

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA HEPATITE C EM PACIENTES
HEMODIALISADOS DE UMA UNIDADE DE DIÁLISE DE RECIFE/PE.**

ANA CECÍLIA CAVALCANTI DE ALBUQUERQUE

RECIFE
2003

ANA CECÍLIA CAVALCANTI DE ALBUQUERQUE

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA HEPATITE C EM
PACIENTES HEMODIALISADOS DE UMA UNIDADE DE DIÁLISE DE
RECIFE/PE.**

Dissertação apresentada ao colegiado do Mestrado em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Co-orientadora: Dr^a. Regina Célia Moreira

RECIFE

2003

“Cada um dos nossos pensamentos não é mais do que um instante em nossas vidas. De que serviria a vida se não fosse para corrigir os erros, vencer nossos preconceitos e, a cada dia, alargar nosso coração e nossos pensamentos?”

Nós utilizamos cada dia para alcançar um pouco mais de verdade.

Quando chegarmos ao fim, vocês dirão então, o que é que é que valeu nossa pena.

Romain Rolland – Jean Christophe

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

Antonio Faustino e Nereuda Gomes pelo amor, incentivo, paciência, preocupação, sabedoria,...É uma dádiva de Deus ser fruto desses seres humanos que estão sempre torcendo pelo meu desempenho e sucesso. Meu eterno agradecimento.

À minha filha Beatriz e ao meu marido Edson Sena pela paciência, gratidão, amor, carinho, força e por terem tornado à minha vida mais doce, serena e simplesmente maravilhosa.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, pelo ar, pelo sol, pelas pessoas, pelas oportunidades,...

Aos meus Irmãos Cynthia, Marco Antonio, Antonio Henrique e Rafael pelo incentivo, amor, carinho e compreensão.

A minha querida orientadora Prof^a. Rosângela Coêlho pela confiança, amizade, dedicação e pela disposição do dia-a-dia.

A minha querida co-orientadora Regina Célia pelo apoio, profissionalismo, amizade, dedicação e principalmente pelo aprendizado em momentos da minha vida.

Ao Laboratório de Imunopatologia Keiso Azami (LIKA) na pessoa do Diretor Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho, por ter possibilitado a realização desta pesquisa.

A todos do setor de Virologia do LIKA , Andréa Rangel, Luciano Melo, Rosana Maria, D. Celestina...Que sempre me apoiaram e contribuíram para este trabalho.

A todos dos setores de Imunologia, Biologia Molecular e Microscopia Eletrônica por cederem seus espaços físicos para realização desse estudo.

A Dra. Luiza Terezinha, Diretora do Departamento de Virologia e Dra. Júlia Fellipe, Diretora da Microbiologia Médica do Instituto Adolfo Lutz - São Paulo pelo apoio e suporte.

Aos amigos: Marcílio Lemos, Isabel Oba, Ângela Spina, Cláudia Saraceni, Alessandra Stilhano, Adriana Parise que fazem o setor de Hepatites Virais do Instituto Adolfo Lutz – São Paulo pelo empenho, dedicação, amizade e competência para a realização desse estudo.

A todos do Mestrado em Medicina Tropical, Dr. Ricardo Ximenes, Jupira e especialmente a Walter pelo empenho e por todas as orientações prestadas desde o início do curso.

Aos colegas do Departamento de Virologia do Laboratório Central de Pernambuco LACEN/FUSAM pelo incentivo e apoio.

A todos os profissionais e pacientes da Nefroclínica, pela dedicação e paciência, especialmente ao Dr. Mavial Moraes Diretor Médico pelo seu esforço, amizade, índole e confiança nesse trabalho. Meu eterno agradecimento.

A Ulisses Montarroyos pela grande ajuda na análise estatística.

À amiga Morgana Gadelha, que embora algum tempo distante, sempre me incentivou, desde a vida acadêmica até os dias atuais.

Ao CNPq através do seu programa de apoio aos bolsistas.

ÍNDICE	Pág.
Lista de abreviaturas	I
Lista de figuras, tabelas e gráficos	III
Resumo	VI
Abstract	VII
1- INTRODUÇÃO	01
1.1- Histórico	01
1.2- O agente	02
1.2.1- Classificação	06
1.3- Manifestações clínicas	08
1.4- Diagnóstico laboratorial	10
1.5- Aspectos epidemiológicos	15
2- OBJETIVOS	25
2.1- Geral	25
2.2- Específicos	25
3- CASUÍSTICA E MÉTODOS	26
3.1- Desenho do estudo	26
3.2- Definição das variáveis	26
3.3- Aspectos éticos	27
3.4- Centro de diálise	28
3.5- População de estudo	29
3.6- Coleta e processamento de dados	29
3.7- Coleta e armazenamento das amostras	30

3.8- Métodos	31
3.8.1- Ensaio imunoenzimático – ELISA	31
3.8.2- Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	32
3.8.2.1- Extração do RNA	32
3.8.2.2- Síntese do DNA complementar – cDNA	33
3.8.2.3- “nested” PCR	33
3.8.2.4- Identificação do material amplificado	34
3.8.3- “Immunoblot” – I.B.	34
3.8.4- Seqüenciamento – Caracterização genotípica	35
3.9- Índice Kappa (K)	37
4.0- Plano de descrição e análise	37
5- Resultados	38
6- Limitações metodológicas	54
7- Discussão	56
8- Conclusões	67
9- Sugestão	67
10- Referências bibliográficas	68
11- Anexos	86

LISTA DE ABREVIATURAS

- ALT - Alanina aminotransferase
- anti-HCV – Anticorpo contra o vírus C
- bp – Pares de base
- cDNA – Ácido desoxirribonucléico complementar
- D.O - Densidade ótica
- DEPEC – Dietil pirocarboneto
- DNA – Ácido desoxirribonucléico
- dNTP – Desoxirribonucleosídeos trifosfatados
- DTT – Dithiothreitol
- ELISA – Ensaio Imunoenzimático
- FDA – Food and Drug Administration
- gp – Glicoproteína
- HCC – Carcinoma hepatocelular
- HCV – Vírus da hepatite C
- HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
- HNANB – Hepatite não-A e não-B
- I.B. – Immunoblot
- IAL – Instituto Adolfo Lutz
- IgG – Imunoglobulina G
- L – Litro
- mL - Mililitro
- NCR – Região não codificadora
- ng – Nanograma
- nm – Nanômetro
- OMS – Organização Mundial de Saúde
- ORF – Fase de leitura aberta
- PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
- RHV – Região hiper variável
- RNA – Ácido ribonucléico
- RT – Transcriptase reversa
- TA – Temperatura ambiente
- UI – Unidades internacionais

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

FIGURAS:

Figura 1: Eletromicrografia do vírus da hepatite C

Figura 2: Representação esquemática do genoma do HCV.

Figura 3: Árvore filogenética representando os tipos de 1 a 6 do HCV e seus subtipos.

Figura 4: Seqüências das amostras com subtipo 1a do HCV

Figura 5: Seqüências das amostras com subtipo 3a do HCV

Figura 6: Seqüências das amostras com subtipo 1b do HCV

TABELAS:

Tabela 1: Seqüência correspondente de cada um dos “primers” utilizados na reação de PCR.

Tabela 2: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à faixa etária

Tabela 3: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo ao sexo

Tabela 4: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a sala para realização do tratamento

Tabela 5: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o tempo de realização de hemodiálise

Tabela 6. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a realização e número das transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados

Tabela 7: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o período da transfusão sanguínea e/ou hemoderivados

Tabela 8. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à realização de tatuagem e uso de drogas injetáveis

Tabela 9: Comparação dos resultados obtidos pelas técnicas do ELISA e da PCR

Tabela 10: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à faixa etária e a positividade para o HCV

Tabela 11. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo à faixa etária agrupada e a positividade para o HCV

Tabela 12. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo ao sexo e a positividade para o HCV

Tabela 13. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a sala para realização do tratamento e a positividade para o HCV

Tabela 14. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o tempo de hemodiálise e a positividade para o HCV

Tabela 15. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo a realização e número de transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados e a positividade para o HCV

Tabela 16. Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o período das transfusões e a positividade para o HCV

Tabela 17: Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o número e período das transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados e tempo de hemodiálise.

Tabela 18 . Distribuição dos hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002, segundo o número de transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados e o tempo de hemodiálise.

Tabela 19: Modelo final da regressão logística entre o tempo de hemodiálise, número e período da transfusão sanguínea e/ou hemoderivados e a positividade para o HCV em hemodialisados de uma clínica da cidade do Recife, no período de março a junho de 2002

GRÁFICOS:

Gráfico 1. Positividade para anticorpos anti-HCV em hemodialisados

Gráfico 2: Distribuição dos genótipos circulantes na clínica estudada

RESUMO

A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) é um importante problema de saúde pública em todo mundo. Esta infecção acomete cerca de 3% da população mundial. No Brasil, existe um percentual de positividade para o HCV de 1,2%, baseado em dados originários dos exames de triagem de doações de sangue. A principal via de transmissão é a parenteral e por isso as populações mais atingidas são politransfundidos, usuários de drogas injetáveis e pacientes renais crônicos que realizam tratamento de hemodiálise. A alta prevalência da infecção pelo HCV nesses pacientes vêm sendo relatada por vários autores em todo o mundo. No Brasil, estudos têm mostrado que pacientes hemodialisados têm uma prevalência de anti-HCV de 12,5% - 65%. Os objetivos deste estudo foram estimar a prevalência da infecção pelo HCV em um centro de diálise da grande Recife; associar a positividade para o HCV em relação a alguns fatores de risco; conhecer os genótipos do HCV circulantes neste centro e estimar a presença de pacientes com o HCV RNA e anti-HCV não reagente. Foram analisados 250 pacientes com idade variando de 17 a 92 anos e de ambos os sexos. Dados epidemiológicos desses pacientes foram obtidos para a determinação dos fatores de riscos para esta infecção. A pesquisa de anticorpos foi realizada pelo ELISA de 3ª geração e para a detecção do HCV RNA foi utilizada a técnica de RT/PCR. Do produto amplificado foi realizada a técnica do seqüenciamento da região 5' NCR do genoma viral. Foi observada uma prevalência de 8,4% (21/250) da infecção e os genótipos: 1a (42%), 3a (37%) e 1b (21%). Em relação aos fatores de riscos, como o tempo de hemodiálise, número e período das transfusões sanguíneas e/ou hemoderivados, foi encontrada uma associação estatisticamente significativa ($p < 0,05$). A prevalência encontrada foi baixa em relação a outros estudos Brasileiros. Observou-se uma excelente concordância do ELISA com a PCR ($K=0,946$). A homogeneidade dos genótipos reflete uma transmissão nosocomial, porém são necessários estudos retrospectivos e prospectivos nesse centro para avaliar o período em que os pacientes adquirem esta infecção.

ABSTRACT

Hepatitis C (HCV) viral infections it is an important problem of public health. This infection attacks about 3% of the world population. In Brazil, the HCV prevalence is 1,2%, based in original blood donators selection exams data. The main transmission way is the parental and it reache populations that is uses injected drugs and patient with chronic renal disease that accomplish hemodialysis treatment. The high prevalence of the infection for HCV in those patient have been reported by several authors all over the world. In Brazil, studies had shown that patient in hemodialysis has a prevalence of anti-HCV of 12,5% - 65%. The objectives of this study is to esteem the prevalence of HCV infection in a dialysis's center of great Recife; to associate HCV positivity to some factors of risks; to know the genotypes of circulating HCV in this center and identify the patients with HCV RNA but without anti-HCV. Two hundred and fifty patients from both sexes were analyzed. The ages varied from 17 to 92 years old. The epidemic data of these patients were obtained for the infection risk factors determination. The research of antibodies was accomplished by ELISA of 3rd generation and the technique of RT/PCR was used for HCV RNA'S detection. In order to determine viral genotype, sequencing of 5'NCR region was done. Our results showed a prevalence of 8,4% of HCV infection and the presence of genotypes 1a (42%), 3a (37%) and 1b (21%). As far as factors of risks, hemodialysis's time, number and time of the blood's transfusions, it was found association statistically significative ($p < 0,05$). The prevalence was low in relation to other Brazilian studies. An excellent agreement of ELISA was observed with PCR ($k= 0,946$). The homogeneity of the genotypes reflects a transmission nosocomial however, they are necessary studies retrospective and prospective in that center in order to evaluate the time which the patients acquire this infection.