19,090
GENO D2	-12,2298	0,2145	6,000	0,354; 101,567
GENO D3	0,2469	0,3669	2,889	0,288; 28,944
ADIn	0,6440	0,5477	0,750	0,294; 1,916
ADI	-0,3689	0,7623	1,175	0,414; 3,332
Tatuagem	-0,8132	0,6015	0,771	0,198; 2,556
Transusão	0,5013	0,8943	1,087	0,318; 3,717
Homossexual.	-0,4914	0,7646	0,820	0,224; 3,006
Promisc.	-0,2877	0,2523	0,548	0,196; 1,535
Prof. Saúde	-0,6568	0,2638	2,453	0,508; 11,842
DST	-1,6835	0,1320	0,344	0,086; 1,379
Cont. Fam.	-12,6287	0,9518	0,960	0,255; 3,610
Gluconergan®	0,2007	0,6100	0,783	0,305; 2,007
AlcoDo D1	0,1625	0,9139	1,077	0,281; 4,127
AlcoDo D2	-0,1823	0,8189	0,800	0,118; 5,404
AlcoDo D3	0,8293	0,5261	1,474	0,444; 4,887
AntiHBc	0,9295	0,2750	2,812	0,439; 18,004
TGO D1	0,5516	0,4986	1,430	0,507; 4,029
TGO D2	1,9787	0,0122	6,933	1,525; 31,515
TGP D1	1,1510	0,1086	3,792	0,744; 19,315
TGP D2	2,2037	0,0230	7,042	1,309; 37,889
TINFE D1	0,2000	0,9434	0,961	0,316; 2,916
TINFE D2	1,2705	0,0614	3,857	0,938; 15,865
TINFEC	0,0413	0,1898	1,051	0,976; 1,133
GGTCLASS	0,5221	0,0279	1,672	1,057; 2,643
Idade	0,1175	0,0005	1,173	1,072; 1,284

A análise multivariada foi realizada depois de feita a análise de regressão logística univariada. Foi utilizado o procedimento Stepwise para selecionar as variáveis que melhor explicavam a variável resposta estadiamento. Com este procedimento, foi obtido o modelo representado na tabela 47.

Tabela 47 – Resultado final da regressão logística para estadiamento (n=76).

Variável	Parâmetro	D.P.	Chisq	p-valor	Odds	IC 95%
Intercepto	-8,5343	2,2487	14,4032	0,0001	—	—
Idade	0,1806	0,0531	11,5466	0,0007	1,198	(1,079; 1,329)
GGTCLASS	0,7060	0,2609	7,3245	0,0068	2,026	(1,215; 3,378)

Através da análise multivariada, com a aplicação do modelo logito, as variáveis idade e gama-GT classificatória foram as que influenciaram o estadiamento da doença. Isto é, o aumento de cada ano de idade aumentou a chance de evolução da doença em 1,17 vezes. Já o aumento de cada unidade de gama-GT classificatória aumenta em 2,12 vezes a chance de progressão da doença para os estadios superiores (2, 3 e 4).

5. DISCUSSÃO

5.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A CASUÍSTICA

Alguns pacientes com infecção pelo VHC mostram elevações discretas da atividade das transaminases séricas, ou com seus níveis flutuantes (ALTER et al., 1999). Entretanto, o curso evolutivo da doença nestes pacientes não é totalmente elucidado. Ao que parece, estes pacientes tem uma tendência a evoluírem com a progressão da fibrose, porém com uma velocidade bem mais lenta (ZYLBERBERG et al., 1999a).

Um outro grupo de pacientes são aqueles que mantêm a atividade da ALT persistentemente dentro dos limites da normalidade. A evolução da infecção neste grupo de pacientes também é controversa, como também a indicação do tratamento anti-viral (SOARES & GUZ, 1994; PERSICO et al., 2000).

A grande maioria dos estudos é realizada em centros terciários de tratamento de doenças hepáticas. Nestes, os pacientes atendidos são aqueles encaminhados com quadros mais graves e severos da hepatopatia (FATTOVICH et al., 1997; HU & TONG, 1999). Portanto, não se tem um conhecimento detalhado a respeito da grande massa de indivíduos contaminados pelo VHC, que cursam com a doença assintomática.

A hepatite crônica pelo VHC tem uma evolução para a cronicidade em torno de 85% dos casos. Destes, cerca de 20 a 30% evoluirão para a cirrose em um período de tempo médio de 20 anos (SEEFF, 1997; ALTER & SEEFF, 2000). Ainda, não podemos prever qual será a parcela de pacientes que terá este desfecho desfavorável. Sabe-se que alguns fatores, como a idade do paciente no momento da contaminação, a duração da doença, a co-infecção pelo vírus da hepatite B e pelo vírus HIV, o consumo excessivo de álcool, podem interferir na evolução desta infecção, acelerando a formação da fibrose hepática. O genótipo do VHC, um fator relacionado ao próprio vírus, possivelmente poderia ter uma participação na evolução da fibrose, porém não é consensual a sua influência no processo evolutivo da fibrose. É provável

que possíveis fatores ligados ao hospedeiro, também contribuam para a progressão da doença (POYNARD et al., 1997; FARCI & PURCELL, 2000; DI BISCEGLIE, 2000).

A história natural da infecção pelo VHC, ainda não é totalmente clara. O curso evolutivo desta doença, associado à pobreza de sintomas, tanto na fase aguda como nas formas crônicas, dificultam o pleno conhecimento e uma melhor caracterização desta infecção.

Os estudos epidemiológicos são extremamente válidos nesta enfermidade, pois podem ajudar no clareamento da sua história natural e também orientar intervenções através de profilaxia primária, uma vez que a vacina e a imunoglobulina para esta doença não existem. Também, com o melhor esclarecimento dos dados epidemiológicos, pode-se realizar profilaxia secundária em pacientes contaminados, seja pela atuação terapêutica, tentando desviar a trajetória evolutiva da infecção, ou pelo reconhecimento de indivíduos com precedentes de risco para a infecção pelo VHC, evitando a propagação da doença (WASLEY & ALTER, 2000).

O grupo de pacientes deste estudo são de pessoas assintomáticas, que procuraram espontaneamente o Banco de Sangue do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, ou o Hemonúcleo do Hospital Amaral de Carvalho, da cidade de Jaú. Portanto, não caracteriza totalmente a população geral, mas permite analisar pessoas potencialmente híidas, portadoras da infecção pelo VHC.

Com a análise dos fatores de risco, tempo de duração da doença, idade presumida do paciente na contaminação, consumo de álcool e do genótipo do VHC nesta população de pacientes aparentemente sadios, poderemos verificar as possíveis associações destas variáveis com a evolução da doença, sendo esta caracterizada pelo estadio da fibrose hepática.

O grupo apresenta vários indivíduos cujos antecedentes são favoráveis à contaminação de doenças virais relacionadas à via percutânea, dentre elas a infecção pelo

VHC. Estes pacientes deveriam ser excluídos na primeira entrevista, antes da doação sanguínea propriamente. Não obstante, este acontecimento não é característico da nossa população, pois nos Estados Unidos da América MURPHY et al. (2000) relatam fatos semelhantes, ou seja, pessoas que doam sangue e omitem antecedentes de risco para infecções virais, particularmente o uso de drogas injetáveis.

5.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS RESULTADOS

5.2.1 GÊNERO

Determinadas doenças hepáticas podem manifestar-se predominantemente no sexo feminino ou no masculino. Particularmente na doença hepática causada pelo VHC, não acontece predominância em determinado sexo. Entretanto, no nosso trabalho houve uma predomínio de pacientes do sexo masculino (84,3%). Possivelmente, este achado reflete a maior prevalência de doadores de sangue do sexo masculino, em torno de 85 a 90% no Hemocentro da Faculdade de Medicina de Botucatu. Um estudo em doadores de sangue com infecção pelo VHC realizado nos Estados Unidos da América (MURPHY et al., 1996), também mostrou uma prevalência maior do sexo masculino.

5.2.2 IDADE

A idade do paciente quando adquire a infecção é um dos fatores importantes na evolução para a fibrose e cirrose hepática. SCHWIMMER & BALISTRERI (2000), revisando a infecção pelo VHC em crianças, mostraram que entre 30 a 50% das crianças infectadas clareiam o vírus. A maioria das crianças apresentam níveis de atividade da ALT dentro da

normalidade, e os estudos com biópsias hepáticas confirmam que a doença é discreta na grande maioria dos pacientes; entretanto, em alguns a fibrose parece progredir com o avanço da idade.

GORDON, BAYATI, SILVERMAN (1998), avaliando pacientes com doença hepática causada pelo VHC, sem história de abuso de álcool, através de análise univariada, relacionaram a idade do paciente na contaminação com o risco de falência hepática.

O nosso trabalho apresenta pacientes jovens, com idade média de $37,5 \pm 7,37$ anos, e com os valores extremos de 20 a 56 anos. Este perfil na idade da população estudada é consequência da permissão para doação de sangue somente de indivíduos com idade entre 20 e 60 anos.

5.2.3 DOAÇÕES PRÉVIAS

A maioria dos pacientes estudados (61,7%) era de doadores de sangue recentes, ou seja, estavam doando sangue pela primeira vez. Dos 31 pacientes com doações múltiplas, 20 deles já tinham doado sangue mais de 5 vezes antes de 1993, época em que se iniciou o teste sorológico de primeira geração para o VHC nos bancos de sangue de Botucatu e Jaú.

O fato de pessoas com história de doações múltiplas serem contaminados pelo VHC é relatado em outros estudos (SERFATY et al., 1995; MURPHY et al., 1996), reforçando a importância da transfusão sanguínea na propagação da infecção pelo VHC antes dos testes sorológicos de “screening” para este vírus.

5.2.4 FATORES DE RISCO

Os estudos epidemiológicos da hepatite NANB, antes da identificação do VHC, relacionavam-na à transfusão de sangue e ao uso de drogas injetáveis. Após o reconhecimento do VHC, comprovou-se que cerca de 90% das hepatites pós-transfusionais eram causadas por este agente.

Com a introdução, pelos Hemocentros, dos testes sorológicos de “screening” para o VHC, o modo de contaminação via transfusão sanguínea caiu agudamente. Nos Estados Unidos da América, a partir da realização do anti-VHC de primeira geração, a incidência de contaminação por esta via caiu de 5 a 13% para 0,6 a 3%, e, após a implementação dos testes de terceira geração, declinou para 0,001 a 0,9% (WASLEY & ALTER, 2000).

Logo após a sua identificação, vários estudos epidemiológicos não conseguiram relacionar o VHC com uma via de contaminação em até 40% dos casos. ALTER (1995), associou-o a um baixo nível sócio-econômico em 44% dos indivíduos. Mais recentemente, a mesma autora e colaboradores (ALTER et al., 2000), ainda o associam à pobreza como fator independente.

KHAN et al. (2000), analisando 455 pacientes na Austrália, observaram que nos pacientes não nascidos neste continente, em uma boa parte não se conseguiu identificar uma via de contaminação do VHC, classificando-os como portadores de transmissão esporádica. Possivelmente, uma explicação para tal fato seria a existência de hábitos ou costumes nesta população não conhecidos pelos autores, e que, logicamente, não foram questionados.

MURPHY et al. (2000), estudando doadores de sangue nos Estados Unidos da América que responderam a um questionário enviado após a confirmação do anti-VHC,

observaram que em pelo menos 90% dos casos apresentavam 1 fator de risco independente, associado com esta infecção. Neste questionário, foram incluídos, também, hábitos como escarificação religiosa, sexo com usuários de drogas, “piercing”, uso prévio de imunoglobulinas e antecedente de prisão por mais de 3 dias.

Estudos realizados no Brasil também reportam taxas de 30 a 40%, onde não se estabelece qualquer fator de risco relacionado à infecção pelo VHC (LIMA et al., 1995; GUZ, 1998; BASSIT et al., 1999).

No presente estudo, dos 89 pacientes analisados, 78 (87,65%), relataram pelo menos 1 antecedente compatível com risco de infecção para o VHC. Dos 11 pacientes que negaram qualquer fator de risco, 7 deles apresentaram passado cirúrgico (operações ginecológicas e obstétricas, abdominais e de trauma) e 1 outro referiu uso freqüente de injeções com seringas de vidro para administrar vitaminas. Em somente 3 casos (3,37%) da amostra não observamos qualquer fator de risco envolvido na infecção pelo VHC.

5.2.4.1 Uso de Drogas Injetáveis (UDI)

Nos Estados Unidos da América e na Austrália, após o controle dos Hemocentros, o UDI é o modo mais freqüente e eficaz de contaminação por este vírus (MURPHY et al., 2000; KHAN et al., 2000).

MANSEL & LOCARDINI (1995) relataram que cerca de 70% dos drogaditos eram seropositivos para o VHC. WASLEY & ALTER (2000), em uma revisão, reportaram que a infecção por este vírus é adquirida no primeiro ano de iniciação do hábito de injeção de drogas, em 50 a 90 % dos usuários.

Na nossa casuística, 25,8% dos pacientes referiram UDI (tabela 6). No Brasil, o UDI como fator de risco para a infecção pelo VHC é relatado em uma freqüência variável em vários estudos: LIMA, et al. (1995) encontraram 11,2% dos doadores anti-VHC positivo com

passado de drogadição; GUZ (1998) relatou passado de UDI em 20% de seus pacientes assintomáticos e BASSIT et al. (1999), em 12% dos seus pacientes em tratamento anti-viral. Entretanto, nos Estados Unidos da América, MURPHY et al. (2000) reportam o UDI em 51% de sua casuística, que era composta de doadores.

É importante ressaltar o fato de que um considerável número de doadores negam passado de UDI na primeira entrevista realizada no Banco de Sangue. Mesmo depois de encaminhados para o hepatologista, alguns pacientes não confirmaram o UDI na primeira consulta. Este acontecimento também foi relatado por THOMAS (2000), em editorial.

5.2.4.2 Uso de Drogas Inalatórias (UDI_{in})

O uso de drogas inalatórias, particularmente a cocaína, tem sido associado à infecção pelo VHC (CONRY-CANTINELLA et al., 1996; ALTER, 1997; WILLIAMS, et al., 1998), porém não é consensual a aceitação desta via como modo de transmissão desta infecção (WASLEY & ALTER, 2000; ALTER et al., 2000).

ALTER (1997), entrevistando usuários de cocaína inalatória, relatou que cerca de 30% deles referiram apresentar epistaxes durante o ato de inalar, e que outros 30% observaram o sangramento nasal nos companheiros. Portanto, esta rota de contaminação parece ser viável biologicamente, quando acontece o compartilhamento do “canudinho” pelos usuários, especialmente naqueles que apresentam epistaxes.

Um relato que chama a atenção foi feito por ALTER et al. (2000), onde pessoas com antecedentes de terem fumado maconha tiveram mais chances de estarem contaminadas pelo VHC, muito embora este precedente não justifique biologicamente a contaminação por este vírus. Entretanto, estas pessoas poderiam estar omitindo o uso de drogas por outras vias, que poderiam, sim, estar relacionadas à contaminação pelo VHC.

Na nossa casuística, 39 pacientes (43,8%) referiram antecedentes de uso de cocaína inalatória, porém apenas 6,74% deles relataram o uso desta droga por inalação como único fator de risco. Vinte e um pacientes (23,5%), que usaram cocaína inalatória também referiram tê-la usado na forma injetável. Os outros apresentavam uma associação com o uso do Gluconergan®, ou com a presença de tatuagem.

5.2.4.3 Uso do Gluconergan®

Esta medicação é composta pelas seguintes substâncias: glicose, vitamina C e pelo cloridrato de ácido 2-amino-5-guanidinovalérico. Era indicada como um tônico e tinha seu uso destinado a promover uma melhor atuação em jogos esportivos e bailes de carnaval. Esta medicação foi proscrita do mercado há vários anos. Um grande número de pacientes neste estudo, relatou o seu uso compartilhando seringas, ou reutilizando seringas de vidro.

Na casuística apresentada, 41 (48, 2%) pacientes referiram este precedente, e, dentre estes, 20 casos apresentaram-no como único fator de risco envolvido na transmissão do VHC.

Atualmente, em algumas regiões do mundo, principalmente nos países com padrão tipo 2 na prevalência idade-específica, (Itália e Japão), há relatos de alguns costumes destas populações, em uma época remota, associados à infecção pelo VHC. Na Itália, MAIO et. al. (2000) relataram como fatores de risco antecedentes de reutilização de seringas de vidro entre familiares ou vizinhos. No Japão, o uso de práticas de acupuntura, realizadas por profissionais sem formação médica, também foi associado com esta infecção (NOGUCHI et al., 1997). No Leste da Europa também documentou-se a transmissão de certos patógenos, dentre eles o VHC, por meio de injeções inseguras (CDCP, 1999).

Desse modo, particularidades próprias de cada país podem estar implicadas na contaminação do VHC por certas rotas específicas. E se estas rotas não forem reconhecidas, uma parcela de pessoas infectadas pelo VHC pode ser taxada como portadora de transmissão esporádica, ou pode-se associá-las à contaminação por outras vias.

5.2.4.4 Passado de Transfusões Sangüíneas antes de 1993

A prevalência de passado de transfusões antes de 1993 foi de 14,9% na nossa casuística. GUZ (1998) reportou antecedente de transfusão em 20% dos pacientes assintomáticos e em 38% dos sintomáticos. BASSIT et al. (1999) tinham este modo de contaminação em seus pacientes com hepatite crônica pelo VHC submetidos a tratamento anti-viral, também em 38%. LIMA (1995), estudando doadores de sangue com anti-VHC positivo na região Sul do Brasil, encontrou uma prevalência de 13% de antecedente transfusional.

ESTEBAN et al. (1991), avaliando 254 doadores de sangue com anti-VHC positivo, na Espanha, encontraram 22% deles com transfusões sangüíneas prévias. Estudando doadores de sangue nos Estados Unidos, no período de 1994 a 1995, MURPHY et al. (2000), detectaram uma prevalência de passado de transfusões em 17% da amostra.

5.2.4.5 Tatuagem

Dezoito (20,2%) pacientes da nossa amostra eram tatuados. Todos relataram outros fatores de risco, além da tatuagem. Dentre os fatores de risco associados, era freqüente o uso de drogas injetáveis e/ou inaladas, e o uso do Gluconergam®. Em 1 paciente encontramos passado de promiscuidade sexual em conjunto com a tatuagem.

5.2.4.6 Risco Sexual

Estudos Norte-americanos associam a infecção com o VHC a uma atividade sexual promíscua, em uma porcentagem de 6 a 20% (MURPHY et al., 2000; WASLEY & ALTER, 2000).

Interessantemente, nossos resultados mostraram que pacientes com comportamento sexual de risco sempre apresentaram um outro fator para a infecção em estudo. Esta definição foi dada por passado de doenças sexualmente transmissíveis, ou história de sexo com mais de 5 parceiros ao ano, ou passado de relações homossexuais. À medida que aumentava o número de fatores de risco, proporcionalmente aumentava a porcentagem de pacientes com comportamento sexual promíscuo (Anexos 3).

Este modo de contaminação é controverso (MEISEL et al., 1995; ZILBERBERG, 1999b). A importância da atividade sexual na contaminação do VHC é questionada em estudos recentes. Na Itália, e especialmente no Japão, onde a prevalência da transmissão sexual era considerada elevada, atualmente alguns estudos sugerem que a contaminação ocorra por outras vias, próprias destas regiões, denominadas de atos médicos não seguros (ACKERMAN et al., 2000; WASLEY & ALTER, 2000).

Entretanto, a incidência da infecção pelo VHC em pessoas com hábitos sexuais de risco permanece mais elevada do que na população geral. Todavia, não podemos saber exatamente se esta população, com práticas sexuais não seguras, omite outros fatores de risco.

Sete pacientes deste estudo relataram contato com cônjuges com hepatite C. Dos 2 casais com hepatite C que participaram do estudo, um deles apresentou genótipos do VHC diferentes em cada cônjuge, e ambos tinham outros fatores de risco. No entanto, no outro casal, que apresentou o mesmo genótipo do VHC, o esposo apresentava vários fatores

de risco e a esposa apresentava como outro fator, além do sexual, antecedentes de partos cirúrgicos. Entretanto, também referiu uso de maconha em um passado remoto. Dos demais pacientes, 2 deles relataram um outro fator de risco, como uso de drogas ou de Gluconergam®; quanto ao último, seu cônjuge apresentava sangramentos freqüentes por portar cirrose e glomerulonefrite pelo VHC. Esta paciente, além do provável risco sexual, referiu passado cirúrgico de ooforectomia.

5.2.4.7 Outros Fatores de Risco

Sete pacientes deste estudo tinham passado de trabalho profissional na área de saúde. Entretanto, todos eles tinham como antecedente algum outro fator de risco, e nenhum deles se lembrou de acidentes perfurantes com agulhas.

Outra forma de contágio seria entre pessoas que habitam o mesmo domicílio, na ausência de contato sexual. Em nossa casuística 5 pacientes referiram contato com pais ou irmãos com antecedentes de hepatite, porém todos eles tinham pelo menos um outro fator de risco.

5.2.5 GENÓTIPOS DO VHC

A prevalência dos genótipos do VHC no Brasil mostra uma predominância dos tipos 1 e 3. No estado de São Paulo, cerca de 70% dos VHC são classificados como genótipo 1, 23% como genótipo 3 e 8% como genótipo 2 (GRUPO DE ESTUDO DA SBH, 1999). No estado do Rio Grande do Sul, a distribuição dos genótipos difere dos dados encontrados até agora em São Paulo, mostrando resultados menos distantes para a prevalência entre os genótipos citados, com valores de 50 e 40% para os genótipos 1 e 3, respectivamente

(CHEINQUER et al., 1998; GRUPO DE ESTUDO DA SBH, 1999). Entretanto, um estudo paulista mais recente, com pacientes submetidos a tratamento anti-viral, revelou a distribuição dos genótipos diferindo dos dados prévios, com uma incidência de 61% para o genótipo 1, e de 33% para o genótipo 3 (BASSIT et al., 1999). Em outros estados da Federação, a distribuição dos genótipos mostra uma taxa mais expressiva do tipo 1 (60 a 88%) e menos para o tipo 3 (8 a 20%) (GRUPO DE ESTUDO DA SBH, 1999; SILVA et al., 2000).

No presente estudo, observamos a seguinte distribuição dos genótipos do VHC: 44,9% para o tipo 1; 5,6% para o tipo 2 e 40,4% para o tipo 3 (Tabela 24). Observamos uma frequência de 9,9% dos pacientes com infecção mista, predominando os genótipos 1a/3a em 6 casos (tabela 25).

O padrão da distribuição dos genótipos do VHC encontrado no presente trabalho difere dos estudos realizados no Brasil previamente, exceto na região Sul do País. Estes resultados podem ser característicos da região estudada ou do perfil da população em estudo. Também diferenças metodológicas podem explicar estes resultados. A presente pesquisa foi realizada prospectivamente em uma população bem definida e homogênea, com a amostra previamente calculada. Na maioria dos estudos prévios, as populações não eram homogêneas, apresentando pacientes com diferentes estádios evolutivos da doença.

5.2.5.1 Associações com Fatores Epidemiológicos

Vários estudos tem avaliado se determinados genótipos estão associados com fatores clínicos ou epidemiológicos. Entretanto, os resultados são controversos, particularmente com relação à associação do genótipo e a evolução da doença. Recentemente, um grupo Italiano, estudando 650 pacientes com hepatite C, na ausência de cirrose, encontrou uma associação da transmissão não transfusional e baixos níveis de ALT com o genótipo 1;

relacionaram com o genótipo 2 pacientes mais idosos, sexo feminino e passado de transfusões sanguíneas e, com o genótipo 3, pacientes mais jovens, história de abuso de drogas e níveis elevados de ALT (SARACCO et al., 2000). Em estudo prospectivo e multicêntrico realizado na França, os autores relataram que os pacientes infectados pelo genótipo 1b foram relacionados com idade mais velha na exposição e com uma duração mais longa da doença (MARTINOT-PEGNOUX et al., 1999).

Neste estudo, não encontramos diferenças estatisticamente significantes quando analisamos a distribuição dos pacientes quanto ao modo de transmissão com os genótipos do VHC. Também não encontramos diferenças com a análise da distribuição dos genótipos quanto ao tempo estimado da infecção pelo VHC.

Na distribuição dos pacientes de acordo com a idade no momento da contaminação, quanto aos genótipos, observamos uma tendência a diferença estatisticamente significativa ($p = 0,056$). Houve predomínio do genótipo 2 em pacientes com idade na faixa dos 20 aos 40 anos, na ocasião da infecção (tabela 45).

Nos pacientes com história de contato familiar (cônjuges e outros), quando analisadas as associações com os genótipos do VHC, encontramos diferença estatisticamente significativa ($p = 0,004$). Os cônjuges tiveram predomínio do genótipo 2 em relação aos doadores com contato familiar com pais e irmãos (tabela 43).

5.2.5.2 Associações com a Gradação Histológica

Não encontramos diferenças estatisticamente significantes quando analisamos as possíveis associações dos genótipos com a atividade necro-inflamatória nos territórios portal, peri-portal e intralobular. Em nosso estudo, os resultados divergem daqueles encontrados por ADINOLFI et al. (2000), que relataram um índice de atividade histológica

mais elevado nos pacientes infectados pelo genótipo 2 ou por infecção mista, do que nos infectados pelo tipo 1b. BOOTH et al. (1997), avaliando biópsias hepáticas de pacientes com infecção C, descreveram uma tendência a uma maior atividade inflamatória nos infectados pelo genótipo 1. Porém, outros autores relatam uma ausência de relação entre os genótipos e o grau de atividade necro-inflamatória (RAMALHO et al., 2000).

5.2.6 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA: ESTADIAMENTO DA FIBROSE

A pior consequência da infecção pelo VHC é a sua progressão para a cirrose hepática, podendo, portanto, desencadear complicações decorrentes da hipertensão portal, ou da insuficiência hepatocelular, e mesmo do hepatocarcinoma.

Atualmente, esclarecimentos a respeito desta infecção têm acontecido através do entendimento da progressão da fibrose hepática. A fibrose avança até culminar no desarranjo da arquitetura hepática, conseqüentemente levando a alterações na microcirculação e na função celular, características próprias da cirrose. Portanto, a fibrose é um importante marcador do estadiamento da doença hepática. Uma série de estudos relativos à história natural da hepatite C comprova que esta infecção é uma doença caracterizada pela formação da fibrose, e esta tem uma progressão gradual, que pode ser lenta ou não (POYNARD et al., 1997; DI BISCEGLIE, 2000).

É pleno o conhecimento de que alguns fatores podem acelerar a progressão da fibrose na Hepatite C. Estes fatores são: a idade no momento da infecção, o sexo masculino, consumo excessivo de álcool e o período de duração desta infecção (DI BISCEGLIE, 2000; POYNARD et al., 2000a; POYNARD et al., 2000b). O elevado índice de massa corporal e a presença de um excessivo depósito de ferro no tecido hepático também parecem estar

relacionados a uma progressão mais rápida da fibrose (HOURIGAN et al., 1999; SMITH et al., 1998).

No presente estudo, quando analisamos a distribuição dos pacientes quanto ao estadiamento da fibrose, observamos que 62,8% deles apresentavam estadios 0 e 1, ou seja, com ausência da fibrose ou esta limitada aos espaços porta, respectivamente. Os outros 37,2% distribuíram-se nos estadios 2, 3 e 4, ou seja, com a fibrose se expandindo, formando septos porta-porta, ou septos porta-centro, ou já com a formação de nódulos (tabela 20). Estes achados são compatíveis com a população estudada, ou seja, de pessoas aparentemente saudáveis, onde não havia sinais evidentes de doença hepática.

5.2.6.1 Associações com o Gênero, modo da Transmissão e Consumo de Álcool:

Analisando as associações entre a severidade da lesão hepática, caracterizada pelo estadiamento da fibrose, não encontramos resultados estatisticamente significantes entre o sexo, o modo de transmissão da infecção e o consumo de álcool. RAMALHO et al. (2000), estudando 64 pacientes com hepatite crônica pelo VHC, revelaram uma associação entre o modo de contaminação esporádico e o avanço da fibrose. GORDON et al. (1998), avaliando um grupo de 627 pacientes, constituído de 282 com hepatite crônica pelo VHC pós transfusional, e de 262 onde a contaminação não ocorreu por esta via; encontraram uma relação entre o modo de transmissão da infecção via transfusão com a evolução da doença hepática.

Um parte expressiva dos pacientes deste estudo (44,3%), apresentava antecedente de consumo de álcool acima de 80 gramas por dia, e por um tempo superior a 5 anos. Entretanto, não observamos uma diferença estatisticamente significativa na associação

entre a ingestão de álcool e a evolução da fibrose hepática. Alguns estudos tem mostrado uma associação entre a progressão para a cirrose na infecção pelo VHC, ou a diminuição na sobrevida desta com o abuso do consumo de álcool (NIEDERAU et al., 1998; BELLENTANI et al., 1999).

5.2.6.2 Associações com a Idade na Contaminação e com a Duração da Infecção :

MATSUMURA et al. (2000) encontraram uma maior taxa na progressão da fibrose em pacientes que receberam transfusão de sangue com mais de 30 anos de idade. MARTINOT-PEIGNOUX et al. (1999) relataram uma relação independente pela análise multivariada, da idade mais avançada na exposição ao VHC e de uma duração mais longa da infecção, com a cirrose hepática ($p < 0,001$).

Em nosso estudo não encontramos diferença estatisticamente significativa quando analisamos as distribuições dos pacientes em 2 grupos, quanto à idade provável na época da contaminação pelo VHC com relação ao estadiamento da fibrose. Um grupo foi constituído de pessoas com idade menor que 20 anos e, o outro, com faixa etária dos 20 aos 41 anos. Observamos, porém, que 87,5% dos doadores classificados no estadio 3 de fibrose, tinham idade superior a 20 anos na ocasião do contágio. Entretanto, a maioria dos estudos revelam uma diferença significativa na evolução da fibrose hepática com a idade acima de 40 anos no momento da contaminação (POYNARD et al., 1997).

Os pacientes em estudo também foram divididos em 3 grupos quanto ao provável período de duração da infecção: de 0 a 10 anos, de 11 a 20 anos e maior que 20 anos. Quando avaliamos a associação destes com o estadiamento da fibrose, não encontramos diferença estatisticamente significativa. Entretanto, 64,3% dos doadores com um tempo de

duração da infecção superior a 20 anos apresentaram os estádios 2, 3 e 4. A ausência de significância nessa associação, contraria a maioria dos artigos na literatura médica. No entanto, temos que analisar o possível papel da idade precoce na época da contaminação em alguns pacientes, favorecendo uma evolução mais lenta da fibrose, conforme descrições prévias (SCHWIMMER & BALISTRERI, 2000).

5.2.6.3 Associação com o Marcador Anti-HBc do VHB

Atualmente, tem sido descrita a presença de marcadores de infecção pelo vírus da hepatite B em indivíduos infectados pelo VHC. Estes pacientes apresentam positividade para o anti- HBc. Esta situação tem sido denominada de infecção oculta pelo VHB e esta associação favorece a evolução da fibrose (CACCIOLA et al., 1999).

Em nossa casuística, não encontramos associação estatisticamente significativa entre os pacientes com este marcador sorológico e a evolução da fibrose hepática. Entretanto, devemos ressaltar o pequeno número de indivíduos com esta situação, na amostra.

5.2.6.4 Associação com os Genótipos do VHC

A associação entre os genótipos do VHC com a evolução desfavorável desta infecção é controversa. MARTINOT-PEIGNOUX et al. (1999) analisaram 1872 pacientes com hepatite C na França, observando que o genótipo 1b foi significativamente mais comum em pacientes com cirrose hepática. Entretanto, quando realizada a análise multivariada, o genótipo não foi relacionado como fator independente. BELLENTANI et al. (1999) relataram que pacientes infectados pelo genótipo 1b, ou com infecção mista, têm 31 vezes mais chances de terem cirrose hepática. Todavia, outros autores (BOOTH et al., 1997; WALI et al., 1999;

RAMALHO et al., 2000; ADINOLFI et al., 2000; MATSUMURA et al., 2000), não observaram associação entre os genótipos e a progressão da fibrose.

No presente estudo, não encontramos diferença estatisticamente significativa ($p = 0,241$) na distribuição dos genótipos quanto ao estadio da fibrose (tabela 38).

5.2.6.5 Associação com a Atividade das Transaminases

Neste estudo, encontramos uma associação entre as atividades da AST e da ALT mais elevada com a fibrose hepática, com diferenças estatisticamente significantes (0,010 e 0,002, respectivamente). Classificamos as atividades das transaminases em 3 grupos: dentro da faixa normal, 1,1 a 3 vezes acima do limite superior da normalidade e maior que 3 vezes acima do limite superior da normalidade. Portanto, quanto mais elevada a atividade das transaminases, maior a probabilidade do paciente apresentar uma progressão da fibrose.

WALI et al. (1999), avaliando 157 pacientes com hepatite C, encontraram associação da normalidade da atividade da ALT com uma diminuição na progressão da fibrose.

5.2.7 REGRESSÃO LOGÍSTICA

5.2.7.1 Análise Univariada

Na análise univariada, tomamos como variável resposta os estadios da fibrose de 2 a 4. As variáveis independentes foram : sexo, idade no início do estudo, idade presumida na contaminação (idade > 20 anos ou menor), genótipos 1, 2 e 3, estado civil (casado, solteiro), rotas de contaminação (UDI, UDI_n, Gluconergan®, transfusões de sangue,

tatuagem, sexo não seguro), dose de álcool ingerida ao dia, presença do marcador anti-HBc do VHB, atividade das transaminases (de 1,1 a 3 e maior que 3 vezes o limite superior da normalidade), intervalo de tempo de duração da infecção (entre 11 e 20 anos e > que 20 anos).

A análise de regressão univariada consistiu em ajustar um modelo para a variável estadiamento, em função das variáveis independentes citadas. Doadores com níveis de atividade das transaminases séricas acima de 3 vezes o LSN apresentaram uma associação com o estadiamento da fibrose de 2 a 4, com chances de terem esta resposta de 7,2 a 9 vezes para a AST e ALT, respectivamente, quando comparados com os pacientes com níveis normais das transaminases.

Os resultados da gama-GT classificatória também mostraram ser significantes. Para cada unidade da gama-GT classificatória acima do limite do normal, o paciente tem 1,6 vezes mais risco de encontrar esta variável resposta.

Os doadores com idade superior a 20 anos na ocasião da contaminação pelo VHC têm 2,9 vezes mais chances de terem o estadiamento da fibrose mais avançado, do que aqueles com menos de 20 anos de idade no momento da contaminação. Outra variável independente, associada a risco de fibrose mais acentuada, foi a idade do paciente. Para cada ano de idade da pessoa, ela terá 1,17 chances de apresentar um grau mais elevado de fibrose. OSTAPOWICZ et al. (1999), em sua amostra de 346 usuários de drogas injetáveis com hepatite C, encontraram, como resultados na análise multivariada, a idade como único fator independente associado à cirrose. MARTINOT-PEIGNOUX et al. (1999) associaram à cirrose a idade mais velha na exposição e uma duração mais longa da doença.

5.2.7.2 Análise Multivariada

Após a análise univariada, foram selecionadas novamente todas as variáveis que melhor explicavam a variável resposta estadiamento, utilizando-se o procedimento “stepwise”. O modelo indicou as variáveis idade e gama-GT classificatória, influenciando na evolução da fibrose hepática. Estes resultados nos sugere as seguintes interpretações: o aumento de cada ano de idade aumenta a chance de estadiamento 2, 3 e 4 em 1,19 vezes; o aumento de cada unidade da gama-GT classificatória aumenta esta chance em 2,02 vezes.

Portanto, idade e gama-GT foram as variáveis independentes que mais influenciaram a gravidade da infecção pelo VHC.

6. CONCLUSÕES

Analisando doadores de sangue com a infecção pelo VHC quanto aos aspectos epidemiológicos, genotipagem do VHC e histopatológicos, concluímos:

1. Na região estudada, os genótipos 1 e 3 tiveram praticamente a mesma prevalência, predominando ligeiramente o genótipo 1, e com uma discreta preponderância do VHC - 1a.
2. Não houve associação significativa entre os genótipos do VHC e as vias de transmissão do vírus, bem como com a progressão da doença e a atividade da mesma.
3. Os fatores de risco envolvidos na infecção pelo VHC foram reconhecidos em 96,63% da amostra em estudo. A maioria dos indivíduos apresentou, como modo de contaminação, o uso de drogas ilícitas injetáveis ou inalatórias, ou o uso do Gluconergan® administrado de forma não segura.
4. Idade e gama-GT foram as variáveis que influenciaram a gravidade da doença, portanto sua progressão.

7. SUMMARY

The goals of this study were to research the association between the genotypes of HCV and the ways of transmission of the disease and its staging, as to check which were the factors that were associated with progression of infection. The valued population was made up of 100 consecutive blood donors with the positive anti-HCV test. These patients were valued as regards the several risks factors, bioquimics exams, HCV genotypes, hepatic fibrosis staging and necro-inflammatory activities grading. In 89 the HCV genotypes was carried out, and in 78 the hepatic biopsy was performed. Most of donors were men (84,3%) and it wasn't given an account of a factor of risk for this infection only in 3,3% of them. The contamination was done by IDU in 25,8%, and in 48,2% by using Gluconergan™ medicine injections and 14,9% to 1 and from 40,5% to 3. The analysis of association among the several factors related to the infection with the and the stages of the fibrosis were not significant. The association between the progression of the disease and the chronic etilism wasn't significant, as weel as with the age in the time of the infection and with the lasting of this illness. There was a significant association between the AST and ALT activities and the fibrosis staging. The univariated regression analysis showed that the age at contamination, the patient's age, the result of GT-gama, and the transaminases activities over 3 times the upper normal limits, were associated to the staging answers varied 2 to 4 of the fibrosis. The multivariated logistic regression have detected the age (Odds = 1,19), and the classifying GT-gama (Odds = 2,02) as independents factors influenced the disease progression.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMAN, Z.; ACKERMAN, E.; PALTIEL, O. - Intrafamilial transmission of hepatitis c virus: a systematic review . **Journal of Viral Hepatitis**, **7(2)**: 93-103, 2000.
- ADINOLFI, L.E.; UTILI, R.; ANDREANA, A.; TRIPODI, M.F.; ROSARIO, P.; MORMOME, G.; RAGONEF, E.; PASQUALE, G.; RUGGIERO, G.- Relationship between genotypes of hepatitis C virus and histopathological manifestations in chronic hepatitis C patients. **Eur j Gastroenterol Hepatol**, **12 (3)**: 299-304,2000.
- ALTER, H.J.; TEGTMEIER, G.E.; JETT, B.W.; QUAN, S.; SHIH, J.W.; BAYER, W.L.; POLITO, M. - The use of recombinant immunoblot assay in the interpretation of anti-hepatitis C virus reactivity among prospectively followed patients, implicated donors, and random donors. **Transfusion** ,**31(8)**: 771-776, 1991.
- ALTER, H.J.; CONRY-CANTILENA, C.; MELPODER, J.; TAN, D.; VAN RADEN, M.; HERION, D.; LAU, D.; HOOFNAGLE, J.H. - Hepatitis C in asymptomatic blood donors. **Hepatology** , **26(suppl 1)** : S29-S33,1997a. (Abstract)
- ALTER, H.J. - Blood donors with hepatitis C. **NIH Consensus Development Conference. Management of Hepatitis C.**: 31-33, 1997b.
- ALTER, H.J. & SEEFF, L.B. - Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome. **Seminars in Liver Disease**, **20(1)**: 17-35,2000.
- ALTER, M.J. - Epidemiology of hepatitis C in the West. **Seminars in Liver Disease**, **15(1)**: 5-14, 1995.
- ALTER, M.J. Epidemiology of hepatitis C. **Hepatology** , **26 (Suppl 1)** : S62-S65, 1997a. (Abstract)
- ALTER, M.J. In: DAVIS, G.L. **clinics in liver disease – Hepatitis C**, **1(3)**: 559-568, 1997b.

- ALTER, M.J.; KRUSZON-MORAN, D.; NAINAN, O.V.; MC QUILLAN, G.; GAO, F.; MOYER, L.A.; KASLOW, R.A.; MARGOLIS, H.S. – The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med*, **341(8)**: 556-562, 1999.
- BASSIT, L.; VANDERBORGHT, B.; DORLHIAC-LLACER, P.E.; CHAMONE, D.A.F.; ALQUEZAR, A.S. Anti-HCV PCR positivity, and HCV subtypes among screening positive blood donors from São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Suppl 1)*, **27**: 100, 1994.
- BELLENTANI, S.; POZZATO, G.; SACCOCCIO, G.; CROVATTO, M.; CROCE, L.S.; MAZZORAN, L.; MASUTTI, F.; CRISTIANINI, G.; TIRIBELLI, C. – Clinical course and risk factors of hepatitis C virus related liver disease in the general population: report from the Dionysos study. *Gut*, **44(6)**: 874-880, 1999.
- BERG, T.; HOPF, U.; STARK, K.; BAUMGARTEN, R.; LOBECK, H.; SCHREIER, E. Distribution of hepatitis C virus genotypes in German patients with chronic hepatitis C : correlation with clinical and virological parameters. *Journal of Hepatology*, **26**: 484-491, 1997.
- BOOTH, J.C.L.; FOSTER, G.R.; LEVINE, T.; THOMAS, H.C.; GOLDIN, R.D. - The relationship of histology to genotype in chronic HCV infection. *Liver*, **17(3)**: 144-151, 1997.
- BRANCH, A.D. Hepatitis C virus RNA codes for proteins and replicates: does it also trigger the interferon response? *Seminars in Liver Disease*, **20(1)**: 57-68, 2000.
- BRANDÃO, A.; FUCHS, S.C.; COUTINHO, L.; CAROL, G.; ANJOS, M.; MAGALHÃES, R.; EMES, L.; WERBERICH, I.; LORENZ, K.; ARAÚJO, F. - Fatores de risco para infecção pelo vírus da hepatite C em doadores de sangue no sul do Brasil. *GED, (Suppl.)* **17**: S40, 1998. (Abstract)

- BRECHOT, C. - Hepatitis C virus : molecular biology and genetic variability. **Digestive Disease and Sciences**, **41(12)**: 6S-21S, 1996.
- BUKH, J. ; MILLER, R.H. ; PURCELL, R.H. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: Quasispecies and Genotypes. **Seminars in Liver Disease**, **15(1)**: 41-63, 1995.
- CACCIOLA, I.; POLLICINO, T.; SQUADRITO, G.; CERENZIA, G.; ORLANDO, M.E.; RAIMONDO, G. - Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. **New England Journal Medicin**, **341**: 22-26, 1999.
- CAMPIOTTO, S.; PINHO, J.R.R.; DA SILVA, L.C.; COELHO, H.S.M.; CARRILHO, F.J.; SUMITA, L.M.; GUZ, B.; SILVA, A.O.; BERNARDINI, A.P. - Distribuição dos genótipos do vírus da hepatite C na diferentes regiões do Brasil. Dados preliminares. **GED, (Suppl) 17**: S64, 1998.
- CARITHERS, R.L.; MARQUARDT, A.; GRETCH, D.R. - Diagnosis testing for hepatitis C. **Seminars in Liver Disease**, **20(2)**: 159-171, 2000.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. - Frequency of vaccine-related and therapeutic injections: Romania 1999. **MMWR Morb Mort Wkly Rep**, **48**: 271-274, 1999.
- CERNY, A.; CHISARI, F.V. - Pathogenesis of chronic hepatitis C: immunological features of hepatic injury and viral persistence. **Hepatology**, **30 (3)**: 595-601, 1999.
- CHEINQUER, H.; FONSECA, A.; LUNGE, V.; IKUTA, N.; CHEINQUER, N.; KRUG, L. - Genótipos do vírus da hepatite C em Porto Alegre, sul do Brasil. **GED, (Suppl) 17**: S40, 1998.
- CHOO, Q.L.; KUO, G.; WEINER, A.J.; OVERBY, L.R.; BRADLEY, D.W.; HOUGHTON, M. - Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne Non-A, Non-B viral hepatitis genome. **Science**, **244**:359-362,1989.
- CONOVER, W.J. - Pratical nonparametric statistics. New York: John Wiley & Sons, 1971.

- CONRY-CANTILENA, C.; VAN RADEN, M.; GIBBLE, J.; MELPODER, J.; SHAKIL, O.A.; VILADOMIU, L.; CHEUNG, L.; BISCEGLIE, A.D.; HOOFNAGLE, J.; SHIH, J.W.; KASLOW, R.; NESS, P.; ALTER, H.J. - Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. **The New England Journal of Medicine**, **334**: 1691-1696, 1996.
- DAVIS, G.L.; ALBRIGHT, J.E.; COOK, S.; ROSENBERG, M. - Projecting the future healthcare burden from Hepatitis C in the United States. **Hepatology**, **28 (Suppl 2)**: S909-S912, 1998. (Abstract)
- DESMET, V.J.; GERBER, M.; HOOFNAGLE, J.H.; MANNS, M.; SCHEUER, P.J. - Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. **Hepatology**, **19**: 1513-1520, 1994.
- DI BISCEGLIE, A.M.; HOOFNAGLE, J.H. - Chronic viral hepatitis. In : ZAKIM, D. & BOYER, T.D. ed. **Hepatology : a textbook of liver disease**. Philadelphia, Pennsylvania W.B. Saunders Company. 3rd ed. 1996, Vol. II; Cap. 43: 1299-1329.
- DI BISCEGLIE A.M. - Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **26(Suppl 1)**: S34-S38, 1997. (Abstract)
- DI BICEGLIE, A.M. Natural history of hepatitis C: its impact on clinical management. **Hepatology**, **31 (4)**: 1014-1018, 2000.
- DI MARCO, V.; IACONO, O.L.; CAMMÀ, C.; ALMASIO, P.L.; VACCARO, A.; FUSCHI, P.; GIUNTA, M.; FABIANO, C.; PAGLIARO, L.; CRAXI, A. - A randomized controlled trial of high-dose maintenance interferon therapy in chronic hepatitis C. **Journal of Medical Virology**, **51**: 17-24, 1997.
- DIENSTAG, J.L. - NonA,-nonB hepatitis. Recognition, epidemiology and clinical features. **Gastroenterology**, **85**: 439-462, 1983.

- DOORN, L.J.; KLETER, B.; STUYVER, L.; MAESTENS, G.; BROVWER, H.; SCHALM, S.; HEIGTINK, R.; QUINT, W. - Analysis of hepatitis C virus genotypes by a Line Probe Assay and correlation with antibody profiles. **Journal of Hepatology**, **21**: 122-129, 1994.
- EASL: INTERNATIONAL CONSENSUS CONFERENCE ON HEPATITIS C. CONSENSUS STATEMENT. **Journal of Hepatology**, **30**: 956-961, 1999.
- ESTEBAN, J.I.; LÓPEZ-TALAVERA, J.C.; GENESCÀ, J.; MADOZ, P.; VILADOMIU, L.; MUÑIZ, E.; MARTIN-VEJA, C.; ROSELL, M.; ALLENDE, H.; VIDAL, X.; GONZALEZ, A.; HENRNANDEZ, J.M.; ESTEBAN, R.; GUARDIA, J. - High rate of infectivity and liver disease in blood donors with antibodies to hepatitis C virus. **Annals of internal Medicine**, **115**: 443-449, 1991.
- FANG, J.W.S.; CHOW, V.; LAU, J.Y.N. - Virology of hepatitis C virus in : **clinics in liver disease**, **3**: 493-514, 1997.
- FARCI, P.; ALTER, H.J.; WONG, D.; MILLER, R.H.; SHIH, J.W.; JETT, B.; PURCELL, R.H. - A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. **The New England Journal of Medicine**, **325 (2)**: 98-104, 1991.
- FARCI, P. & PURCELL, R.H. - Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies. **Seminars in Liver Disease**, **20(1)**: 103-126, 2000.
- FATTOVICH, G.; GIUSTINA, G.; DEGOS, F.; TREMOLADA, F.; DIODATI, G.; ALMASIO, P.; NEVENS, F.; SOLINAS, A.; MURA, D.; BROUWER, J.T.; THOMAS, H.; NJAPOUM, C.; CASARIN, C.; BONETTI, P.; FUSCHI, P.; BASHO, J.; TOCCO, A.; BHALLA, A.; GALASSINI, R.; NOVENTA, F.; SCHALM, S.W.; REALDI, G. - Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C : a retrospective follow-up study of 384 patients. **Gastroenterology**, **112**: 463-472, 1997.

- FERNANDEZ, I.; CASTELLANO, G.; DOMINGO, M.J.; FUERTS, A.; COLINA, F.; CANGA, F.; DE LA CRUZ, F.J.; DELA CAMARA, A.G.; SOLIS, J.A. - Influence of viral genotype and level of viremia on the severity of liver injury and the response to interferon therapy in Spanish patients with chronic C infection. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, **32**: 70-76, 1997.
- FLEISS, J.L. - Statistical methods for rates and proportions. New York: John Wiley & Sons, 2^a ed., 1981.
- FRANCESCO, R.; NEDDERMANN, P.; TOMEI, L.; STEINKULER, C.; GALLINARI, P.; FOLGORI, A. - Biochemical and immunologic properties of the nonstructural proteins of the hepatitis C virus: implications for development of antiviral agents and vaccines. **Seminars in Liver Disease**, **20(1)**: 69-83, 2000.
- FRIED, M.W. - Clinical application of hepatitis C virus genotyping and quantitation. In : DAVIS, G.L. ed. **Clinics in Liver Disease**. Philadelphia: W.B. Saunders, 631-645, 1997.
- GAYOTTO & COMITÊ SBH/SBH. - Visão histórica e consenso nacional sobre a classificação das hepatites crônicas. **GED**, **19(3)**: 137-140, 2000.
- GIANNINI, C.; THIENS, V.; NOMBAUM, J.B.; STUYVER, L.; MAESTENS, G.; BRECHOT, C. - Comparative analysis of two assays for genotyping hepatitis C virus based on genotype specific primers or probes. **Journal of Hepatology**, **23**: 246-253, 1995.
- GINABREDA, M.G.P.; YOSHIDA, C.F.T.; NIEL, C. - Genomic characterization of Brazilian hepatitis C virus genotypes 1-a and 1-b. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **30**: 339-345, 1997.

- GONÇALES, N.S.L.; VASSALO, J.; COSTA, F.F.; GONÇALES JR, F.L. - Diagnosis of hepatitis C virus in brazilian blood donors using a reverse transcriptase nested polymerase chain reaction: Comparison with enzyme immunoassay and recombinant protein immunoblot assay. **Hepatology (Suppl 2), 28 (4):** S2121-S2124, 1998. (Abstract)
- GORDON, S.C.; BAYATI, N.; SILVERMAN, A.L. - Clinical outcome of hepatitis C as a function of mode of transmission. **Hepatology, 28(2):** 562-567, 1998.
- GRUPO DE ESTUDO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA.- Epidemiologia da Infecção pelo Vírus da Hepatite C no Brasil. **GED (Suppl 1), 18:** S3-S8, 1999.
- GUADAGNINO, V.; STROFFOLINI, T.; RAPICETTA, M.; CONSTANTINO, A.; KONDILI, L.A.; MENOTI-HIPOLITO, F.; CAROLEO, B.; COSTA, C.; GRIFFO, G.; LOIACONO, L.; PIZANI, V.; FOCA, A.; PIAZZA, M. - Prevalence, risk factors, and genotype distribution of hepatitis C virus infection in the general population: a community-based survey in the southern Italy. **Hepatology, 26:** 1006-1011, 1997.
- GUYADER, D.; MENDLER, M.H.; GESTIN, M.; ANDRÉ, P.; MARCEAU, G.; BRISSOT, P.; DEUGNIER, Y. - Risk factors of hepatitis C virus transmission in 249 patients with sporadic infection. A case control study. **Hepatology,(Suppl 2) 28 (4):** S1221-S1224, 1998. (Abstract)
- GUZ, B. - Hepatite crônica pelo vírus C em pacientes sintomáticos e assintomáticos: características epidemiológicas, clínicas, laboratoriais e anatomopatológicas.- São Paulo, 1998 (Tese – Doutorado – Hospital do Servidor Público Estadual, São Paulo).
- HOOFNAGLE, J.H. - Hepatitis C: The clinical spectrum of disease. **Hepatology, 26 (Suppl 1):** S15-S20, 1997. (Abstract)
- HOSMER, D.W. & LEMESHOW, S. - Applied logistic regression. John Wiley & Sons Inc. Nova Iorque, 1989.

- HOURIGAN, L.F.; MACDONALD, G.A.; PURDIE, D.; WHITEHALL, V.H.; SHORTHOUSE, C.; CLOUSTON, A.; POWELL, E.E. - Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. **Hepatology**, **23(4)**: 1215-1219, 1999.
- HU, K-Q. & TONG, M.J. - The long-term outcomes of patients with compensated hepatitis C virus-related cirrhosis and history of parenteral exposure in the United States. **Hepatology**, **29(4)**: 1311-1316, 1999.
- IDÉO, G.; BELLOBUONO, A.; TEMPINI, S.; BELLATI, G.; ROMANÒ, L.; ZANETTI, A.R. - Interferon treatment of chronic hepatitis C patients with normal or near normal alanine-amino-transferase levels: might it be harmful rather than useful? **International Hepatology Communications**, **6**: 8-15, 1996.
- KASI, S.; PRASAD, S.; POLLAK, R.; HOLZEER, T.; HEYNEN, C.; FABREGA, A.J.; PITRAK, D.; LAYDEN, T.J. - Hepatitis C infection in potential recipients with normal liver biochemistry does not preclude renal transplantation. **Digestive Diseases and Sciences**, **39(5)**: 961-964, 1994.
- KENNY-WALSH & IRISH HEPATOLOGY RESEARCH GROUP, clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. **N Engl J Med**, **340**: 1228-1233, 1999.
- KHAN, M.H.; FARREL, G.C.; BYTH, K.; LIN, R.; WELTMAN, M.; GEORGE, J.; SAMARASINGHE, D.; KENCH, J.; KABA, S.; CREWE, E.; LIDDLE, C. - Which patients with hepatitis C develop liver complications? **Hepatology**, **31 (2)**: 513-520, 2000.

- KIYOSAWA, K.; SODEYAMA, T.; TANAKA, E.; GIBO, Y.; YOSHIZAWA, K.; NAKANO, Y.; FURUTA, S.; AKAHANE, Y.; NISHIOKA, K.; PURCELL, R.H.; ALTER, H.J. - Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma; analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. **Hepatology**, **12**: 671-675, 1990.
- KODA, T.; YONAHARA, M.; HAYASHI, A.; ISHIKAWA, K. - Hepatitis C transmission between spouses. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, **11(11)**: 1001-1005, 1996.
- KOPSTEIN, J.; UGALDE, C.B.; FINI, A.M.C.; PROMPT, C.D. - Hemodiálise e hepatite a vírus B. **J. Bras. Nefrol.**, **6**: 9-11, 1984.
- KUO, G.; CHOO, Q-L.; ALTER, H.J.; GITNICK, G.L.; PURCELL, R.H.; MIYAMURA, T.; DIENSTAG, J.L.; ALTER, H.J.; STEVENS, C.E.; TEGTMEIER, G.E.; BONINO, F.; COLOMBO, M.; LEE, W-S; KUO, C.; BERGER, K.; SHUSTER, J.R.; OVERBY, L.R.; BRADLEY, D.W.; HOUGHTON, M. - An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. **Science**, **244**: 362-364, 1989.
- LAU, Y.N.J.; SIMMONDS, P.; URDEA, S.M. - Implications of variations of "conserved" regions of hepatitis C virus genome. **Lancet**, **346**: 425-426, 1995a.
- LAU, J.Y.N.; MIZOKAMI, M.; KOLBERG, J.Á.; DAVIS, G.L.; PRESCOTT, L.E.; OHNO, T.; PERILLO, R.H.; LINDSAY, K.I.; GISH, R.G.; QIAN, K-P.; KOHARA, M.; SIMMONDS, P.; URDEAS, M.S. Application of six hepatitis C virus genotyping systems to sero from chronic hepatitis C patients in the United States. **J. Infect. Dis.** **171**: 281-289, 1995b.

- LAU, J.Y.N.; DAVIS, G.L.; PRESCOTT, L.E.; MAERTENS, G.; LINDSAY, K.L.; QUIAN, K.P.; MIZOKAMI, M.; SIMMONDS, P. and the HEPATITIS INTERVENTIONAL THERAPY GROUP. Distribution of hepatitis C virus genotypes determined by line probe assay in patients with chronic hepatitis C seen tertiary referral centers in the United States. **Ann Intern Med** **124**: 868-876, 1996.
- LEMMON, S.M.; HONDA, M. - Internal ribosome entry sites within the RNA genomes of hepatitis C virus and other flaviviruses. **Semin. Virol**, **8**: 274-288, 1997.
- LIMA, J.P.; LIMA, J.C.P.; PETER, R. - Anticorpos séricos ao VHC : Análise dos fatores de risco da soropositividade , avaliação bioquímica e histológica do fígado numa população de doadores voluntários de sangue em Porto Alegre. **GED**, **14(5)**: 201-212, 1995 .
- LINDSAY, K.L.; DAVIS, G.L.; SCHIFF, E.R.; BODENHEIMER, H.C.; BALART, L.A.; DIENSTAG, J.L.; PERILO, R.P.; GOFF, J.S.; SILVA, M.; GOODMAN, C.; LAU, J.Y.; MAERTENS, G.; ALBRECHT, J.; HEPATITIS INTERNATIONAL THERAPY GROUP - Response to higher doses of interferon alfa-2b in patients with chronic hepatitis C: a randomized multicenter trial. **Hepatology**, **24**: 1034-1040, 1996.
- MAHANEY, K.; TEDESCHI, V.; MAERTENS, G.; VERGALLA, J.; HOOFNAGLE, J.H.; SALLIE, R. - Genotyping Analysis of Hepatitis C virus in American Patient. **Hepatology** **20(6)**: 1405-1411, 1994.
- MAIO, G.; ARGENIO, P.; STROFFOLINI, T.; BOZZA, A.; SACCO, L.; TOSTI, M.E.; INTORCIA, M.; FOSSI, E.; D'ALESSIO, G.; KONDILI, L.A.; RAPECETTA, M.; MELE, A. - Hepatitis C virus infection and alanine transaminase levels in the general population: a survey in a southern Italian town. **J Hepatol**, **33(1)**: 116-120, 2000.
- MANSELL, J.C. & LOCARNINI, A.S. - Epidemiology of hepatitis C in the East. **Seminars in Liver Disease**, **15(1)**: 15-32, 1995.

- MARTINOT-PEIGNOUX, M.; MARCELLIN, P.; POUTEAN, M. - Pretreatment serum hepatitis C virus RNA levels and hepatitis C virus genotype on the main and independent prognostic factors of maintained response to interferon alfa therapy in chronic hepatitis C. **Hepatology**, **22**: 1050-1056, 1995.
- MARTINOT-PEIGNOUX, M.; RODOUT-THORAVAL, F.; MENDEL, I.; COSTE, J.; IZOPET, J.; DUVERLIE, G.; PAYAN, C.; PAWLITSKY, J.M.; DEFER, C.; BOGARD, M.; GEROLAMI, V.; HALFON, P.; BUISSON, Y.; FOUQUERAY, B.; LOISEAU, P.; LAMORIL, J.; LEFRERE, J.J.; MARCELLIN, P.; THE GEMHEP. - Hepatitis C genotypes in France: relationship with epidemiology, pathogenicity and response to interferon therapy. **Journal of Viral Hepatitis**, **6(6)**: 435-443, 1999.
- MATSUMURA, H.; MORIYAMA, M.; GOTO, I.; OKUBO, H.; ARAKAWA, Y. - Natural course of progression of liver fibrosis in a Japanese patients with chronic liver disease type C: a study of 527 patients at one stablishment. **Journal of Viral Hepatitis**, **7(4)**: 268-275, 2000.
- MEDINA, M. & SCHIFF, E.R. - Hepatitis C: Diagnostic assays. **Seminars in Liver Disease**, **15(1)**: 33-40, 1995.
- MEISEL, H.; REIP, A.; FALTUS, B.; LU, M.; PORST, H.; WIESE, M. - Transmission of hepatitis C virus to children and husbands by women infected whit contaminated anti-D immunoglobulin. **Lancet**, **345**:1209-1211, 1995.
- MIZOKAMI, M.; GOJOBORI, T.; OHBA, K.; IKEO, K.; GE, X.M.; OHNO, T.; ORITO, E.; LAU, J.Y.N. - Hepatitis C virus types 7, 8 and 9 should be classified as type 6 subtypes. **Journal of Hepatology**, **24**: 662-624, 1996.
- MONDELLI, M. & SILINI, E. - Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. **Journal of Hepatology (Suppl)** **31(1)**: 65-70, 1999.

- MURPHY, E.L.; BRYZMAN, S.; WILLIAMS, A.E.; CO-CHIEN, H.; SCHREIBER, G.B.; OWNBY, H.E.; GILCHER, R.O.; KLEINMAN, S.H.; MATIJAS, L.; THOMSON, R.A.; NFEMO, G.J.; FOR THE REDS INVESTIGATORS. - Demographic determinants of hepatitis C virus: seroprevalence among blood donors. **JAMA** **275(13)**: 995-999, 1996.
- MURPHY, E.L.; BRYSMAN, S.M.; GLYNN, S.A.; AMETI, D.I.; THOMSON, R.A.; WILLIAMS, A.E.; NASS, C.C.; OWNBY, H.E.; SCHREIBER, G.B.; KONG, F.; NEAL, K.R.; NEMO, G.J. - Risk factors for hepatitis C virus infection in United States blood donors. **Hepatology**, **31(3)**: 756-762, 2000.
- NAGASAKA, A.; HIGE, S.; TSUNEMATSU, I.; YOSHIDA, J.; SASAKI, Y.; MATSUSHIMA, T.; ASAKA, M. - Changes in hepatitis C Virus Quasispecies and Density Populations in Patients Before and After Interferon Therapy. **Journal of Medical Virology**, **50(3)**: 214-220, 1996.
- NAGAYAMA, K.; KUROSAKI, M.; ENOMOTO, N.; MIYASAKA, Y.; MARUMO, F.; SATO, C. - Characteristics of hepatitis C viral genome associated with disease progression. **Hepatology**, **31(3)**: 745-750, 2000.
- NEUMAYR, G.; PROPST, A.; SCHWAIGHOFER, H.; JUDMAIER, G.; VOGEL, W. - Lack of evidence for the heterosexual transmission of hepatitis C. **Q J M**, **92(9)**: 505-508, 1999.
- NIEDERAU, C.; LANGE, S.; HEITGES, T.; ERHARDT, A.; BUSCHKAMP, M.; HÜRTER, D.; NAWROCKI, M.; KRUSKA, L.; HENSEL, F.; PETRY, W.; HÄUSSINGER, D. - Prognosis of chronic hepatitis C: results of a large, prospective cohort study. **Hepatology**, **28(6)**: 1687-1695, 1998.
- NOGUCHI, S.; SATA, M.; SUZUKI, H.; MIZOKAMI, M.; TANIKAWA, K. - Routes of transmission of hepatitis C virus in a epidemic rural area of Japan. Molecular epidemiologic study of hepatitis C virus infection. **Scand J Infect Dis**, **29**: 23-28, 1997.

- OKAMOTO, H.; OKADA, S.; SUGIYAMA, Y.; KURAI, K.; IIZUKA, H.; MACHIDA, A.; MIYAKAWA, Y.; MAYUMI, M. - Nucleotide sequence of the genomic RNA of hepatitis C virus isolated from a human carrier : comparison with reported isolates for conserved and divergent regions. **Journal of General Virology**, **72**: 2697-2704, 1991.
- OSTAPOWICZ, G. ; BELL, S.J. ; DESMOND, P.V.- Severity of liver disease in hepatitis C infection contracted through injecting drug use. **Aust N Z J Med**, **29(6)**: 776-781, 1999.
- PAWLOTSKY, J.M.; PRESCOTT, L.; SIMMONDS, P.; PELLET, C.; LAURENT-PUIG, P.; LABONNE, C.; BUFFET, C.; ETIENNE, J.P.; DHUMEAUX, D.; DUSSAIX, E. - Serological determination of hepatitis C virus genotype: comparison with a standardized genotyping assay. **J Clin Microbiol**, **35**: 1734-1739, 1997.
- PAWLOTSKY J.M. - Diagnostic tests for hepatitis C. **J Hepatol**, (**Suppl 1**) **31** : 71-79, 1999.
- PERSICO, M.; PERSICO, E.; SUOZZO, R.; CONTE, S.; DE SETA, M.; COPPOLA, L.; PALMENTIERI, B.; SASSO, F.C.; TORELLA, R. - Natural history of hepatitis C virus carriers with persistently normal aminotransferase levels. **Gastroenterology**, **118(4)**: 760-764, 2000.
- PETROSILLA, N.; PURO, V.; IPPOLITO, G.; AND ITALIAN STUDY GROUP ON BLOOD-BORN OCCUPATIONAL RISK IN DIALYSIS . - Prevalence of hepatitis C antibodies in health-care workers. **Lancet**, **343**: 1618-1620, 1994.
- PFAN, P.R.; RHO, R.; DE NAFRIO, D.; LOH, E.; BLUMBERG, E.A.; ACKER, M.A.; LUCEY, M.R. - Hepatitis C transmission and infection by orthotopic heart transplantation. **Journal Of Heart & Lung Transplantation**, **19(4)**: 350-354 , 2000.
- POWER, J.P.; DAVIDSON, F.; O'RIORDAN, J.; SIMMONDS, P.; YAP, P.L.; LAWOR, E. - Hepatitis C infection from anti-D immunoglobulin. **Lancet**, **346**: 372-373, 1995.

- POYNARD, T.; BEDOSSA, P.; OPOLON, P.; for the OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR and DOSVIRC GROUPS. - Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. **Lancet**, **349**: 825-832, 1997.
- POYNARD, T.; RATZIU, V.; BENMANOV, Y.; DIMARTINO, V.; BEDOSSA, P. OPOLON, P. - Fibrosis in the patients with chronic hepatitis C: detection and significance. **Seminars in Liver Disease**, **20 (1)**: 47-55, 2000a.
- POYNARD, T.; MCHUTCHISON, J.; DAVIS, G.L.; ESTEBAN-MUR, R.; GOODMAN, Z.; BEDOSSA, P.; AND ALBRECHT, J. FOR THE FIBROVIRC PROJECT GROUP. - Impact of interferon alfa-2b and ribavirin on progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. **Hepatology**, **32 (5)**: 1131-1137, 2000b.
- PRINCE, A.M.; BROTMAN, B.; GRADY, G.F.; KUHNS, W.J.; HAZZI, C.; LEVINE, R.W.; MILLIAN, S.J. - Long - incubation post - transfusion hepatitis whithout serological evidence of exposure to hepatitis B virus. **Lancet**, **2**: 241-246 1974.
- PURCELL, R. - The hepatitis C virus : Overview. **Hepatology**, **26(Suppl 1)** S11-S14, 1997.
(Abstract)
- RAMALHO, F.; COSTA, A.; PIRES, A.; CABRITA, P.; SEREJO, F.; PINTO, A.C.; FATELA, N.; CL'ORIA, H.; LOPES, J.; CORTEZ-PINTO, H.; MARINHO, R.; RAIMUNDO, M.; VELOSA, J.; BATISTA, A.; CARNEIRO DE MOURA, M. - Correlation of genotypes and route of transmission with histologic activity and disease stage in chronic hepatitis C. **Digestive Diseases and Sciences**, **45 (1)**: 182-187, 2000.
- REID, A.E. ; KOZIEL, M.J. ; AIZA, I. ; JEFFERS, L. ; REDDY, R. ; SCHIFF, E. ; LAU, J.Y. ; DIENSTAG, J.L. ; LIANG, T.J. 1999- Hepatitis C virus genotypes and viremia and hepatocellular carcinoma in the United States. **American Journal of Gastroenerology**, **94(6)**: 1619-1626, 1999.

- RODGER, A.J.; ROBERTS, S.; LANIGAN, A.; BOWDEN, S.; BROWN, T.; CROFTS, N. - Assessment of long-term outcomes of community-acquired hepatitis C infection in a cohort with sera stored from 1971 to 1975. **Hepatology**, **32(3)**: 582-587, 2000.
- SALMERÓN, F.J.; PALACIOS, A.; PÉRES-RUIZ, M.; TORRES, C.; OYONARTE, S.; FERNÁNDEZ-MONTOYA, A.; RUIZ-EXTREMERA, A. - Epidemiology, serological markers, and hepatic disease of anti-HCV ELISA-2-positive blood donors. **Digestive Diseases and Sciences**, **41**: 1933-1938, 1996.
- SARACCO, G.; SOSTEGNI, R.; GHISETTI, V.; ROCCA, G.; CARITI, G.; ANDREONI, M.; TABONE, M.; ROFFI, L.; CALLERI, G.; BALLARÉ, M.; MINOLI, G.; SARTORI, M.; TAPPERO, G.; TRAVERSO, A.; POGGIO, A.; ORANI, A.; MAGGI, G.; RIZZETTO, M.; THE NORTH WEST ITALIAN HEPATOLOGIC GROUP. - Hepatitis C virus genotypes in a non-cirrhotic Italian population with chronic hepatitis C: correlation with clinical, virological and histological parameters. Results of a prospective multicentre study. **Journal of Viral Hepatitis**, **7(2)**: 124-129, 2000.
- SCHIFF, E.R.; MEDINA, M.; KAHN, R.S. - New perspectives in the diagnosis of hepatitis C. **Seminars in Liver Disease**, **19(1)**: 3-15, 1999.
- SCHWIMMER, J.B. & BALISTRERI, W.F. - Transmission, natural history, and treatment of hepatitis C virus infection in the pediatric population. **Seminars in Liver Disease**, **20(1)**: 37-46, 2000.
- SEEFF, L.B. - Natural history of hepatitis C. **Hepatology**, **26 (Suppl 1)**: S21-S28, 1997.
(Abstract)
- SERFATY, L.; AUMAITRE, H.; CHAZOULLERES, O.; BONAND, A-M.; ROSMORDUC O.; POUPON, R.E.; POUPON, R. - Determinants of outcome of compensated hepatitis C virus-related cirrhosis: **Hepatology**, **27**: 1435-1440, 1998.

- SHERLOCK, S. - Hepatitis C virus : a historical perspective. **Digestive Diseases and Sciences (Suppl.)** **41** (12): 3S-5S, 1996. (Abstract)
- SHINDO, M.; HAMADA, K.; KOYA, S.; ARAI, K.; SOKAWA, Y.; OKUNO, T. - The clinical significance of changes in genetic heterogeneity of the Hypervariable Region 1 in chronic hepatitis C with interferon therapy. **Hepatology**, **24**: 1018-1023, 1996.
- SIEGEL, S. - Estatística não paramétrica para as ciências do comportamento. São Paulo: Mc Graw Hill, 1975.
- SILINI, E.; BONO, F.; CIVIDINI, A.; CERINO, A.; MACCABRUNI, A.; TINELLI, C.; BRUNO, A.; BELLOBUONO, A.; MONDELLI, M.U. - Molecular epidemiology of hepatitis C virus infection among intravenous drug users. **J Hepatol**, **22**: 691-695, 1995.
- SILVA, L.K.; PARANA, R.; SOUZA, S.P.; BERBY, F.; KAY, A.; TREPO, C.; SANTANA, N.; COTRIM, H.; LYRA, L.G.; REIS, M.G. - Hepatitis C virus genotypes in a northeastern area of Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, **62(2)**: 257-260, 2000.
- SIMMONDS, P.; HOLMES, E.C.; CHA, T.A. - Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. **J Gen Virol**, **74**: 2391-2399, 1993.

- SIMMONDS, P.; ALBERTI, A.; ALTER, H.J.; BONINO, F.; BRADLEY, D.W.; BRECHOT, C.; BROUWER, J.T.; CHAN, S.W.; CHAYAMA, K.; CHEN, D.S.; CHOO, Q-L.; COLOMBO, M.; CUYPERS, T.M.; DATE, T.; DUSHEIKO, G.M.; ESTEBAN, J.I.; FAY, O.; HADZIYANNIS S.J.; HAN, J.; HATZAKS, A.; HOLMES, E.C.; HOTTA, H.; HOUGHTON, M.; IRVINE, B.; KOHARA, M.; KOLBERG, J.A.; KUO, G.; LAU, J.Y.N.; LELIE, N.; MAERTENS, G.; MC OMISHI, F.; MIYAMURA, T.; MIZOKAMI, M.; NOMOTO, A.; PRINCE, A.M.; REESINK, H.W.; RICE, C.; ROGGENDORF, M.; SCHALM, S.W.; SHIKATA, T.; SHIMOTOHNO, K.; STUYVER, L.; TRÉPO, C.; WEINER, A.; YAP, P.L.; URDEA, M.S. - A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. **Hepatology**, **19**: 1321-1324, 1994.
- SIMMONDS, P. - Variability of Hepatitis C Virus. **Hepatology**, **21(2)**: 570-583, 1995.
- SIMMONDS, P. - Viral heterogeneity of the hepatitis C virus. **Journal Of Hepatology (Suppl)**, **31(1)**: 54-60, 1999.
- SITIA, G.; MORSICA, G.; CELLA, D.; BERNARDI, M.T.; FOPPA, C.U.; BOERI, E.; DE BONA, A.; NOVATI, R.; LAZZARIN, A. - Vertical transmission of hepatitis C virus : Evidence of in utero infection. **Hepatology, (Suppl 2) 28(4)**: S1221-S1224, 1998. (Abstract)
- SMITH, B.C.; GROVE, J.; GUZAIL M.A.; DAY, C.P.; DOLY, A.K.; BURT, A.D.; BASSENDINE, M.E. - Heterozygosity for hereditary hemochromatosis is associated with more fibrosis in chronic hepatitis C. **Hepatology**, **27**: 1695-1699, 1998.
- SOARES, E.C. & GUZ, B. - Hepatite crônica C em portadores assintomáticos: o dilema de tratar ou não tratar. **GED**, **13(4)**: 139-140, 1994. (editorial)
- SPIEGEL, R.M. in : **Estatística/ Murray Spiegel**; tradução, revisão e adaptação Carlos A Crusius. 2ª ed.- São Paulo : Mc Graw-Hill do Brasil, 1985; Caps 12,14: 249-271 ; 298-334.

- STUYVER, L.; WYSENS, A.; HERNANDEZ, F.; GEERT, M. - Second generation Line Probe Assay for hepatitis C virus genotyping. **Journal of Clinical Microbiology**, **9**: 2259-2266, 1996.
- TANAKA, T.; KOHARA-TSUKIYAMA, K.; YAMAGUCHI, K.; YAGI, S.; TANAKA, S.; HASEGAWA, A.; OHTA, Y.; HATTORI, N.; KOHARA, M. - Significance of specific antibody assay for genotyping of hepatitis C virus. **Hepatology**, **19**: 1347-1353, 1994.
- TASSOPOULOS, N.C. - Patterns of progression : Unpredictability and risk of decompensated cirrhosis. **Digestive Diseases and Sciences (Supp.)** **41**: 41S-48S, 1996.
- TESI, R.J.; WALLER, K.; MORGAN, C.J.; DELANEY, S.; ELKHAMMAS, E.A.; HENRY, M.L.; FERGUSON, R.M. - Transmission of hepatitis C by kidney transplantation: the risks. **Transplantation**, **57(6)**: 826-831, 1994.
- THIO, C.L.; THOMAS, D.L.; CARRINGTON, M. - Chronic viral hepatitis and the human genome. **Hepatology**, **31(4)**: 819-827, 2000.
- THOMAZ, D.L. - Hepatitis C epidemiology, injecting new tools in the field. **Hepatology**, **31(3)**: 790-791, 2000. (editorial)
- THUNG, S.N.; SHIM, K.S.; SHIH, Y.S.; SCHWARTZ, M.; THEISE, N.; BORCICH, A.; KATZ, E.; MILLER, C.; GERBER, M.A. - Hepatitis C in liver allografts. **Archives Of Pathology & Laboratory Medicine**, **117(2)**: 145-149, 1993.
- TONG, M.J.; EL-FARRA, N.; REIKES, A.R.; CO, R.L. - Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. - **N Engl J Med**, **332**: 1463-1466, 1995.
- TSUBOTA, A.; KUMADA, H.; CHAYAMA, K.; ARASE, Y.; SAITOH, S.; KOIDA, I.; SUZUKI, Y.; KOBAYASHI, M.; TAKAGI, K.; IKEDA, K. - Relationship between pretreatment viremia level and response to interferon-alpha therapy in chronic hepatitis C differs in viral type 1 and 2 infections. **Digestive Diseases and Sciences**, **41**: 1925-1932, 1996.

- VANDERBORGHT, B.O.M.; REIS, A.M.M.; ROUZERE, C.D.; SALGADO DA SILVA, R.; YOSHIDA, C.F.T.; FRANCO, L.P.G.; MAESTENS, G.; VON HENVERSWIGN, H.; MOREIRA PEREIRA, J. - Prevalence of anti-hepatitis C virus in the Blood donor population of Rio de Janeiro. **Vox Sang.**, **65**: 122-5, 1993.
- WALI, M.; LEWIS, S.; HUBSCHER, S.; HARISSON, R.; AHMED, M.; ELIAS, E.; MUTIMER, D. - Histological progression during short-term follow-up of patients with chronic hepatitis C virus infection. **Journal of Viral Hepatitis**, **6(6)**: 445-452, 1999.
- WASLEY, A.M. & ALTER, M.J. - Epidemiology of hepatitis C : geographic differences and temporal trends. **Seminars in Liver Disease**, **20(1)**: 1-16, 2000.
- WEJSTAL, R. - Sexual transmission of hepatitis C virus. **Journal of Hepatology**, (Suppl 1) **31**: 92-95, 1999.
- WILLIAMS, I.T.; SABIN, K.; FLEENOR, M.; JUDSON, F.; MOTTRAM, K.; POUGADE, J.; RYDER, P.; WIRE, F.; ALTER, M.J. - Current patterns of hepatitis C virus transmission in the United States : The role of drugs and Sex. **Hepatology**,(Suppl 2) **28(4)**: S1337-S1340, 1998. (Abstract)
- ZEIN, N.N.; RAKELA, J.; KRAWITT, E.L.; REDDY, K.R.; TOMINAGA, T.; PERSING, D.H. - Hepatitis C virus genotypes in the United States : Epidemiology, pathogenicity, and response to interferon therapy. **Annals of Internal Medicine**, **125**: 634-639, 1996a.
- ZEIN, N.N.; POTERUDA, J.J.; GROES, J.B.; WIESNER, H.R.; THERNEON, T.; GOSSARD, A.A.; WENDT, N.K.; MITCHELL, S.P.; PERSING, D.H. - Increased risk of hepatocellular carcinoma in patients infected with hepatitis C genotype 1b. **The American Journal of Gastroenterology**, **91(12)**: 2560-2562, 1996b.

ZYLBERBERG, H.; POL, S.; THIERS, V.; CHAIX, M.L.; LAGORCE, D.B.; BRÉCHOT, C.; NALPAS, B.; BERTHELOT, P. - Significance of repeatedly normal aminotransferase activities in HCV-infected patients. **Journal of Clinical Gastroenterology**, **29(1)**: 71-75, 1999a.

ZYLBERBERG, H.; THIERS, V.; LAGORCE, D.; SQUADRITO, G.; LEONE, F.; BERTHELOT, P.; BRECHOT, C.; POL, S. - Epidemiological and virological analysis of couples infected with hepatitis C virus. **Gut**, **45(1)**: 112-116, 1999b.

9. ANEXOS

Anexo 1 – Banco de dados com as variáveis pesquisadas

Nº	Idade	Sexo	Est. Civil	nº Doações <93	ADIn meses	ADIn início/anos	ADI meses	ADI início/anos	Tatuagem	Transfusão <93	Trs.Temp/anos
1	23	1	1	0	24	4	0	0	0	0	0
5	37	1	1	0	0	0	72	11	10	0	0
6	36	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
10	41	1	3	0	0	0	0	0	0	1	30
12	48	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
13	29	1	1	0	120	10	0	0	10	0	0
15	28	1	2	0	144	12	144	12	15	0	0
16	38	1	1	0	1	6	1	12	0	0	0
17	32	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
19	38	1	2	-1	0	0	0	0	0	1	25
21	41	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
22	41	1	1	-1	0	0	0	0	0	0	0
24	22	2	3	0	0	0	0	0	0	1	11
26	34	1	2	5	98	8	98	8	0	0	0
27	44	1	3	-1	24	9	24	9	0	0	0
32	29	1	2	7	36	6	0	0	0	0	0
33	36	1	1	0	12	15	12	10	0	0	0
34	51	1	1	-1	24	10	0	0	0	-1	-1
35	38	1	2	0	24	20	0	0	0	0	0
37	39	2	3	0	72	10	0	0	7	0	0
39	32	1	1	7	0	0	0	0	0	0	0
40	38	1	1	0	0	0	0	0	20	0	0
41	39	1	3	0	180	18	0	0	0	0	0
42	34	1	2	0	0	0	48	13	0	0	0
43	34	1	1	0	12	5	0	0	0	0	0
45	37	2	1	0	0	0	0	0	0	1	16
46	36	1	1	1	0	0	0	0	20	0	0
47	36	1	3	1	0	0	0	0	0	1	30
48	36	1	1	0	180	20	180	20	0	0	0
49	47	1	1	8	36	33	36	33	0	0	0
50	44	1	1	-1	0	0	0	0	0	0	0
52	35	1	2	-1	12	20	0	0	0	0	0
53	38	1	1	-1	0	0	0	0	0	0	0
54	27	1	1	-1	24	7	24	7	7	0	0
55	33	1	1	8	24	15	0	0	0	0	0
56	36	2	1	1	0	0	0	0	0	1	35
57	34	1	1	8	62	15	62	15	0	0	0
58	41	1	2	0	12	10	0	0	0	0	0
59	37	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
60	48	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
61	41	1	1	8	0	0	0	0	0	0	0
62	38	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
63	34	1	2	8	180	15	180	15	15	-1	-1
65	34	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
66	28	1	1	0	0	0	0	0	10	1	15
67	34	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
68	31	1	2	8	24	12	0	0	0	0	0
69	39	1	1	5	1	1	0	0	0	0	0
70	48	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
71	44	1	1	8	24	10	0	0	20	0	0

Anexo 1 – Banco de dados com as variáveis pesquisadas (continuação)

Nº	Idade	Sexo	Est. Civil	nº Doações <93	ADIn meses	ADIn início/anos	ADI meses	ADI início/anos	Tatuagem	Transfusão <93	Trs.Temp/anos
72	32	1	2	0	132	11	60	10	0	0	0
73	32	1	2	1	2	3	0	0	15	0	0
75	21	1	1	1	24	6	24	6	8	0	0
77	46	1	1	8	0	0	0	0	0	0	0
78	23	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
79	48	1	1	0	48	24	48	24	0	0	0
80	40	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
81	38	2	1	0	24	18	24	18	0	1	7
82	41	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0
84	32	1	1	8	24	10	24	10	0	0	0
87	39	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
88	28	1	2	0	24	8	24	8	8	0	0
89	47	1	1	0	1	2	0	0	20	0	0
90	37	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
91	56	2	1	0	0	0	0	0	0	5	25
92	45	1	1	0	0	0	0	0	20	0	0
93	28	1	2	8	24	6	0	0	0	0	0
95	36	2	3	0	0	0	0	0	0	1	16
101	38	1	1	8	0	0	0	0	0	1	17
103	38	1	1	8	120	23	120	23	20	0	0
105	39	1	1	0	24	8	0	0	0	0	0
106	28	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
107	40	1	1	8	0	0	0	0	0	0	0
109	36	1	1	8	180	22	180	22	20	0	0
111	31	1	1	0	60	15	60	15	10	0	0
150	56	2	3	0	0	0	0	0	0	1	25
153	47	1	1	8	0	0	0	0	0	0	0
154	46	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
155	29	1	1	0	24	10	2	10	0	0	0
157	45	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0
158	51	2	3	0	0	0	0	0	0	1	20
161	39	1	1	0	0	0	48	20	0	0	0
162	44	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0
165	44	1	1	8	12	22	0	0	0	0	0
167	41	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0
169	43	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
29	20	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
30	34	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
173	42	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0

Anexo 1 – Banco de dados com as variáveis pesquisadas (continuação)

Nº	Homossexual	Promiscuidade	Prof. Saúde	Ant. Hepatite	Contato Fam.	Gluco/ Meses	Gluco/Inic./ anos	DST
1	0	0	0	0	0	0	0	0
5	1	1	0	0	0	0	0	-1
6	0	1	0	0	0	24	14	1
10	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	24	20	0
13	0	1	0	0	0	0	0	-1
15	1	1	0	0	0	0	0	1
16	1	1	0	0	0	6	12	1
17	0	0	0	0	0	48	17	0
19	0	0	0	0	0	0	0	-1
21	0	0	0	0	0	24	15	0
22	0	0	1	0	2	24	20	-1
24	0	0	0	-1	0	0	0	0
26	0	0	0	10	0	1	15	0
27	1	1	0	-1	0	-1	-1	-1
32	0	1	0	0	0	0	0	0
33	1	1	0	0	0	-1	-1	-1
34	0	0	0	0	0	12	10	0
35	1	1	1	0	0	0	0	0
37	0	1	1	0	0	-1	-1	-1
39	0	0	0	0	0	0	0	1
40	0	0	0	0	0	12	20	0
41	0	0	0	0	0	12	10	0
42	0	1	0	13	0	0	0	0
43	0	1	0	0	0	12	15	1
45	0	0	0	0	0	0	0	0
46	0	0	0	0	0	24	20	0
47	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	1	0	0	2	24	10	1
49	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	1	0	0	0	24	15	-1
52	0	0	0	18	0	12	20	-1
53	0	0	0	0	0	24	20	-1
54	0	1	0	0	0	-1	-1	-1
55	1	1	0	0	2	24	15	-1
56	0	0	0	0	1	0	0	0
57	0	0	0	0	1	24	15	0
58	0	1	0	0	0	12	10	-1
59	1	0	0	0	0	12	15	-1
60	0	0	0	0	0	12	15	-1
61	0	0	0	0	0	12	15	-1
62	0	0	0	0	0	12	20	-1
63	1	1	0	0	0	24	15	-1
65	0	0	0	0	0	12	15	0
66	0	0	0	20	0	0	0	0
67	0	0	0	0	2	12	-1	0
68	0	1	0	0	0	0	0	0
69	0	1	0	0	0	0	0	0
70	0	0	0	0	0	0	0	0
71	1	0	0	0	2	12	20	0
72	1	1	0	11	0	6	10	0

Anexo 1 – Banco de dados com as variáveis pesquisadas (continuação)

Nº	Homossexual	Promiscuidade	Prof. Saúde	Ant. Hepatite	Contato Fam.	Gluco/ Meses	Gluco/Inic./ anos	DST
73	0	0	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0
77	0	0	0	0	1	0	0	0
78	0	0	0	0	0	0	0	0
79	1	1	0	0	1	0	0	1
80	0	0	1	0	1	0	0	0
81	0	0	0	0	1	0	0	0
82	0	0	0	0	0	12	18	0
84	0	1	1	0	0	0	0	1
87	0	0	0	0	0	36	17	0
88	0	0	0	0	0	0	0	1
89	0	0	1	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	12	20	0
91	0	0	0	0	0	0	0	0
92	0	1	0	0	0	0	0	1
93	0	0	0	0	0	0	0	0
95	0	0	0	0	0	0	0	0
101	0	0	0	0	0	12	15	1
103	0	1	0	27	0	24	18	1
105	0	1	0	13	0	24	20	1
106	0	0	0	16	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	24	20	0
109	0	1	0	0	0	12	16	1
111	1	1	0	13	0	0	0	1
150	0	0	0	0	0	0	0	0
153	0	0	1	0	0	120	23	0
154	0	0	0	0	0	0	0	0
155	0	0	0	0	0	0	0	0
157	0	0	0	0	0	0	0	0
158	0	0	0	0	0	0	0	0
161	0	0	0	0	0	0	0	0
162	0	0	0	0	0	6	20	0
165	0	1	0	0	0	24	20	1
167	0	0	0	0	1	0	0	0
169	0	1	0	0	0	24	23	0
29	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0
173	0	0	0	0	0	36	18	0

Anexo 1 – Banco de dados com as variáveis pesquisadas (continuação)

Nº	Alcool/ Dose	Anti HBc	TGO1 class	TGP1 class	GGT class	Bx Clas. Est.	BX clas. CP	BX clas. CPP	BX clas. CL	Tempo infeç (anos)	Genotipo
1	3	2	2,5	8,1	1,5	1	2	2	1	4	1a
5	3	2	1	1,27	2,85	2	2	1	1	10	1a
6	3	2	3,6	4,39	3,78	1	1	1	1	14	1b
10	3	2	1,34	1,55	3,2	2	2	2	1	30	3a
12	3	2	2,35	4,1	0,96	4	3	3	3	20	3a
13	2	2	1,1	2,5	0,67	-1	-1	-1	-1	10	3a
15	3	2	0,55	1,16	1,46	1	1	0	0	15	1a
16	2	-1	0,8	0,9	1,1	1	1	1	1	12	3a
17	3	2	0,8	1,65	3,1	1	3	2	1	17	1a
19	-1	2	0,8	0,7	0,6	1	1	0	0	25	1b
21	1	2	0,95	1,7	0,7	3	2	2	2	15	1b
22	3	2	1,95	2,6	1,3	1	1	0	0	20	3a
24	0	2	2,4	4	0,6	1	1	1	2	11	1a
26	1	2	0,6	0,6	0,4	1	2	1	1	15	1a
27	3	2	1,2	1,75	0,5	3	3	3	2	9	3a
32	1	2	4,7	2,9	2,2	1	1	1	3	6	3a
33	1	2	1,1	2,6	1,9	1	2	2	3	15	1b
34	3	2	1,05	2,16	1,78	2	2	2	1	10	1a / 3a
35	0	2	0,6	1,05	0,46	1	1	0	2	20	3a
37	3	2	1,2	2,1	0,7	1	1	1	1	10	1b
39	1	2	1,05	1,4	0,9	1	1	1	2	6	3a
40	3	2	1,37	2,1	1,2	1	2	2	0	20	1a / 1b
41	3	2	6,45	7,1	13,9	3	2	2	3	15	1b
42	3	-1	1,85	4	1,14	2	3	2	3	14	3a
43	0	2	0,6	0,38	0,46	1	2	1	2	15	3a
45	0	2	1	2,6	0,6	1	1	1	2	16	3a
46	1	2	0,5	1,16	0,75	1	1	0	1	20	1b
47	1	2	1	2,7	0,8	1	2	1	1	30	1a / 3a
48	3	1	0,45	0,7	1,01	1	0	0	0	20	3a
49	1	2	3,15	6,6	1,2	4	2	2	2	34	3a
50	-1	1	1,4	3,5	0,8	-1	-1	-1	-1	15	3a
52	3	2	1,7	4,5	2,6	1	2	2	2	20	1a
53	3	2	1,35	3,6	1,5	-1	-1	-1	-1	20	3a
54	3	2	1,7	0,8	0,5	-1	-1	-1	-1	7	1a / 3a
55	3	2	5,3	7,9	1,07	-1	-1	-1	-1	15	1a / 3a
56	1	2	2	8,1	1,16	1	2	1	2	35	1b
57	3	2	0,8	1,9	3,1	1	1	1	2	15	3a
58	1	2	1	2,3	0,5	1	1	1	1	10	1b
59	3	2	-1	-1	-1	1	1	0	0	15	3a
60	-1	2	1,8	1,7	-1	-1	-1	-1	-1	15	1b
61	1	2	3,75	12,8	1,8	3	3	3	2	15	1b
62	1	2	1,7	3,9	0,39	0	1	0	1	18	3a
63	3	2	0,7	1	0,4	0	1	0	0	15	1b
65	2	2	0,9	2,25	4,4	2	2	2	1	15	3a
66	1	2	0,8	1,3	0,75	2	1	1	1	15	1a
67	1	2	1,1	3,3	0,9	1	1	1	3	-1	3a
68	3	-1	1,2	-1	2	1	2	2	0	12	1a
69	2	2	0,9	1,4	1,35	1	1	0	0	1	3a
70	0	2	0,5	1,2	0,5	1	2	1	1	20	2a / 2c
71	3	2	0,4	2	0,7	2	2	1	0	20	3a

Anexo 1 – Banco de dados com as variáveis pesquisadas (continuação)

Nº	Alcool/ Dose	Anti HBc	TGO1 class	TGP1 class	GGT class	Bx Clas. Est.	BX clas. CP	BX clas. CPP	BX clas. CL	Tempo infeç (anos)	Genotipo
72	3	1	1,4	3,7	-1	1	1	0	0	10	1a
73	3	2	7,6	4,8	2,8	-1	-1	-1	-1	15	3a
75	1	2	1,2	2,5	0,75	1	1	0	0	8	1a / 3a
77	0	2	1,6	2,6	0,6	2	3	2	1	20	2a / 2c
78	1	2	0,85	2,1	0,9	1	1	0	0	-1	1b
79	2	2	0,5	1,16	0,5	2	3	2	1	24	2b
80	1	2	1,15	2,16	0,5	2	2	2	1	-1	2b
81	3	2	0,6	0,5	0,15	0	1	1	0	18	3a
82	1	2	0,7	1,2	0,4	2	2	1	1	24	3a
84	0	1	0,65	1,8	0,3	2	3	1	1	9	1a
87	1	2	1,95	5,4	1,1	3	4	2	1	17	1a
88	1	2	1,65	5	7	-1	-1	-1	-1	8	1a
89	3	2	1,85	0,8	2,5	4	3	3	3	20	3a
90	3	2	7,5	5,5	1,07	-1	-1	-1	-1	20	3a
91	0	2	1	1,3	0,6	3	3	3	2	25	3a
92	3	2	1,25	2	2,5	1	2	2	1	20	1b
93	3	2	7,2	5,2	2,6	2	2	2	2	6	3a
95	0	2	0,5	0,44	0,5	1	3	1	1	16	3a
101	2	2	1,35	3,38	0,6	1	1	0	0	18	1a / 2b
103	2	2	3,8	8,8	0,75	-1	-1	-1	-1	23	2b / 3a
105	2	2	1,05	2,27	0,6	1	2	1	1	8	1a
106	0	2	1,1	2,8	1,2	1	2	0	0	-1	1a
107	3	2	0,8	1,4	0,7	1	2	1	0	20	1b
109	3	2	4,45	12,5	1	1	1	1	1	22	3a
111	3	2	1,75	4	-1	1	1	1	1	15	1a
150	0	2	2,05	5,1	1,8	2	2	1	1	25	1b
153	3	1	3,2	3,5	3,4	4	4	3	3	22	1a
154	0	2	2,1	3,7	1,3	1	2	2	2	25	3a
155	3	2	2,6	10,1	5,9	4	2	3	3	10	1a
157	0	2	1,75	6	0,5	-1	-1	-1	-1	37	1b
158	0	2	5,3	5,1	1,2	4	3	2	2	20	1a
161	-1	-1	-1	-1	-1	4	1	2	1	20	3a
162	1	2	0,45	0,8	0,28	1	1	0	0	20	3a
165	3	2	4,75	9,6	3	3	3	3	3	22	1a
167	0	2	0,7	1,4	0,3	0	1	1	0	-1	1a / 1b
169	3	1	3,7	8,6	11,4	3	3	3	3	23	3a
29	0	2	0,5	0,4	-1	0	0	0	0	-1	1a / 3a
30	0	2	0,7	1	0,8	1	2	2	1	-1	1b
173	2	2	0,6	1,05	0,3	1	2	1	1	18	2b

Legenda:

Nº: número do doador; sexo: (1) masculino; (2) feminino; Estado Civil: (1) casado; (2) solteiro; (3) outro; UDIn meses: número de meses em que usou a droga inalatória; UDIn anos: número de anos se iniciou o uso da droga inalatória; UDI e Gluconergan fizemos a mesma legenda; Tatuagem: há quanto tempo em anos foi realizada a tatuagem; Transfusão: (0) sem história; (1) transfusão; Homossexualismo, Promiscuidade e Profissional Saúde: (0) negativo; (1) positivo; Antecedente de hepatite: (0) negativo; positivo com número em anos da história de hepatite; Álcool dose: (0) negativo; (1) menor 40 g/dia; (2) de 40 a 80 g/dia; (3) maior que 80 g/dia; Anti-HBc: (1) positivo; (2) negativo; TGO1 class e Gama-GT class: número de vezes em que o resultado se encontra do LSN; Biópsia E, CP, CPP e CL: estadiamento e atividade necro-inflamatória de acordo com GAYOTTO et al., 2000; -1: sem informação.

Anexo 2 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto aos diversos fatores de risco.

Número	UDI _n	UDI	GLUCO	TRANS	TATUA	PROMI
1	Red					
5		Black		Purple	Yellow	Blue
6			Green			Blue
10				Purple		
12			Green			
13	Red			Purple		Blue
15	Red	Black		Purple		Blue
16	Red	Black	Green		Yellow	Blue
17	Red	Black	Green			
19				Purple		
21			Green			
22			Green			
24				Purple		
26	Red	Black	Green			
27	Red	Black				Blue
32	Red					Blue
33	Red	Black				Blue
34	Red		Green			
35	Red					Blue
37	Red				Yellow	Blue
39						
40			Green			
41	Red		Green		Yellow	
42	Red	Black				Blue
43	Red		Green			Blue
45				Purple		
46			Green		Yellow	
47				Purple		
48	Red	Black	Green			Blue
49	Red	Black				
50			Green			Blue
52	Red		Green			
53			Green			
54	Red	Black			Yellow	Blue
55	Red		Green			Blue
56				Purple		
57	Red	Black	Green			
58	Red		Green			Blue
59			Green			
60			Green			
61			Green			
62			Green			
63	Red	Black	Green		Yellow	Blue
65			Green			
66				Purple	Yellow	
67			Green			
68	Red					Blue
69	Red					Blue
70						

Número	UDIn	UDI	GLUCO	TRANS	TATUA	PROMI
71	Red		Green		Yellow	
72	Red	Black	Green			Blue
73	Red				Yellow	
75	Red	Black			Yellow	
77						
78						
79	Red	Black				Blue
80						
81	Red	Black		Purple		
82			Green			
84	Red	Black				Blue
87			Green			
88	Red	Black			Yellow	
89	Red				Yellow	
90			Green			
91				Purple		
92					Yellow	Blue
93	Red					
95				Purple		
101			Green	Purple		
103	Red	Black	Green		Yellow	Blue
105	Red		Green			Blue
106						
107			Green			
109	Red	Black	Green		Yellow	Blue
111	Red	Black			Yellow	Blue
150				Purple		
153			Green			
154						
155	Red	Black				
157						
158				Purple		
161		Black				
162			Green			
165	Red		Green			Blue
167						
169			Green			Blue
29						
30						
173			Green			

Anexo 3 – Representação gráfica da distribuição dos pacientes quanto ao número de fatores de risco e incidência da promiscuidade sexual.

