

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**

NARA RUBIA DE FREITAS

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E GENÓTIPOS DO VÍRUS DA
HEPATITE C EM CAMINHONEIROS DE ROTA LONGA NO
BRASIL**

**Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Regina Maria Bringel Martins**

Dissertação de Mestrado

Goiânia-GO, 2008

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

NARA RUBIA DE FREITAS

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E GENÓTIPOS DO VÍRUS DA
HEPATITE C EM CAMINHONEIROS DE ROTA LONGA NO
BRASIL**

Orientadora:

Prof^a. Regina Maria Bringel Martins

**Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Medicina Tropical/Universidade Federal de Goiás como
requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em
Medicina Tropical na área de concentração de Microbiologia**

**Este trabalho foi realizado com auxílio financeiro do CNPq,
processo nº: 473-938/2004-9**

Goiânia-GO, 2008

Dedico a concretização deste trabalho a:

Deus, que me deu a vida e as oportunidades para meu crescimento pessoal, espiritual e profissional;

Meus pais, Floriano de Freitas e Vânia Maria, pelo exemplo de honestidade, perseverança e humildade em todos os momentos;

Ao meu namorado, Fernando Paulino, pelo amor, companheirismo, amizade e compreensão;

A minha sobrinha Paolla, por fazer minha vida muito mais feliz;

A todos os meus amigos, pelo carinho e apoio fundamentais na minha vida.

AGRADECIMENTOS

À professora Regina Maria Bringel Martins, pela dedicação, orientação, apoio e todo aprendizado, fundamentais na realização deste trabalho;

À professora Sheila Araújo Teles, pela essencial ajuda na coleta, análise dos dados e em vários momentos durante a construção desta pesquisa;

Aos caminhoneiros que aceitaram participar deste trabalho;

À Márcia Alves Dias Matos, pela amizade, exemplo de competência e perseverança importantes na minha formação profissional;

À Renata Carneiro Ferreira, pelo carinho e aprendizado profissional e pessoal. A bondade e senso de justiça com que vive todas as situações me ensinaram muito;

À professora Carmen Luci Lopes, pela ajuda, amizade, exemplo de solidariedade e ternura em todos os momentos;

Ao Marcos André de Matos, pela imprescindível ajuda na construção deste trabalho, pela amizade e carinho muito importantes na minha vida;

À Nádia Rúbia da Silva Reis, pelo incentivo e ajuda valiosos na concretização deste trabalho;

À Laura Branquinho do Nascimento, pelo auxílio, atenção e companheirismo de grande valia no meu dia a dia;

Ao Ágabo Macedo da Costa Silva, pela atenção, presteza e fundamental auxílio na realização dos testes laboratoriais;

À professora Megmar Aparecida dos Santos Carneiro, pelo apoio, incentivo e ensinamentos que contribuíram bastante na concretização deste trabalho;

À Thaís Augusto Marinho, pelo auxílio e exemplo de paciência e serenidade constantes;

À Tamíris Augusto Marinho, pela atenção e auxílio no laboratório;

À Viviane Rodrigues Tavares, pelo auxílio, momentos de descontração e palavras de aconchego nos momentos difíceis da realização deste trabalho;

À Aline Garcia Koslovsky, pelo apoio, força e companheirismo no decorrer da construção deste trabalho;

À Nativa Helena Alves Del-Rios, pelo carinho, consideração e apoio;

Aos colegas do NUCLAIDS, pela valiosa ajuda na coleta das amostras e construção do banco de dados;

Aos funcionários do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, pela atenção e acolhimento;

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical (PPGMT), pela organização, atenção e apoio;

Aos Professores Doutores: Marcelo Medeiros, Marília Dalva Turchi e Megmar Aparecida dos Santos Carneiro, pelas sugestões apresentadas no exame de qualificação desta dissertação;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. O Vírus da Hepatite C.....	1
1.1.1. Estrutura e classificação.....	1
1.1.2. Variabilidade.....	5
1.2. Aspectos clínicos da infecção pelo vírus da hepatite C.....	7
1.3. Diagnóstico da hepatite C.....	10
1.4. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C.....	14
1.4.1. Transmissão do vírus.....	14
1.4.2. Soroprevalência da infecção.....	17
1.4.3. Distribuição dos genótipos virais.....	19
1.5. Tratamento da hepatite C.....	21
1.6. Prevenção e controle da infecção pelo vírus da hepatite C.....	24
1.7. Infecção pelo HCV em caminhoneiros.....	26
1.8. Justificativa.....	27
2. OBJETIVOS.....	29
2.1. Objetivo geral.....	29
2.2. Objetivos específicos.....	29
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1. Delineamento do estudo.....	30
3.2. População e local de estudo.....	30
3.3. Entrevista e coleta de sangue.....	31

3.4. Testes sorológicos.....	33
3.5. Testes moleculares.....	35
3.6. Processamento e análise dos dados.....	37
4. RESULTADOS.....	38
5. DISCUSSÃO.....	47
6. CONCLUSÕES.....	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ANEXOS.....	78

INDICES DE FIGURAS

Figura 1a – Modelo estrutural do vírus da hepatite C.....	2
Figura 1b – Representação esquemática do genoma do vírus da hepatite C.....	2
Figura 2 – Representação dos seis genótipos do HCV.....	6
Figura 3 – Mapa da Rodovia BR-153, Brasil.....	30
Figura 4 – Ponto de coleta.....	32
Figura 5 – Entrevista com caminhoneiro.....	33
Figura 6 – Coleta de sangue de caminhoneiro.....	33
Figura 7 – Distribuição dos genótipos do vírus da hepatite C em caminhoneiros que trafegam na BR-153, Brasil.....	45

INDICES DE TABELAS

TABELA 1 - Características sócio-demográficas dos 641 caminhoneiros estudados que trafegam na rodovia BR-153, Brasil.....	39
TABELA 2 - Prevalência de anticorpos para o vírus da hepatite C (anti-HCV) em 641 caminhoneiros que trafegam na BR153, Brasil.....	40
TABELA 3 - Análise univariada dos fatores de risco associados à infecção pelo HCV em 636 caminhoneiros do sexo masculino que trafegam na rodovia BR-153, Brasil.....	42

TABELA 4 - Análise multivariada dos fatores de risco associados à infecção pelo HCV em 636 caminhoneiros do sexo masculino que trafegam na rodovia BR-153, Brasil.....44

TABELA 5 - Características de risco e genótipos do vírus da hepatite C em caminhoneiros infectados, Brasil.....46

RESUMO

Globalmente, a prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) é de aproximadamente 3%, variando consideravelmente de acordo com as áreas geográficas e grupos populacionais. Contudo, são poucos os estudos sobre essa infecção na população de caminhoneiros. Este estudo teve como objetivos determinar a prevalência da infecção pelo HCV, analisar os fatores de risco e identificar os genótipos virais em uma população de caminhoneiros de rota longa no Brasil. Em 2005-2006, 641 motoristas de caminhão, que circulavam na Rodovia Federal BR-153, foram entrevistados e tiveram amostras sanguíneas coletadas. As amostras de sangue (soros) foram submetidas à detecção de anticorpos anti-HCV pelo ensaio imunoenzimático. Os soros reagentes foram retestados para anti-HCV por immunoblot e para a detecção do RNA viral pela reação em cadeia da polimerase. As amostras RNA-HCV positivas foram genotipadas pelo método *line probe assay* (LiPA). Nove amostras foram positivas para o marcador anti-HCV, resultando numa prevalência de 1,4% (IC 95%: 0,7-2,7). Pela análise multivariada, configurou-se como fatores de risco associados a esta infecção: uso de drogas ilícitas e soropositividade ao vírus da hepatite B (marcador anti-HBc). A genotipagem realizada nas amostras RNA-HCV positivas identificou os genótipos 1 (37,5%), 2 (25,0%) e 3 (37,5%). Os achados deste estudo indicam uma endemicidade intermediária para a infecção pelo HCV em caminhoneiros no Brasil, assim como a relevância do uso de drogas na transmissão desse agente e a circulação dos genótipos 1, 2 e 3 na população estudada.

ABSTRACT

Globally, the prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection is about 3%, with a significant variation according to geographic areas and population groups. However, studies concerning this infection in truck drivers population are rare. This study aimed to determine the HCV infection prevalence, to analyse associated risk factors and also to identify this virus genotypes in a population of long distance truck drivers in Brazil. In 2005-2006, 641 truck drivers who were circulating on BR-153 Federal road were interviewed and blood samples collected. Blood samples (sera) were tested for anti-HCV antibodies detection by enzyme linked immunosorbent assay. Anti-HCV reactive sera were retested for confirmation by immunoblot and also for HCV RNA detection by polymerase chain reaction. HCV RNA positive samples were genotyped by line probe assay (LiPA). Nine samples were anti-HCV positive, resulting in a prevalence of 1.4% (95% CI: 0.7-2.7). By multivariate analysis, use of illicit drug and hepatitis B virus seropositivity (anti-HBc marker) were risk factors for this infection. Genotyping of HCV RNA positive samples revealed the presence of genotypes 1 (37.5%), 2 (25.0%) and 3 (37.5%). The findings of this study indicate an intermediate endemicity for HCV infection in truck drivers in Brazil, the relevance of drug use in the transmission of this agent and the circulation of genotypes 1, 2 and 3 in the studied population.

1. INTRODUÇÃO

1.1. O Vírus da Hepatite C

1.1.1 Estrutura e classificação

O vírus da hepatite C foi identificado por Choo et al. em 1989. É classificado na família *Flaviviridae*, sendo o único membro do gênero *Hepacivirus* (ICTV 2006). A partícula viral tem cerca de 50 nm de diâmetro, sendo constituída por um envelope lipídico que envolve o capsídeo protéico e o genoma (Figura 1a). Esse é formado por uma molécula de RNA de fita simples, linear, de polaridade positiva, com aproximadamente 9.500 nucleotídeos (nt), que contém uma longa região aberta de leitura (“open reading frame” – ORF), flanqueada nas extremidades 5’ e 3’ por regiões não codificantes (NC). A região codificante origina uma poliproteína com aproximadamente 3.000 aminoácidos (aa) (Figura 1b). No retículo endoplasmático das células infectadas, esse polipeptídeo precursor é submetido a um processo de proteólise por proteases virais e celulares, resultando na formação de proteínas estruturais (“core”/c, envelope/E1 e E2) e não estruturais (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) do HCV (Major & Feinstone 1997, Purcell 1997, Suzuki et al. 1999, Lyra et al. 2004).

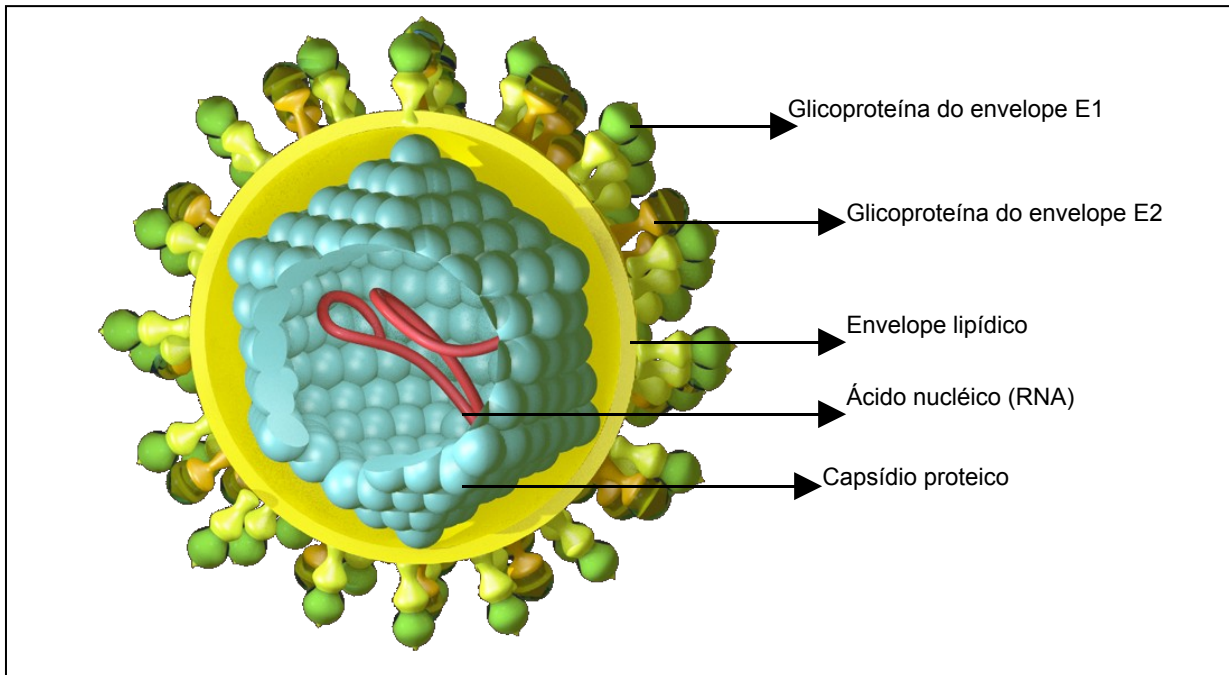


Figura 1a. Modelo estrutural do vírus da hepatite C

Fonte: www.medars.it/galleries/virus_6.htm. Acessado/modificado: 23 de fevereiro de 2007

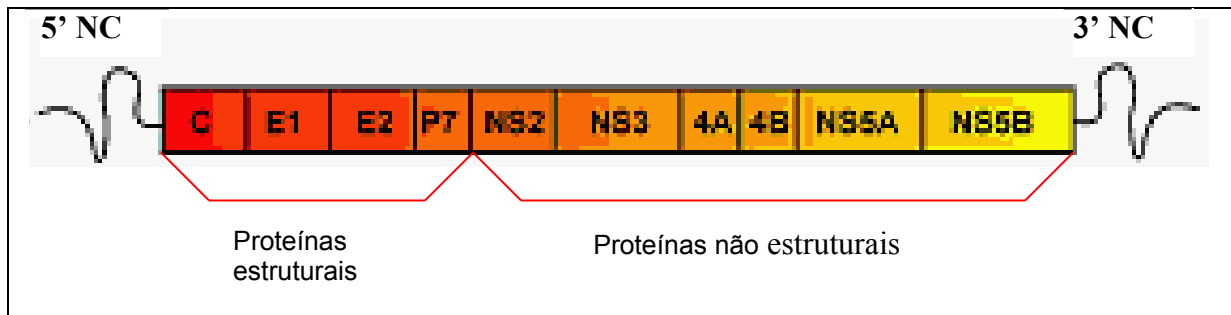
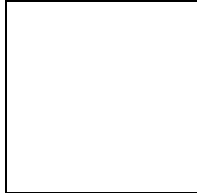


Figura 1b. Representação esquemática do genoma do vírus da hepatite C

Fonte: steacie.nrc-cnrc.gc.ca/.../hepatitisc_e.html. Acessado/modificado: 23 de fevereiro de 2007

A porção 5'NC é a mais conservada do genoma do HCV, sendo utilizada para o desenho de "primers" empregados em testes de detecção do RNA viral (Okamoto et al. 1997, Zein 2000, Corbert et al. 2003, Cantaloube et al. 2006).



Essa região consiste de aproximadamente 340 nt e apresenta uma estrutura secundária altamente complexa com quatro “stem loops” (alças encurvadas). O domínio IV contém um sítio de entrada interno para ribossomos (IRES), possuindo uma seqüência de RNA específica que direciona o início de tradução da proteína viral (Purcell 1997, Ray & Das 2004, Kikuchi et al. 2005).

A região 3'NC é constituída por cerca de 200 nt, sendo composta por três domínios: uma seqüência de 22-66 nt imediatamente após o códon de parada da ORF, que apresenta variabilidade entre os genótipos, um seguimento de extensão variável (poli U) e uma região com 98 nt, designada cauda 3'X, altamente conservada e essencial para a replicação viral (Kolykholov et al. 2000, Bradrick et al. 2006, Song et al. 2006).

As proteínas estruturais são caracterizadas pela existência de domínios hidrofóbicos na porção carboxi-terminal, importantes na associação com a membrana e subsequente clivagem pelas proteases celulares. A proteína do “core” consiste de 191 aa, sendo altamente conservada e imunogênica (Major & Feinstone 1997). No diagnóstico laboratorial da hepatite C, sua presença é importante nos ensaios sorológicos para a detecção de anticorpos (Major & Feinstone 1997, Okamoto et al. 1997). Tem sido demonstrado ainda que a proteína do “core” tem capacidade de ligação ao genoma, dado seu papel essencial de encapsidação do RNA na partícula viral (Cristofari et al. 2004, Lyra et al. 2004). Porém, essa ligação nem sempre é específica para o RNA do HCV, podendo ocorrer com inúmeras proteínas da célula hospedeira. Tal fato tem implicações sobre as funções celulares contribuindo para a patogênese viral, particularmente no desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (Brass et al. 2006, Nguyen et al. 2006).

As glicoproteínas E1 (gp31) e E2 (gp70) representam importantes proteínas do envelope viral e apresentam ampla variabilidade em suas seqüências dependendo dos genótipos (Okamoto et al. 1997, Lanfor & Bigger 2002). A proteína E1 é composta de 192 aa (Major & Feinstone 1997). Já a proteína E2 compreende 426 a 432 aa, possuindo em sua porção amino-terminal uma seqüência bastante variável de aproximadamente 25-30 aa, referida como

região hipervariável 1 (HVR-1) (Okamoto et al. 1997, Purcell 1997, Flint & Mckeating 2000, Bartosch & Cosset 2006). Essa região possui epítomos que induzem a formação de anticorpos específicos pelo hospedeiro. Outrossim, sua variabilidade propicia escape à resposta imune do hospedeiro e conseqüentemente a persistência da infecção pelo HCV (Flint & Mckeating 2000, Zein 2000). Ademais, tem sido demonstrado que E2 possui sítios de ligação para CD81, uma proteína expressa na membrana celular de mamíferos, podendo ter implicação na adsorção da partícula viral ao hepatócito (Flint & Mckeating 2000, Lyra et al. 2004, Kech et al. 2007).

A proteína p7 localizada na região carboxi-terminal de E2 é um polipeptídeo altamente hidrofóbico (Lin et al. 1994). Embora sua função não seja totalmente conhecida, estudos já revelaram que a mesma pode induzir a formação de canais de íons em membranas lipídicas, possibilitando o transporte desses para o citoplasma das células infectadas (Griffin et al. 2003, Sakai et al. 2003, Premkumar et al. 2004). Esses canais de íons podem ser bloqueados por fármacos como amantadina, sendo, portanto, uma região importante para o desenvolvimento e aplicação de terapia antiviral (Griffin et al. 2004).

A maioria das proteínas não estruturais participa da replicação viral, contudo algumas têm suas funções ainda não completamente conhecidas. É sabido que NS2 é um componente da NS2-NS3 metaloprotease que autocatalisa a clivagem da junção de NS2-NS3 (Welbourn et al. 2005). A proteína NS3, além de auxiliar na clivagem de NS2/NS3, apresenta atividade de serina protease e de helicase. A primeira é responsável pela clivagem das junções NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A e NS5A/NS5B. A segunda participa do processo de desenrolamento da hélice do material genético durante a replicação viral. NS4A é um cofator para serina protease (Okamoto et al. 1997, Lanford & Bigger 2002, Thomson & Finch, 2005). A função da proteína NS4B não é ainda totalmente conhecida (Okamoto et al. 1997, Thomson & Finch, 2005). Porém, estudos têm demonstrado que essa proteína tem um papel estrutural importante na formação do complexo de replicação do HCV (Lindström et al. 2006, Yu et al. 2006). NS5A contém uma seqüência particular de nucleotídeos que pode determinar a sensibilidade do vírus à

terapia com interferon (Enomoto et al. 1995, 1996) e, estudos recentes têm indicado que a mesma está envolvida na indução da instabilidade cromossômica e conseqüente desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (Street et al. 2004, Liao et al. 2005, Baek et al. 2006). Quanto a proteína NS5B, essa apresenta uma seqüência de aa altamente conservada, RNA polimerase RNA dependente, com importante papel na replicação (Okamoto et al. 1997, Lyra et al. 2004, Thonson & Finch 2005, Koch & Narjes 2006).

1.1.2. Variabilidade

Atualmente, o HCV pode ser classificado em seis tipos ou genótipos, designados com os números de 1 a 6 (Figura 2), múltiplos subtipos, identificados pelas letras do alfabeto, isolados e “quasispecies”. Essa classificação é baseada no grau de homologia pela análise filogenética das regiões core/E1 e/ou NS5B do genoma viral (Simmonds 1995, et al. 2005). Os genótipos podem diferir entre si num percentual de 30% a 50%. Os subtipos demonstram uma divergência de 15% a 30%. Já os isolados de um mesmo subtipo podem apresentar variações de 5% a 15% (Hoofnagle 2002, Simmonds et al. 2005). “Quasispecies”, definida como uma população heterogênea de vírions que infectam um mesmo indivíduo, diverge em 1% a 5% entre as seqüências do HCV analisadas e emerge como um possível preditor da história natural da infecção (Purcell, 1997, Simmonds et al. 2005, Torres-Puente et al. 2007).

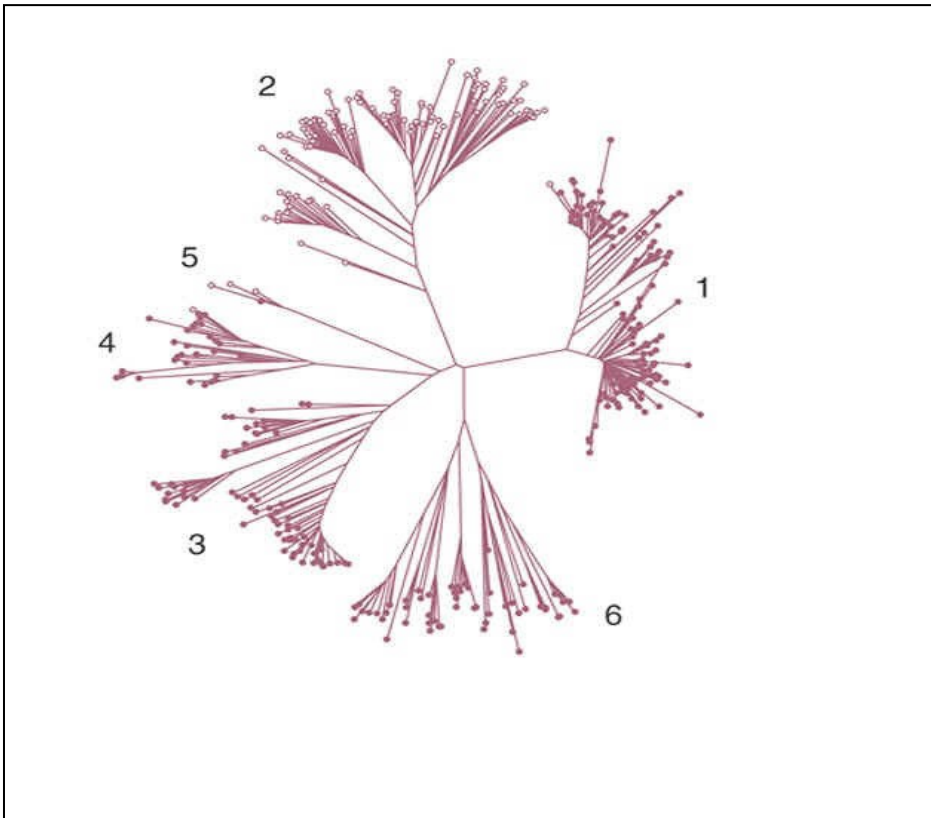


Figura 2. Representação dos seis genótipos do HCV

Fonte: Simmonds 1999.

O vírus da hepatite C exibe considerável variação em sua sequência genômica devido à alta taxa de mutações ocorrida durante o processo de replicação viral (Purcell, 1997). Comumente a todos os vírus RNA, a enzima RNA polimerase RNA dependente não possui capacidade de reparo eficiente durante a sua leitura levando a formação de seqüências nucleotídicas incorretas (Thonson & Finch, 2005). Algumas dessas mutações podem ocasionar a formação de partículas virais não infecciosas, dependendo da posição das mesmas. Outras permitem que o vírus se adapte continuamente a circunstâncias ambientais, podendo ser silenciosas, quando causam mudanças somente na seqüência nucleotídica, ou ainda alterar a seqüência de aminoácidos, possibilitando ao vírus a seleção de variantes mais resistentes (Major & Feinstone, 1997, Le Guillou-Guillemette et al. 2007).

Segundo Le Guillou-Guillemette et al. (2007), a taxa de mutações de nucleotídeos varia de $1,4 \times 10^3$ a $1,9 \times 10^3$ /sítio/ano e não ocorrem de forma uniforme por todo o genoma viral. As áreas altamente conservadas incluem aquelas codificantes de funções essenciais, como a RNA polimerase RNA dependente e de outras proteínas não estruturais, proteína do “core”, além da região 5' NC, sendo nessas regiões menos frequentes as mutações. Já a região que codifica as proteínas do envelope, especialmente E2, é bastante heterogênea, sendo usada na determinação de “quasispecies” (Davis 1999, Major & Feinstone 1999, Cristina et al. 2007).

A variabilidade do HCV tem implicações importantes na epidemiologia, diagnóstico, curso clínico, tratamento e prevenção da infecção pelo vírus da hepatite C, especialmente na dificuldade do desenvolvimento de vacinas (Okamoto, 1997, Zein 2000, Cristina et al. 2007).

1.2. Aspectos clínicos da infecção pelo vírus da hepatite C

A infecção pelo vírus da hepatite C se configura na principal causa de hepatite crônica, podendo evoluir para cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (HCC) (Lauer & Walker 2001, Hoofnagle 2002). Nos países industrializados, a hepatite pelo HCV é responsável por 50-76% dos casos de carcinoma hepatocelular e dois terços de todos os transplantes hepáticos (OMS 2007).

A infecção aguda pelo HCV é raramente vista na prática clínica tendo em vista que apenas um quarto dos indivíduos infectados apresenta sintomas e, quando presentes, são normalmente leves e inespecíficos (Alberti & Benvegna 2003, Chen & Morgan 2006). O período de incubação é de cerca de sete semanas, podendo variar de duas a 26 semanas (Hoofnagle 1997, Lauer & Walker 2001). Quanto aos níveis de alanina aminotransferase (ALT), que se elevam no soro aproximadamente entre a segunda e a oitava semana após exposição, indicam injúria hepática (Caruntu & Benea 2006, Chen & Morgan 2006).

A hepatite C aguda é auto-limitada na minoria dos casos, ocorrendo evolução para hepatite crônica em 50-85% dos indivíduos infectados (Conte 2000, Alberti & Benvegnu 2003, Guirao et al. 2007). Os mecanismos responsáveis pela elevada persistência da infecção pelo HCV não foram ainda totalmente elucidados, mas a existência de “quasispecies” e a grande capacidade mutagênica do vírus são fatores importantes, uma vez que propiciam um constante escape viral à resposta imunológica do hospedeiro (Strauss 2001, Caruntu & Benea 2006).

A hepatite C crônica é caracterizada pela persistência do RNA-HCV por mais de seis meses após a exposição (Hoofnagle 1997, Chen & Morgan 2006). A minoria dos pacientes apresenta sintomas, que normalmente são leves e intermitentes, sendo os mais comuns fadiga e dor na região hepática. Os níveis de ALT flutuam amplamente e, em aproximadamente 30% dos casos, os valores são normais (Alberti & Benvegnu 2003).

De maneira geral, a evolução da hepatite C crônica é lenta e progressiva (Conte 2000). A replicação do vírus nos hepatócitos leva a uma reação imune que causa inflamação hepática e necrose celular ao longo dos anos, sendo variáveis a intensidade dessas alterações e a capacidade de gerar lesões irreversíveis (Chen & Morgan 2006). Embora seja controverso, no geral, o tempo de progressão da hepatite C aguda para cirrose é de 30 anos (EASL 1999, Poynard et al. 2003), sendo que cerca de 20% a 30% dos indivíduos cronicamente infectados evoluem para esse quadro clínico, podendo progredir para carcinoma hepatocelular (Alter & Seeff 2000, Alberti & Benvegnu 2003).

A progressão para cirrose hepática em pacientes cronicamente infectados pelo HCV é frequentemente silenciosa e variável, sendo as manifestações clínicas em geral ausentes (Hoofnagle 2002). Algumas variáveis como: idade de aquisição do HCV (evolução mais rápida em indivíduos com idade mais elevada), gênero masculino, consumo de álcool, grau de fibrose e co-infecção com o vírus da hepatite B (HBV) e/ou vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) têm papéis importantes nessa evolução (Conte 2000, Alberti & Benvegnu 2003, Poynard et al. 2003, Chen & Morgan 2006). Quanto aos

genótipos, o subtipo 1b, que outrora foi associado ao curso progressivo mais grave da hepatite crônica, atualmente não se configura como característica de risco independente (Poynard et al. 2003, Chen & Morgan 2006). A infecção crônica pelo HCV está intimamente relacionada à hepatocarcinogênese. Os ciclos contínuos e recorrentes de necrose dos hepatócitos seguidos de regeneração, característicos de necroinflamação induzida viralmente, aumentam de forma substancial as taxas de inflamação, atuando como um potente promotor de tumores (Kew 2006).

A infecção crônica pelo HCV tem sido associada com várias manifestações extra-hepáticas que afetam substancialmente a qualidade de vida dos pacientes infectados (Hoofnagle 2002, Poynard et al. 2003). A crioglobulinemia mista, uma vasculite sistêmica caracterizada pelo depósito de imunocomplexos em pequenos e médios vasos sanguíneos é a manifestação extra-hepática mais comum, atingindo de 36 a 50% dos pacientes com infecção crônica pelo HCV (Galossi et al. 2007). Em aproximadamente 15% dos casos, essa alteração apresenta-se sintomática como vasculite cutânea, neuropatia periférica ou ainda como glomerulonefrite (Hoofnagle 2002, Galossi et al. 2007). Tem sido frequentemente reportado a associação da infecção pelo HCV e o desenvolvimento de Linfoma não Hodgkin em indivíduos com crioglobulinemia mista, fazendo crer que esta seria intermediária ao desenvolvimento do linfoma (Galossi et al. 2007). Ainda outras condições que têm sido associadas à hepatite C são manifestações dermatológicas (porfiria cutânea tardia, líquen plano) distúrbios endócrinos (diabetes mellitus, hipotireoidismo) e alterações reumatológicas (Síndrome de Sjogren, artrite) (Poynard et al. 2003, Galossi et al. 2007).

1.3. Diagnóstico da hepatite C

A disponibilidade de testes diagnósticos para a infecção pelo vírus da hepatite C data de 1989, quando Choo et al. identificaram o HCV utilizando técnicas da biologia molecular (Choo et al. 1989). Desde então, três gerações de testes imunoenzimáticos (ELISA) foram desenvolvidos, utilizando proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos para a detecção de anticorpos anti-HCV (Erensoy 2001, Brandão et al. 2001).

O teste ELISA-I, de primeira geração (não mais utilizado na prática clínica), tinha como alvo somente um antígeno, o polipeptídeo c-100-3, obtido da região não estrutural NS4. Já a segunda geração de teste ELISA (ELISA-II), surgiu em 1992, nos Estados Unidos, tendo incorporado mais duas proteínas recombinantes do HCV: c 22-3 e c 33-c, derivadas das regiões “core” e não estrutural NS3, respectivamente. Os testes ELISA de 3ª geração, utilizados na atualidade, incluem antígenos referentes às regiões do “core”, NS3, NS4 e NS5 (Kuo et al. 1989, Alter 1992, Gretch et al. 1992, Kao et al. 1996, Gretch 1997). As principais vantagens desses testes são a redução do período médio de soroconversão, de 16 semanas pelo ELISA-I para 7-8 semanas pelo ELISA-III (Erensoy 2001), além do aumento da sensibilidade (97-99%) e especificidade (99%) em indivíduos imunocompetentes infectados; porém em imunocomprometidos, a sensibilidade diminui para 60%-90% (Couroucé et al. 1995, Pawlotsky 2002a, Alter et al. 2003). Por outro lado, falsa reatividade também pode ocorrer principalmente em populações de baixo risco, devido a ligantes não específicos presentes no soro, ou contaminantes nas preparações dos kits comerciais (Erensoy 2001).

Assim sendo, os testes suplementares ou confirmatórios foram desenvolvidos para evidenciar verdadeira positividade aos resultados dos testes anti-HCV (ELISA), sendo particularmente úteis na eliminação de resultados falso-positivos em populações consideradas de baixo risco (Gretch 1997, Erensoy 2001, Ferreira-González & Shiffman 2004). Segundo Erensoy (2001), os testes mais comumente utilizados são o “recombinant immunoblot assay” (RIBA) e “line immunoassay” (LIA), ambos contendo antígenos

recombinantes do HCV e/ou peptídeos sintéticos acoplados em uma fita de nitrocelulose (imobilizadas em bandas individuais) que é incubada com o soro do indivíduo. O teste é considerado positivo quando ocorre reatividade com dois ou mais antígenos, indeterminada (reatividade para um único antígeno) ou negativa (ausência de reatividade) (Brandão et al. 2001). A especificidade dos testes suplementares é bastante alta, uma vez que identifica anticorpos referentes a antígenos individuais (Brandão et al. 2001, Erensoy 2001).

A presença de anticorpos anti-HCV não significa infecção ativa, mas que o indivíduo foi exposto ao vírus (Pereira & Levey 1997, Pawlotsky 2003). A infecção aguda é diagnosticada pela detecção do RNA viral, presente no soro cerca de uma a duas semanas após a exposição (Pawlotsky 2002a). Dois métodos principais são utilizados na detecção qualitativa do RNA viral: a PCR (“polymerase chain reaction”) e TMA (“transcription-mediated amplification”) (Erensoy 2001, Pawlotsky 2003, Scott & Gretch 2007), ambos baseados na amplificação parcial do genoma (Pawlotsky 2002b).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma das técnicas de biologia molecular mais utilizadas, que amplifica parte do genoma do vírus utilizando a enzima Taq DNA polimerase após transcrição reversa, sendo bastante sensível (Strauss 2001, Majid & Gretch 2002). O limite de detecção da PCR pode chegar a 50 UI/ml (Pawlotsky 2002a, Scott & Gretch 2007). Contudo, essa é uma técnica laboriosa que necessita de cuidados extremos para evitar contaminações, ocasionando resultados falso-positivos. Além disso, os soros devem ser rapidamente separados e estocados de forma adequada para evitar a degradação do RNA viral e consequentemente resultados falso-negativos. Já TMA, diferentemente da PCR, é uma reação isotérmica que amplifica parte do genoma viral após o mesmo ter sido capturado por uma sonda de oligonucleotídeos e ligada a micropartículas magnéticas. Utiliza duas enzimas: transcriptase reversa e RNA polimerase do fago T7 (Majid & Gretch 2002, Pawlotsky 2002b). É um método simples, rápido e capaz de detectar aproximadamente 10 UI/ml do RNA-HCV (Pawlotsky 2002b).

Os testes para detecção do RNA viral são particularmente úteis para comprovar presença de viremia nos indivíduos anti-HCV positivos, no diagnóstico da hepatite C aguda, em pacientes imunossuprimidos, naqueles com resultados indeterminados para anti-HCV e no diagnóstico da infecção em recém-nascidos, além do monitoramento da resposta ao tratamento (Brandão et al. 2001, Erensoy 2001, Forns & Costa, 2006).

Os testes moleculares quantitativos são utilizados para medir o nível de RNA do HCV no soro ou no plasma, refletindo as taxas de replicação e de eliminação do vírus pelo hospedeiro (Brandão et al. 2001). A determinação da carga viral é fundamental para o monitoramento da terapia antiviral estabelecida, especialmente nos casos de genótipo 1 (Brandão et al. 2001, Strauss 2001, Ferreira-González & Shiffman 2004). Para isso, basicamente duas técnicas da biologia molecular estão disponíveis: a da PCR quantitativa e a do DNA ramificado (“branched DNA”). A diferença básica entre elas é que, enquanto a primeira amplifica o DNA alvo, a última tem por finalidade a amplificação do sinal da reação, sendo mais simples, porém menos sensível que a PCR (Pawlotsky 2003). Outra técnica recentemente desenvolvida é a de PCR em tempo real (“Real Time PCR”) que permite a detecção simultânea e quantificação da seqüência alvo do genoma viral durante os ciclos da PCR (Erensoy 2001, Majid & Gretch 2002, Pawlotsky 2003).

A detecção do antígeno do “core” do HCV pelo teste imunoenzimático tem sido avaliada em relação à presença e níveis do RNA viral (Aoyagi et al. 1999, Kraiden et al. 2004). Os títulos desse antígeno correlacionam-se diretamente com a carga viral, podendo, assim, ser usado como um marcador de replicação viral (Pawlotsky 2002a, 2003, Seme et al. 2005, Laperche et al 2005a). Tem sido estimado que 1 pg do total do antígeno do “core” do HCV por milímetro é equivalente a aproximadamente 8.000 UI do RNA-HCV, porém se torna indetectável quando os níveis de RNA do HCV estão abaixo de 20.000 UI/ml (Pawlotsky 2002a). A detecção e quantificação do antígeno do “core” apresenta como principal vantagem sua realização em laboratórios menos especializados, com diminuição dos custos e a possibilidade de substituir a complexa determinação do RNA-HCV (Seme et al. 2005). Todavia, esse teste

ainda não foi aprovado pelo FDA (“Food and Drugs Administration”) (Pawlotsky 2002a) e, possui importância limitada em caso de carga viral baixa (Krajden et al. 2004).

A determinação dos genótipos do vírus da hepatite C tem implicações importantes na duração da terapia e na epidemiologia da infecção, devido a grande variabilidade desse agente (Erensoy 2001, Scott & Gretch 2007). Dentre os métodos desenvolvidos para genotipagem por técnicas da biologia molecular, o seqüenciamento direto da região NS5B do genoma, seguido da análise filogenética, é considerado o padrão ouro (Brandão et al. 2001, Majid & Gretch 2002, Pawlotsky 2002a). Todavia, outros métodos tais como a hibridização reversa com sondas de oligonucleotídeos genótipo-específicas (INNO-LiPA, Innogenetics, Bélgica ou Versant HCV genotype assay, Bayer Corporation; Gen.Eti DEIA HCV, Sorin Biomedical Itália), a digestão de produtos da PCR com enzimas de restrição (RFLP – “restriction fragment length polymorphism”) e a PCR com “primers” tipo específicos são preferidas na rotina laboratorial devido a praticidade em relação ao seqüenciamento (Pawlotsky 2002a). A sorotipagem é um método que possibilita também a determinação do genótipo baseado na detecção de anticorpos tipo-específicos contra epítomos do HCV (Brandão et al. 2001, Pawlotsky 2002a). O uso desse teste é limitado a indivíduos imunocompetentes, sendo capaz de identificar os seis tipos do vírus da hepatite C, porém não é indicado para subtipagem (Erensoy et al. 2001, Pawlotsky 2002a, Gault et al. 2003).

O diagnóstico histológico revela-se importante para a decisão terapêutica. A biópsia hepática está indicada quando há marcadores virais positivos e elevação dos níveis de ALT, sendo útil para estadiar a gravidade da doença (estágio da fibrose) e graduar a quantidade de necrose e inflamação (Tarik et al. 2007). Porém, a biópsia apresenta sérias limitações como a variabilidade das amostras do tecido hepático e o número de eventos adversos ocorridos (Poynard et al. 2003).

1.4. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C

1.4.1. Transmissão do vírus

O vírus da hepatite C é transmitido principalmente pela via parenteral (Alter 1995, 2007, Bruguera & Tapias 2000). Embora o HCV já tenha sido detectado em secreções orgânicas, como sêmen, secreção vaginal e cervical, seus riscos potenciais de transmissão viral são baixos (Prado 2007). Portanto, as rotas de transmissão sexual e vertical têm menor eficiência na propagação desse agente viral (Shepard et al. 2005).

Até a implementação de testes de triagem para detecção de anticorpos anti-HCV em bancos de sangue, a transfusão sangüínea e de derivados contaminados consistia em importante mecanismo na disseminação da infecção. No Brasil, a exigência da pesquisa de anti-HCV na triagem de doadores de sangue foi a partir de dezembro de 1993, pela Portaria nº1376 do Ministério da Saúde (MS 1993). Estudo realizado por Maresch et al. (2007), em bancos de sangue no sul do País, mostrou um risco atual de aquisição do vírus da hepatite C associado à transfusão sanguínea de um caso para cada 19.300 (IC 95%: 1:10,4-1:44,8) unidades transfundidas. Porém, em alguns países em desenvolvimento, especialmente na África e Ásia, como Paquistão, Índia e grande parte da África Subsaariana, a incidência de hepatite C pós-transfusional ainda é considerada alta devido à ausência de uma triagem eficiente nos bancos de sangue para o HCV (Kapoor et al. 2000, Luby et al. 2000, Madhava et al. 2002)

Na atualidade, o uso de drogas injetáveis se configura como principal causa de propagação do HCV (Yen et al. 2003, Sy & Jamal 2006). Estudos realizados em usuários de drogas injetáveis (UDI) verificaram prevalências para o HCV de 67%, 75,0% e 86,0% na Rússia, Alemanha e Tailândia, respectivamente (Rhodes et al. 2006, Jittiwutikarn et al. 2006, Reimer et al. 2007). De acordo com Rosen (2000) e Wasley & Alter (2000), dentre os UDI, cerca de 50% a 90% podem se infectar pelo vírus após cinco anos de exposição, sendo os principais fatores de risco para a aquisição do HCV: alta

frequência de uso, cocaína injetável, compartilhamento de instrumentos e primeira injeção na companhia de outro usuário mais experiente. O uso de cocaína por via inalatória parece estar associado à infecção pelo HCV, pelo compartilhamento de cânulas de inalação e ocorrência de epistaxe (Tortu et al. 2004, Neaigus et al. 2007).

O risco de transmissão nosocomial do vírus da hepatite C pode ser alto se as medidas de controle de infecção não forem seguidas de forma adequada (Carneiro et al. 2007). De acordo com Maugat et al. (2003) a prevalência de anti-HCV pode chegar a 22% em pacientes hospitalizados submetidos a procedimentos invasivos. Os indivíduos em hemodiálise apresentam uma possibilidade maior de se infectarem com o HCV, com taxas de prevalência variando de 6% a 72% entre os centros de diálise (Medeiros et al. 2004, Silva et al. 2006). O risco de infecção está associado principalmente ao tempo de hemodiálise, antecedentes de transfusão e tipo de diálise realizada (Bruguera & Tapias 2000).

Outros meios de transmissão do HCV incluem os procedimentos relacionados à estética, rituais religiosos e práticas culturais, tais como: tatuagem, uso de lâminas de barbear e alicates de unha não esterilizados, compartilhamento de objetos de higiene pessoal, “piercing”, rituais de escarificação, circuncisão e acupuntura (Alter et al. 1995, Focaccia et al. 2002, Shepard et al. 2005, Karmochkine et al. 2006). Alguns desses fatores assumem grande importância também na transmissão intrafamiliar do HCV (Caporaso et al. 1998, Akhtar et al. 2002).

Outro grupo que pode ser considerado de risco para a aquisição do HCV são os profissionais da área da saúde em função da atividade que exercem. Dados sobre transmissão ocupacional revelam uma variação na prevalência do HCV de 0 a 10% nessa população (Kein et al. 1991, Mitsui et al. 1992, Martins et al. 1996, Lopes et al. 2002, Colichon et al. 2004, Luz et al. 2004). A principal forma de transmissão é por meio de acidente percutâneo com agulhas contaminadas. De acordo com “Centers for Disease Control and Prevention”

(CDC) (2003), o risco médio de infecção após exposição percutânea com objeto contaminado com RNA-HCV é aproximadamente 1,8%.

O risco de transmissão vertical ou perinatal do HCV é variável (0% a 20%), com uma média de 5% em mães HIV soronegativas e não usuárias de drogas injetáveis (Bruguera & Tapias 2000, Gibb et al. 2000, Tajiri et al. 2001). Em casos de carga viral elevada e co-infecção materna com HIV, esse percentual aumenta para 20% (Polis et al. 2007). Mães soropositivas para o HIV apresentam um risco quatro a cinco vezes maior de transmitir o HCV a seus bebês (Roberts & Yeung 2002, Alter et al. 2007). Existem controvérsias se parto normal e aleitamento materno seriam fatores de risco para a transmissão do HCV. O vírus da hepatite C já foi isolado em baixos títulos no leite materno (Airold & Berghella 2006) e rompimento precoce de membranas uterinas têm se mostrado associado à transmissão do HCV (Mast et al. 2005, Boxall et al. 2007). O CDC não determina o aleitamento materno e o parto vaginal, como fatores que possam aumentar o risco de transmissão do HCV (CDC 1998).

O risco de transmissão sexual do HCV não está bem estabelecido. Entre os anos de 1995 e 2000, de todos os casos de hepatite C aguda relatados ao CDC, nos Estados Unidos, 18% apresentavam como único fator de risco contato sexual com indivíduo anti-HCV positivo, sendo que, desses, 12% nos últimos seis meses e 6% com múltiplos parceiros sexuais (Goldberg & Anderson 2004). Por outro lado, estudos têm demonstrado que o risco de transmissão sexual do HCV é bastante pequeno em casais monogâmicos e não usuários de drogas injetáveis (Vandelli et al. 2004, Tahan et al. 2005). Os fatores de risco associados à soropositividade para o HCV incluem múltiplos parceiros sexuais, não uso de preservativos, história de doença sexualmente transmissível (DST), experiências sexuais traumáticas e homossexualismo masculino (Alter 1995, Bruguera & Tapias 2000, Yen et al. 2003), sendo, portanto, a prevalência dessa infecção mais alta em alguns grupos, tais como: profissionais do sexo, indivíduos com DSTs, homens que fazem sexo com homens e parceiros de usuários de drogas injetáveis (Focaccia et al. 2002, Minola et al. 2006, Van de Laar et al. 2007).

1.4.2. Soroprevalência da infecção

A infecção pelo vírus da hepatite C tem sido considerada importante problema de saúde pública. Aproximadamente 180 milhões de pessoas estão infectadas pelo HCV em todo o mundo (OMS 2007), ocasionando cerca de 400.000 mortes por ano (Sy & Jamal 2006). Ademais, as conseqüências da infecção crônica são atualmente a maior indicação de transplante hepático no Ocidente (Kew et al. 2004).

Embora a infecção pelo HCV seja endêmica em todo o mundo, existe uma considerável variação em sua prevalência em diferentes populações e regiões geográficas (Yen et al. 2003, Kew et al. 2004, Shepard et al. 2005), sendo mais alta nos países em desenvolvimento, pois a detecção e tratamento inadequados dificultam a implantação de estratégias de prevenção e controle (Prati 2006).

Têm sido estabelecidos três perfis epidemiológicos da infecção pelo HCV relacionando a prevalência com a idade (Wasley & Alter 2000). O primeiro perfil demonstra uma prevalência mais alta em adultos com idade entre 30 e 49 anos e, um decréscimo abrupto da infecção em indivíduos com mais de 50 anos de idade, sugerindo que a transmissão do vírus ocorreu em um passado recente (aproximadamente entre 10 e 30 anos atrás). O segundo perfil é observado em indivíduos mais velhos, mostrando que a transmissão ocorreu em um passado distante (30-50 anos). No terceiro perfil, taxas elevadas da infecção são encontradas em todas as faixas etárias. Esses padrões podem ser observados nos Estados Unidos e Austrália (Alter 2002, Law et al. 2003), Japão e Itália (Sun et al. 2001, Campello et al. 2002) e Egito (Medhat et al. 2002), respectivamente. O conhecimento sobre os perfis epidemiológicos é importante porque provê informações necessárias para avaliar como o impacto da infecção pode mudar no decorrer dos anos (Wasley & Alter 2000), bem como para a formulação de estratégias para reduzir a sua propagação (Kim 2002).

Até o momento, existem poucos estudos de prevalência baseados na população geral, especialmente em países em desenvolvimento, sendo a maioria das pesquisas realizada em grupos selecionados como os doadores de sangue (Kim 2002, Sy & Jamal 2006). As estimativas de prevalência advindas de estudos nessa população proporcionam informações relevantes sobre as diferenças regionais nos índices da infecção pelo HCV. Contudo, esses estudos muitas vezes podem subestimar o verdadeiro impacto dessa infecção por se tratar de um grupo altamente selecionado (Wasley & Alter 2000, Sy & Jamal 2006). Porém, a maioria dos índices globais de prevalência publicados tem sido limitada a essa população (Yen et al. 2003, Kew et al. 2004).

Numa análise global em população de doadores de sangue, os índices mais baixos de infecção pelo HCV foram encontrados no Reino Unido e Escandinávia (0,01-0,1%) (Yen et al. 2003, Alter et al. 2007). Na Europa Ocidental, América do Norte, algumas áreas das Américas do Sul e Central, Austrália e regiões limitadas do sul da África incluindo África do Sul, as taxas foram um pouco superiores (0,2-0,5%) (Wasley & Alter 2000, Madhava et al. 2002). Percentuais intermediários (1,0-5,0%) foram encontrados no leste Europeu, Mediterrâneo, Oriente Médio e partes da África e da Ásia (Yen et al. 2003). A grande maioria dos países da África Central apresenta prevalência maior que 5% (Madhava et al. 2002). Os índices mais altos para a infecção foram vistos no Egito, onde 17% a 26% da população possuem anticorpos para o HCV (Kim 2002, Kew et al. 2004, Dehesa-Violante & Nunes-Nateras 2007).

Em relação às Américas, os dados sobre prevalência da infecção pelo HCV variam entre os países da seguinte forma: nos Estados Unidos, estima-se que 1,8% da população geral estejam infectadas pelo HCV (Bruguera & Tapias 2000, Yen et al. 2003). Na América Central, foram encontrados índices de 1,2% e 6,3% de prevalência no México e em Porto Rico, respectivamente (Uribe & Mendes-Sanches 2002, Perez et al. 2005). Quanto a América do Sul, taxa de prevalência de 0,7% foi verificada no Equador e Venezuela, e de 2,3% na Colômbia (Robinson et al. 1996). No Chile, González et al. (2005a) encontraram uma prevalência de 0,8%.

No Brasil, ainda são raros os estudos de prevalência da infecção pelo HCV na população geral. Focaccia et al. (1998), ao analisarem amostras sanguíneas de 1.059 indivíduos procedentes da população geral do município de São Paulo, mostraram uma prevalência para o anti-HCV de 1,4%.

Em Goiânia, Martins et al. (1994), ao avaliar 2.350 doadores de sangue, obtiveram um percentual de positividade de 1,4%. Os índices de anti-HCV em outros grupos populacionais em Goiânia variaram da seguinte maneira: 0,9% em gestantes (Martins et al. 1995b); 3% e 1% em meninos de/na rua, respectivamente; 0,2% em escolares e 0% em crianças provenientes de creches (Martins et al. 1995a), além de 61% em hemofílicos (Barbosa 1998), 16,5% em hemodialisados (Carneiro et al. 2005), 1,9% em pacientes com doenças reumáticas (Barbosa et al. 2005), 15,3% em transplantados renais (Botelho 2005), e 2,5% em usuários anônimos de um centro de aconselhamento e triagem para HIV (Pereira et al. 2006).

1.4.3. Distribuição dos genótipos virais

A atual distribuição dos genótipos do HCV reflete as rotas de transmissão principais de cada região, dados históricos sobre prevalência e grupos de risco que se constituíram no decorrer dos anos (Sy & Jamal 2006). Em um estudo realizado com 1.183 indivíduos franceses infectados com o HCV, Bourliere et al. (2002) encontraram um aumento na prevalência do subtipo 3a nas últimas quatro décadas, demonstrando uma modificação na distribuição dos genótipos do HCV em função do crescimento do número de UDI.

Alguns genótipos, como 1a, 1b, 2a, 2b e 3a são amplamente distribuídos em todo o mundo, enquanto outros como 5a e 6a são restritos a algumas áreas geográficas específicas (Huy & Abe 2004). O genótipo 1 (subtipo 1a e 1b), com distribuição mundial, é predominante nos Estados Unidos e Europa (Nainan et al. 2006, Rustgi 2007). O genótipo 2 (subtipo 2a e 2b), que também possui distribuição geográfica global é particularmente comum no Japão (Ohno et al.

1997, Busek & Oliveira 2003) e Itália (Dal Molin et al. 2002). Já o genótipo 3 é muito comum em algumas partes da Europa (Busek & Oliveira 2003), Paquistão e Índia (Shah et al. 1997, Das et al. 2002, Ahmad et al. 2007). O genótipo 4 é o principal tipo encontrado no norte da África e Oriente Médio (Osoba 2002, Bdour 2002, Ramia & Eid-Fares 2006, Timm et al 2007). Os genótipos 5 e 6 podem ser encontrados na África do Sul (Ohno et al 1997, Nguyen & Keeffe 2005) e Sudeste Asiático, respectivamente (Huy & Abe 2004).

O Brasil, por ser um país de dimensões continentais, cuja população é constituída por indivíduos de origens étnicas distintas, observa-se uma grande variação nas freqüências dos genótipos do vírus da hepatite C. Campiotto et al. (2005), ao analisarem 1.688 amostras de pacientes cronicamente infectados pelo HCV de vários estados do Brasil, encontraram cinco genótipos, distribuídos nos seguintes percentuais: 64,9% para o genótipo 1; 30,2% para o genótipo 3; 4,6% para o genótipo 2; 0,2% para o genótipo 4 e 0,1% para o genótipo 5. Em todas as regiões, houve predomínio do genótipo 1; já o genótipo 2 foi mais prevalente no Estado de Mato Grosso (Região Centro-Oeste), enquanto o genótipo 3 foi mais comumente encontrado no sul do País. Outros estudos realizados no Brasil também têm demonstrado predominância do genótipo 1, seguido pelos genótipo 3 e 2 (Oliveira et al. 1999b, Focaccia et al. 2004, Vogler et al. 2004), revelando dados semelhantes aos encontrados na Europa Ocidental (De Cock & Vranckx 2003, Cantaloube et al. 2005).

Segundo Martins et al. (2006), os resultados em doadores de sangue na Região Centro-Oeste mostram-se similares aos nacionais, com predomínio do genótipo 1, seguido dos tipos 3 e 2. Em Goiás, o subtipo mais prevalente foi 1a (50%), seguido de 3a (30,9%), 1b (16,7%) e 2b (2,4%). Outros estudos foram realizados em diferentes grupos populacionais na cidade de Goiânia, como: hemofílicos (1a: 41%, 1b: 25,6%, 3a: 20,5%, 2b: 2,6%, 2+3a: 2,6%) (Barbosa 1998), pacientes com doenças reumáticas (1a: 57,1%, 1b: 28,6%, 3a: 14,3%) (Barbosa et al. 2005), transplantados renais (1a: 62,5%, 1b: 31,3%, 3a: 6,2%) (Botelho, 2005), hemodialisados (1a: 72,6%, 1b: 19,8%, 3a: 7,6%) (Espírito-Santo et al. 2007) e usuários de um centro de aconselhamento sobre HIV que revelou predominância do subtipo 3a (Pereira et al. 2006). Portanto,

similarmente a população de doadores de sangue, esses estudos revelaram grande predomínio do subtipo 1a, exceto em co-infectados com HIV.

1.5. Tratamento da hepatite C

A decisão de tratar ou não indivíduos infectados pelo vírus da hepatite C é complexa e requer uma avaliação cuidadosa e individual (Hügler & Cerny 2003, Moreno-Otero 2004). A terapia atualmente utilizada apresenta ainda inconvenientes como a eficácia baixa em muitos casos, efeitos colaterais ocasionalmente graves e alto custo econômico (Weigand et al. 2007). Apenas pacientes com níveis de RNA-HCV detectáveis que têm ALT persistentemente elevada e biópsia hepática revelando fibrose, ou pelo menos necrose, ou inflamação moderada, têm clara indicação para tratamento (Lauer & Walker 2001, MS 2002).

Vários regimes de tratamento têm sido avaliados ao longo do tempo para hepatite C (Souvignet et al. 2007). Após o estabelecimento do diagnóstico para essa infecção, a opção terapêutica inicialmente utilizada foi a monoterapia com INF- α (Dillon 2004, Huang et al. 2006) em dose de 3 milhões de unidades (mU) administrados três vezes por semana por um período de seis meses (Moreno-Otero 2004). O INF age inibindo a replicação do HCV pela indução da síntese de proteínas antivirais nas células responsivas (Moreno-Otero 2004), e quando administrado segundo o regime terapêutico supracitado produzia taxa de resposta de até 40%. Porém, os índices de resposta virológica sustentada mostraram-se inferiores a 20% (Lauer & Walker 2001, Moreno-Otero 2004).

Os baixos índices terapêuticos da monoterapia com INF levaram ao desenvolvimento de novos estudos que revelaram que a associação de interferon e ribavirina (RB), um antiviral com atividade contra vários vírus, num esquema de INF- α (3 mU, 3 vezes por semana) e RB (1000-1200 mg/dia) aumentava a resposta virológica sustentada de 6% para 31% e de 19% para 43% em pacientes submetidos a 24 e 48 semanas de tratamento, respectivamente (McHutchison et al. 1998, Poynard et al. 1998).

Com o avanço da biologia molecular e devido ao grande número de recidivas da hepatite C (baseado no aumento do nível de ALT ao final da terapia), atualmente, utiliza-se a detecção do RNA do HCV como parâmetro de resposta ao tratamento (Lauer & Walker 2001). A presença do RNA-HCV ao final da terapia indica alta possibilidade de não resposta ao tratamento, enquanto a sua ausência nesse período sugere resposta virológica, sendo que resposta virológica sustentada acontece quando não se detecta o RNA-HCV no soro após 24 semanas do término do tratamento (Dillon 2004).

As limitações do INF- α em monoterapia ou em combinação conduziram ao desenvolvimento de meios melhores de distribuição do mesmo para atingir níveis mais constantes no organismo (Dillon 2004). Isso tem sido obtido pela peguilação do INF- α , em que uma molécula de polietilenoglicol (PEG) foi ligada ao mesmo, resultando num composto maior e de mais difícil metabolização conhecido como INF-peguilado. Dessa maneira, ocorre formação de uma “barreira” ao redor do INF- α , que permite redução na taxa de eliminação e aumento da meia-vida do fármaco (Dillon 2004, Moreno-Otero 2004). A liberação lenta e progressiva do medicamento permite que o mesmo seja administrado semanalmente, reduzindo os efeitos colaterais e promovendo melhorias farmacocinéticas e farmacodinâmicas que resultam em maior eficiência na supressão da atividade viral (Zeuzem et al. 2000, Moreno-Otero 2004, Souvignet et al. 2007).

Estudos claramente indicam que a monoterapia com PEG-INF é significativamente superior ao INF- α no tratamento de pacientes com hepatite C crônica (Heathcote et al. 2000, Lindsay et al. 2001, Zeuzem et al. 2000). Além disso, a adição da ribavirina ao PEG-INF aumenta substancialmente o índice de resposta ao tratamento. Fried et al. (2002) reportaram que a resposta virológica sustentada com PEG-IFN α -2a, administrado num esquema de 180 μ g/sem por um período de 48 semanas, foi de 29%, enquanto esse índice foi de 56% quando associado à ribavirina (1000-1200 mg). Os melhores índices de resposta virológica sustentada ocorreram em indivíduos sob terapia com PEG-INF mais ribavirina, em doses que variam de 1000 a 1200 mg por 48 semanas (Hadziyannis et al. 2004).

Muitas variáveis podem influenciar no desenvolvimento ou não da resposta virológica sustentada, como idade, estágio de fibrose avançado, consumo de álcool, carga viral pré-tratamento, e principalmente o genótipo do HCV (Heathcote & Main 2005, Firpi & Nelson 2007). Pacientes infectados com genótipo 1 têm somente 45% a 57% de possibilidade de desenvolver resposta virológica sustentada após 48 semanas de tratamento com PEG-INF + RB (1000 a 1200 mg/dia), enquanto 70% a 85% daqueles infectados com genótipos 2 ou 3 apresentam essa resposta após o tratamento com PEG-INF + RB (800 mg/ dia) por 24 semanas (Hadziyannis et al. 2004, Ma et al. 2006).

A terapia com INF pode apresentar numerosos efeitos colaterais, sendo os mais comuns: náusea, cefaléia, mialgia, alopecia, ansiedade e depressão. Menos frequentemente, podem ser observados efeitos mais graves, como tentativa de suicídio, doença tireoideana irreversível, exacerbação de doenças auto-imunes e taquicardia paroxística (Lauer & Walker 2001, Dillon 2004). A ribavirina causa hemólise que pode levar a anemia. Em indivíduos com história de doença coronariana, insuficiência cardíaca e doença vascular cerebral pode ser necessária a redução da dose ou até interrupção do tratamento (Weigand et al. 2007).

O Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, do Ministério da Saúde (MS 2002, 2007), prevê que indivíduos com genótipo 1 em uso de PEG-INF associado a ribavirina ou não deverão se submeter a detecção do RNA viral por teste quantitativo após 12 semanas de tratamento, sendo naqueles em que não foram constatados negatificação do RNA viral ou redução de no mínimo 100 vezes da carga viral em relação ao pré-tratamento, a terapia deverá ser interrompida. Caso contrário, o tratamento prossegue e, na semana 48, novamente será feito testes de detecção do RNA (qualitativo), quando será finalizado o tratamento. Se o resultado for negativo, novo teste deverá ser realizado após 24 semanas para constatar a ocorrência de resposta virológica sustentada, caso o mesmo seja negativo. Já para os indivíduos infectados pelos genótipos 2 ou 3 sob terapia com INF- α associado a ribavirina, a detecção do RNA viral por teste qualitativo deverá ser realizado com 24 semanas de tratamento, quando o mesmo será interrompido, sendo os

indivíduos considerados não respondedores se o resultado for positivo. Por outro lado, nos casos negativos, o teste será repetido após 24 semanas e se, novamente negativo, o indivíduo será considerado respondedor ao tratamento.

Embora, a combinação da terapia de PEG-IFN e RB tenham aumentado significativamente as taxas de resposta virológica sustentada, muitos pacientes podem não tolerar a terapia ou não responderem a esse regime. Assim sendo, novas opções terapêuticas têm sido estudadas, como novos interferons e drogas alternativas a ribavirina, além de fármacos capazes de inibir a infecção e replicação do HCV na célula hospedeira (Firpi & Nelson 2007).

1.6. Prevenção e controle da infecção pelo vírus da hepatite C

A infecção pelo HCV continuará a ter um impacto global na saúde pública nos próximos anos, considerando as altas taxas de evolução para infecção crônica e falhas nas medidas efetivas para sua prevenção (Lauer & Walker 2001, Howie & Hutchinson 2004). Apesar dos avanços recentes no seu tratamento, a influência da terapia na população de pessoas infectadas cronicamente é relativamente pequena, uma vez que a maioria não está sob cuidados médicos (Kew et al. 2004). A vacinação seria a melhor estratégia para a prevenção dessa infecção, entretanto não é provável que ela esteja disponível num futuro próximo (Bruguera 2007).

A profilaxia com imunoglobulina e agentes antivirais pós-exposição não são recomendadas (Alter 2002, Bruguera 2007). Quando ocorre exposição ao vírus da hepatite C, o indivíduo exposto deve ser testado para anticorpos anti-HCV e níveis de enzimas hepáticas (ALT) logo que possível e em quatro a seis meses após exposição. Para diagnosticar infecção precoce o indivíduo pode ser submetido à detecção do RNA-HCV entre 4 e 6 semanas após a exposição (CDC 2003).

No presente, as estratégias para redução do potencial de risco de transmissão do HCV de doadores infectados, incluindo a triagem nos bancos

de sangue e a inativação do vírus em produtos derivados do plasma, têm sido bem estabelecidas (Alter 2002, Bruguera 2007). A tecnologia de amplificação do ácido nucléico (NAT) foi inicialmente implantada em 1999 na triagem de doadores de sangue em alguns países europeus e nos Estados Unidos, propiciando uma redução substancial do risco de transmissão do HCV por transfusão sangüínea (Saldanha et al 1999, Bruguera 2007). Ahlvarez do Barrio et al. (2005) observaram uma redução significativa no risco transfusional de transmissão do HCV na Espanha de 10,56/ 1 milhão de doações (1997-1999) para 3,94/ 1 milhão de doações (2000-2002).

Entretanto, as estratégias de redução e eliminação do risco potencial de transmissão do HCV associadas a comportamentos de alto risco necessitam ainda ser eficientemente implementadas (Lavanchy 2002). Neste sentido, pessoas em uso de drogas ilícitas ou comportamento sexual de alto risco devem ser aconselhadas pelos serviços de educação em saúde e orientadas sobre os riscos aos quais estão expostas, bem como as medidas de prevenção que devem ser seguidas (Lavanchy 2002, Kew et al. 2004).

De acordo com Kew et al. (2004), a prevenção primária enfatiza o aconselhamento de pessoas não infectadas sobre fatores de risco e formas de prevenção do HCV, bem como a orientação de portadores com o intuito de reduzir a propagação da infecção para outros indivíduos. Para sua efetiva implementação, é necessário um intenso processo de conscientização, além do conhecimento das principais fontes de infecção, devendo as pessoas infectadas serem esclarecidas sobre a impossibilidade de doarem sangue, órgãos, tecidos ou sêmen a outros indivíduos, não compartilharem objetos de higiene pessoal que possam entrar em contato com sangue, como escova de dente, lâmina de barbear, alicates de unha, dentre outros, além de serem aconselhados sobre o risco de transmissão sexual e, no caso de cônjugues, sobre a tomada de decisão na utilização ou não de métodos de proteção.

A prevenção secundária envolve atividades que visem à redução do risco de desenvolvimento de doença crônica e de agravos hepáticos associados ao HCV em indivíduos já infectados por meio de orientação e de

tratamento adequados (Alter 2002). É extremamente relevante que os pacientes sejam instruídos sobre fatores que possam influenciar no curso clínico da doença, acarretando mau prognóstico, como consumo de álcool e co-infecção com HBV e HIV (Lavanchy 2002). Esses programas frequentemente são implementados de maneira individual em cada país devido a variação de recursos disponíveis entre os mesmos (Wasley & Alter 2000). No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde (MS 2005), as medidas de prevenção primária e secundária têm sido bem estabelecidas.

1.7. Infecção pelo HCV em caminhoneiros

Os caminhoneiros de rota longa (deslocamentos com mais de 1000 km) representam uma categoria profissional de grande relevância para a economia do Brasil (Nascimento et al. 2007), uma vez que são responsáveis pela circulação de mercadorias fundamentais para o desenvolvimento do País (Medeiros et al. 2001, Ferraz et al. 2005). O setor de transportes congrega atualmente cerca de 2,5 milhões de trabalhadores, representando 6,5% do Produto Interno Bruto (PIB) do País. Segundo estimativas, o Brasil possui uma frota de veículos de aproximadamente um milhão e oitocentos mil caminhões e cerca de setecentos mil caminhoneiros que percorrem em média 122.000 km por ano (CNT 2007).

Os caminhoneiros têm uma rotina de trabalho extremamente cansativa e arriscada. Pressionados pelas empresas e pela própria situação sócio-econômica, esses trabalhadores se submetem a cumprir prazos muito curtos para a entrega de cargas, chegando a dirigir cerca de 18 horas por dia (Nascimento et al. 2007). Para isso, recorrem ao uso de substâncias psicoestimulantes capazes de os manterem em vigília por longos períodos, como as anfetaminas, ou ainda a drogas potencialmente mais fortes como a cocaína e o crack (Couper et al. 2002, Nossa 2003, Souza et al. 2005). A bebida alcoólica também é muito consumida por caminhoneiros, sendo uma das principais causadoras de acidentes e mortes no trânsito (Crouch et al. 1993, Souza et al. 2005).

Logo, devido a esses comportamentos e as características inerentes à profissão de caminhoneiro, esses trabalhadores estão constantemente sob risco de adquirir várias doenças, sejam elas crônico-degenerativas (Malinauskiene 2003, Moreno et al. 2006) ou infecciosas (Lacerda et al. 1997, Ramjee & Gouws 2002). Além disso, é importante ressaltar que essa categoria profissional apresenta grande dificuldade de acesso e/ou acompanhamento nos serviços de saúde devido aos constantes deslocamentos (Ferraz et al. 2005).

Até o momento, foram publicados apenas dois estudos realizados na população de caminhoneiros de rota longa, objetivando determinar a prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C. O primeiro foi realizado por Ghebrekidan et al. (1998) em 50 caminhoneiros na Eritréa, um país localizado no leste do continente africano, sendo verificada uma prevalência de 6,0% (IC 95%: 1,56-17,54). Posteriormente, Gibney et al. (2001) investigaram um grupo constituído de 388 auxiliares e motoristas de caminhão em Bangladesh (Ásia) e, uma prevalência de 0,8% (IC 95%: 0,2-2,4) foi encontrada.

1.8. Justificativa

As investigações epidemiológicas têm enfatizado a importância da identificação de grupos que apresentam prevalência elevada para infecção pelo vírus da hepatite C, uma vez que representam fontes de manutenção e disseminação dessa infecção a nível populacional.

Os caminhoneiros têm sido considerados como um possível grupo de risco para exposição a esse vírus (Gibney et al. 2001). O longo período que esses indivíduos permanecem fora de casa favorece a busca por relações sexuais ocasionais, incluindo profissionais do sexo (Podhisita et al. 1996, Villarinho et al. 2002, Jahani et al. 2003). Além disso, o uso abusivo de álcool e drogas ilícitas torna-os vulneráveis a situações de risco (Souza et al. 2005, Nossa 2003). Ainda, devido a alta mobilidade dessa população, os caminhoneiros podem ser disseminadores do HCV .

Contudo, são poucos os estudos na literatura sobre a infecção pelo HCV na população de caminhoneiros . Portanto, não existem estudos sobre a infecção pelo vírus da hepatite C nesse grupo populacional no Brasil. Assim sendo, a população escolhida como objeto do presente estudo foi constituída por caminhoneiros que trafegam na Rodovia Federal BR-153, que se estende do Pará (Belém) ao Rio Grande do Sul (Aceguá). Estes indivíduos possuem estilo de vida considerado como facilitador da transmissão viral, além do grande potencial para disseminação de outras doenças devido aos freqüentes e longos deslocamentos em curto período de tempo.

Neste estudo, pretende-se conhecer a prevalência da infecção pelo HCV, os fatores associados e os genótipos virais circulantes em caminhoneiros que trafegam na Rodovia Federal BR-153, Brasil. Assim sendo, as informações obtidas serão valiosas para o planejamento de ações efetivas e inovadoras para a prevenção e controle desta virose na população de caminhoneiros do Brasil, refletindo, assim, na qualidade de vida deste grupo, além da redução de custos diretos e indiretos com esta infecção.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Investigar o perfil epidemiológico e molecular da infecção pelo HCV em caminhoneiros de rota longa no Brasil, visando proporcionar informações para ações de prevenção e controle desta virose.

2.2 Objetivos específicos

- Estimar a prevalência do marcador anti-HCV em caminhoneiros de rota longa que trafegam na Rodovia Federal BR 153;
- Analisar os fatores de risco associados à infecção pelo HCV nestes caminhoneiros;
- Identificar os genótipos do HCV circulantes na população estudada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Delineamento do estudo

Estudo observacional, analítico de corte transversal.

3.2. População e local de estudo

A população estudada foi constituída de 641 caminhoneiros que trafegam na rodovia BR 153, em deslocamentos de longa distância, ou seja, maiores que 1000 km. A BR 153 é uma rodovia federal longitudinal de grande importância estratégica, onde trafegam caminhoneiros de todas as regiões do País. Essa possui cerca de 3.566,3 km, estendendo-se pelos Estados do Pará, Tocantins, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Figura 3).



Figura 3. Mapa da Rodovia BR-153, Brasil

Fonte: <http://www.transportes.gov.br/bit.trodo/br-153.jpg>

Acessado em: 06 de agosto de 2007

Para o cálculo da amostra, considerou-se uma prevalência estimada da infecção pelo HCV em torno de 3,0% (Ghebrekidan et al. 1998; Gibney et al. 2001) com uma precisão de 1,5%, sendo necessário estudar no mínimo 497 indivíduos, considerando um poder estatístico de 80% ($\beta=20\%$) e um nível de significância de 95% ($\alpha=0,05$).

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Materno Infantil, da cidade de Goiânia, Goiás.

3.3. Entrevista e coleta de sangue

As coletas de dados e de sangue foram realizadas no período de outubro de 2005 a agosto de 2006, nos finais de semana, em um galpão anexo a um posto de combustíveis situado no Km 1296 da BR-153, em Aparecida de Goiânia – GO. Esse local representa um importante ponto de apoio para os caminhoneiros que trafegam na BR-153, oferecendo uma variedade de serviços em lojas comerciais (Figura 4), como alimentação, barbearia, lavanderia, vestuário e produtos de higiene. Para a coleta, os caminonheiros eram abordados individualmente, à medida que chegavam ao posto, sendo então informados sobre o projeto e convidados a participarem do estudo (amostra de conveniência). Foram adotados os seguintes critérios de inclusão: ser caminhoneiro de longa distância (> 1.000 km); trafegar na rodovia BR 153; ser caminhoneiro por, no mínimo, um ano; consentir em participar do estudo mediante a devolução do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado (Anexo 1).

A coleta de dados foi realizada utilizando um questionário estruturado constituído por duas partes (Anexo 2). A primeira continha perguntas fechadas sobre dados sociodemográficos (sexo, idade, religião, renda mensal, estado civil, naturalidade, tempo de profissão, escolaridade e tempo de permanência fora do lar) e situações de risco associadas à hepatite C (antecedentes de reclusão, uso de droga ilícita e bebida alcoólica, presença de tatuagem, “piercing”, antecedente de hepatite e na família, transfusão sangüínea,

compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal, contato com sangue de outra pessoa e uso de estimulante para dirigir), sendo aplicadas pelo entrevistador face a face (Figura 5). A segunda parte, constituída por questões referentes a comportamentos de risco sexual (história de doença sexualmente transmissível, número de parceiros sexuais nos últimos seis meses, uso de preservativo, homossexualismo, relação sexual com profissional do sexo, parceiro sexual usuário de droga ilícita e uso de drogas e álcool durante as relações sexuais), foi auto-aplicável para minimizar viés de resposta. Nessa etapa, o entrevistador permanecia a disposição do entrevistado para esclarecimentos de eventuais dúvidas. A seguir, foram coletados 10 ml de sangue através de punção venosa, utilizando-se seringa e agulha descartáveis (Figura 6). O sangue obtido foi colocado em tubo de ensaio numerado, de acordo com o número do questionário. Os tubos foram transportados até o Laboratório de Virologia do IPTSP/UFG, onde os soros foram separados e estocados a -20°C até a realização dos ensaios.



Figura 4- Ponto de coleta

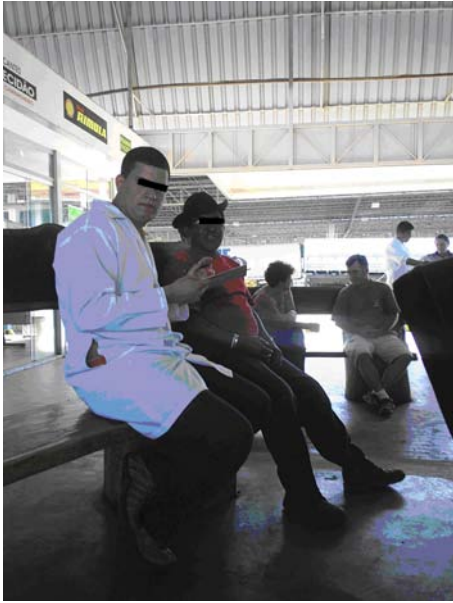


Figura 5- Entrevista com caminhoneiro



Figura 6- Coleta de sangue de caminhoneiro

3.4. Testes sorológicos

- **Anti-HCV**

ELISA - Todos os soros obtidos (n= 641) foram testados para detecção de anticorpos anti-HCV pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) de terceira geração, empregando-se reagentes comerciais (Bioelisa HCV Biokit, Espanha). As amostras e os controles positivos e negativos foram incubados em uma placa previamente sensibilizada com os antígenos recombinantes “core”, NS3, NS4 e NS5 do HCV. Após a incubação, a placa foi lavada. Em seguida, foi adicionado o conjugado (anticorpos anti-imunoglobulina humana marcados com peroxidase) e nova incubação realizada. Após segunda lavagem, procedeu-se a adição do substrato da enzima (peróxido de hidrogênio) e da solução cromógena (tetrametilbenzina – TMB). Depois de 30 minutos, a reação foi interrompida pela adição de ácido sulfúrico 1N. A leitura espectrofotométrica

em densidade ótica (D.O) foi obtida a 450 nm. Foi realizado o cálculo do “cut-off” (0,300 + média das absorbância dos controles negativos), sendo consideradas positivas as amostras que apresentaram absorbância maior ou igual a esse valor.

Immunoblot – As amostras reagentes ao anti-HCV foram retestadas por “line immunoassay” (Bioblot HCV, Biokit, Espanha). Essas amostras, assim como os controles positivos e negativos, foram incubados individualmente junto a tiras de nitrocelulose contendo as seguintes proteínas recombinantes do HCV: core, NS3, NS4 e NS5. Posteriormente, após a lavagem das fitas, adicionou-se o conjugado (anticorpos anti-imunoglobulina humana associados a fosfatase alcalina). Novos processos de incubação e lavagem foram realizados. A seguir, foi adicionado o substrato (bromo-cloro-indol-fosfato e nitroazul de tetrazolio) e, após 15 minutos de incubação, esse foi aspirado. As fitas foram retiradas dos seus compartimentos e colocadas em papel branco absorvente para análise. Os resultados foram avaliados visualmente, comparando-se a intensidade da cor das bandas correspondentes aos diferentes antígenos com as linhas controles (+1 a +3) e ao número de bandas reagentes, sendo considerado positivo quando ocorreu reatividade com dois ou mais antígenos, indeterminado (reatividade para um único antígeno) ou negativo (ausência de reatividade).

- **Anti-HBc**

A detecção do marcador anti-HBc total foi realizada nas 641 amostras com reagentes comerciais (Hepanostika anti-HBc Uni-Form, Biomérieux-Holanda). O princípio da reação era baseado em inibição competitiva. Cada câmara da placa era revestida com antígeno “core” do vírus da hepatite B (HBcAg). O conjugado era constituído de anticorpos anti-HBc humano interligado à enzima peroxidase. As amostras em teste e os controles negativo e positivo foram incubados juntamente com o conjugado durante 90 minutos a 37°C e, em seguida, a placa foi lavada com o tampão fosfato. Posteriormente, foi adicionada a solução substrato/cromógeno (tetrametilbenzidina/peróxido de uréia) e incubou-se por 30 minutos. Finalmente, a reação foi interrompida com

ácido sulfúrico a 1N e a leitura espectrofotométrica realizada em leitora de microplaca com uso de filtro simples (450 nm). O valor do “cut-off” foi obtido pela fórmula: $0,25 (CNx + 3CPx)$, onde “CNx” é igual ao valor médio das absorbâncias dos controles negativos e “CPx” ao dos controles positivos. Assim, foram consideradas amostras positivas, aquelas que apresentaram absorbância menor ou igual ao valor do “cut-off”.

3.5. Testes moleculares

Detecção do RNA-HCV - Todas as amostras anti-HCV positivas foram testadas para detecção do RNA viral pela RT-PCR, conforme os procedimentos do kit Versant, HCV Genotype Amplification - LiPA com modificações. O RNA foi extraído utilizando 150 µl de trizol, aos quais foram adicionados 50 µl de soro concentrado a partir de 200 µl de cada amostra previamente centrifugada em 13.000 rpm por 90 minutos. Após homogeneização, acrescentou-se 40 µl de clorofórmio (Merck) para separação das fases. Novo processo de homogeneização foi realizado, seguido de incubação e centrifugação (12.000 rpm). Posteriormente, a fase incolor, menos densa foi transferida para tubos contendo 20 µl de dextran (Armstrong) (1µg/µl) e 100 µl de isopropanol (Merck). Após centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e acrescentados 200 µl de etanol (Merck), com a finalidade de purificação e formação do sedimento (“pellet”). Novamente o sobrenadante foi descartado, e os tubos cuidadosamente secos com o auxílio de uma bomba de vácuo. O RNA obtido foi ressuspensão em 12 µl de água tratada com dietilpercarbonato (inativador da ribonuclease).

A transcrição reversa foi realizada com o iniciador randômico (Invitrogen), 200 U de transcriptase reversa do vírus da leucemia de Moloney (Invitrogen), 0,2 mM de cada dNTP (Armstrong, Bioscience), em um volume final de 24 µl (12 µl de RNA + 12 µl de mistura da TR) a 42°C, durante um período de 90 minutos.

Aproximadamente 8 µl do cDNA foram amplificados por “nested” PCR

com iniciadores específicos para a região 5' NC. Na primeira PCR, foram utilizados iniciadores externos [(CACTCCCCTGTGAGGAACTACTGTC) homólogo à posição -305 e (ATGGTGCACGGTCTACGAAGACCTCC) homólogo à posição 2]. A PCR foi realizada num volume final de 50 µl, na presença de 0,2 mM de cada dNTP, 3 mM de MgCl₂ e 1 U de enzima Taq DNA polimerase (Invitrogen). Após este preparo, a reação foi colocada no termociclador, onde o DNA foi desnaturado por aquecimento a 94°C por dois minutos, amplificado durante 35 ciclos a 94°C por 15 segundos, a 50°C por 45 segundos e a 72°C por um minuto, seguido por um alongamento de sete minutos a 72°C.

Após realização da primeira PCR, 2µl do produto obtido foram novamente amplificados utilizando primers internos [(TTCACGCAGAAAGCGTCTTAGCC) homólogo à posição -279 e (GGGCACTCGCAAGCACCCCTATCAGG) homólogo a posição -26], nas mesmas condições descritas acima, exceto pelo aumento da concentração de MgCl₂ por 5mM, segundo Ginabreda et al. (1997).

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% contendo brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta em um transluminador.

Para evitar contaminação, a extração e transcrição reversa do RNA, a preparação de reagentes pré-PCR, amplificação do DNA e a eletroforese em gel dos produtos da PCR foram realizadas em salas separadas.

Genotipagem do HCV - As amostras RNA-HCV positivas foram genotipadas pelo método "line probe assay" (Versant, HCV Genotype Assay). As seqüências genômicas do cDNA foram amplificadas novamente pela PCR com primers biotinizados complementares à região 5'NC do genoma do HCV. Esse ensaio permite a determinação dos seis principais tipos e subtipos mais comuns do HCV e consiste na hibridização reversa de produtos biotinizados da PCR com sondas tipo específicas, previamente imobilizadas em linhas paralelas nas tiras da membrana de nitocelulose. Após a hibridização, foi

adicionada uma solução de estreptovidina marcada com fosfatase alcalina que se liga ao híbrido biotinilado formado anteriormente. A revelação desse método consiste no desenvolvimento de cor púrpura nas amostras positivas, após a adição do substrato (bromo-cloro-indol-fosfato e nitroazul de tetrazolio). A reatividade dos fragmentos amplificados em uma ou mais linhas sobre as tiras permite o reconhecimento dos seguintes genótipos do HCV: 1a, 1b, 1, 2a/2c, 2b, 3a, 3b/3c, 3, 4a, 4b, 4c/4d, 4e, 4f, 4h, 4, 5a e 6a (Stuyver et al. 1993, 1996)

3.6. Processamento e análise dos dados

Os dados das entrevistas e os resultados dos testes sorológicos e moleculares foram digitados em microcomputador e analisados em programa estatístico “Epi Info 6” versão 6.04, desenvolvido pelo “Centers for Disease Control and Prevention”, Estados Unidos da América. Inicialmente, foi estimada a prevalência e risco de positividade ao anti-HCV pelo “Odds Ratio”, com os seus respectivos intervalos de confiança a 95% (IC 95%). Os fatores de risco com $p \leq 0,05$ pela análise univariada foram submetidos à análise multivariada por regressão logística hierárquica (SPSS versão 11.0 for Windows). Os testes de χ^2 para tendência e Exato de Fisher foram utilizados quando apropriados. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

4. RESULTADOS

A Tabela 1 mostra as características sócio-demográficas dos 641 caminhoneiros estudados. A média de idade destes indivíduos foi de 40,6 anos (desvio-padrão: 10,1), variando de 18 a 68 anos. Em relação ao sexo, houve predominância do masculino (99,2%).

Quanto ao estado civil, a grande maioria da população estudada era casada ou mantinha união consensual (77,7%), 15,4% eram solteiros e 6,9% separados ou viúvos. A respeito da escolaridade, 25,7% informaram ter cursado quatro ou menos anos de estudo, 43,1% entre cinco e oito anos e 31,2% referiram ter estudado por pelo menos nove anos.

Dentre os que informaram renda, constatou-se que 47,8% apresentavam uma renda mensal inferior a cinco salários mínimos (sm) e 52,2% entre cinco e 10 sm. Quanto à naturalidade, 1,9% dos indivíduos entrevistados eram da Região Norte, 8,9% do Nordeste, 7,7% do Centro-Oeste, 40,3% do Sudeste e 41,2% do Sul do Brasil. Em relação ao tempo de profissão, 37,4% referiram possuir 10 ou menos anos de trabalho, 31,4% entre 11 e 20 anos e 31,2% mais que 20 anos.

TABELA 1 – Características sócio-demográficas dos 641 caminhoneiros estudados que trafegam na rodovia BR-153, Brasil

Características	N	(%)
Média de idade ± dp (anos)	40,6 ±10,1	
Sexo		
Masculino	636	(99,2)
Feminino	5	(0,8)
Estado Civil		
Solteiro	99	(15,4)
Casado/união consensual	498	(77,7)
Separado ou viúvo	44	(6,9)
Escolaridade (anos)		
≤ 4	165	(25,7)
5 - 8	276	(43,1)
≥ 9	200	(31,2)
Renda Mensal (salários mínimos)		
< 5	305	(47,8)
5 - 10	333	(52,2)
Sem informação 3		
Naturalidade (Região)		
Norte	12	(1,9)
Nordeste	57	(8,9)
Centro-Oeste	49	(7,7)
Sudeste	257	(40,3)
Sul	263	(41,2)
Sem informação 3		
Tempo de Profissão (anos)		
≤ 10	239	(37,4)
11-20	201	(31,4)
> 20	200	(31,2)
Sem informação 1		

dp= desvio-padrão

Inicialmente, as 641 amostras provenientes da população de caminhoneiros foram triadas para detecção de anticorpos para o HCV, sendo

10 (1,6%) reagentes pelo ELISA. Destas, nove (1,4%) foram positivas e uma (0,2%) indeterminada pelo teste imunoblot, resultando em uma prevalência de 1,4% (IC 95%: 0,7-2,8) na população estudada (Tabela 2). Posteriormente, todos os soros anti-HCV reagentes pelo ELISA foram submetidos à detecção do RNA viral pela PCR, resultando em oito amostras RNA-HCV positivas, as quais foram também anti-HCV positivas pelo imunoblot.

TABELA 2 – Prevalência de anticorpos para o vírus da hepatite C (anti-HCV) em 641 caminhoneiros que trafegam na BR 153, Brasil

Anti-HCV	Positivo		(IC 95%)
	N	%	
Anti-HCV			
ELISA	10	1,6	(0,8-3,0)
Imunoblot	9	1,4	(0,7-2,8)

IC=Intervalo de confiança

Os fatores de risco associados à infecção pelo HCV nos caminhoneiros do sexo masculino (n=636), com seus respectivos intervalos de confiança, são mostrados na Tabela 3. Pela análise univariada, observou-se como fatores de risco associados à infecção pelo HCV: compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal, uso de droga ilícita e soropositividade ao HBV (anti-HBc, considerado marcador de exposição ao vírus da hepatite B).

Contudo, após a análise multivariada, configurou-se como fatores de risco para a aquisição do vírus da hepatite C nesta população: uso de droga ilícita (risco: 8,8 vezes; IC 95%: 1,9 - 41,7) e soropositividade ao HBV (risco: 5,6 vezes; IC 95%: 1,2 - 25,3) (Tabela 4).

TABELA 3- Análise univariada dos fatores de risco associados à infecção pelo HCV em 636 caminhoneiros do sexo masculino que trafegam na rodovia BR-153, Brasil

Variáveis	Anti-HCV		Estimativa de risco (IC 95%)	p
	Positivo	Total (%)		
Idade				
≤40 anos	3 / 330	(0,9)	1,0	0,32
>40 anos	6 / 306	(2,0)	2,2 (0,5-8,8)	
Escolaridade				
≥9 anos	3 / 197	(1,5)	1,0	0,31
5 a 8 anos	1 / 274	(0,4)	0,24 (0,0-2,5)	
<5 anos	5 / 164	(3,0)	2,0 (0,4-10,9)	
Sem informação	1			0,47

Transusão de sangue				
Não	6 / 560	(1,1)	1,0	
Sim	3 / 62	(4,8)	4,7 (1,1-19,2)	0,05
Sem informação 14				
Tatuagem				
Não	8 / 582	(1,4)	1,0	
Sim	1 / 54	(1,9)	1,4 (0,2-11,0)	0,55
Compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal				
Não	5 / 543	(0,9)	1,0	
Sim	4 / 87	(4,6)	5,2 (1,4-19,7)	0,02
Sem informação 6				
Tempo que permanece fora de casa				
≤15 dias	1 / 124	(0,8)	1,0	
>15 dias	8 / 512	(1,6)	1,9 (0,3-15,7)	1,00
Tempo de profissão				
≤10 anos	1 / 236	(0,4)	1,0	
11-20 anos	5 / 200	(2,5)	6,0 (0,7-137,4)	0,09
>20 anos	3 / 200	(1,5)	3,6 (0,3-89,9)	0,33
Uso de droga ilícita				
Não	4 / 383	(1,0)	1,0	
Sim	4 / 71	(5,6)	5,6 (1,4-23,2)	0,02
Sem informação 182				
Relação sexual com usuários de droga ilícita				
Não	8 / 608	(1,3)	1,0	
Sim	1 / 24	(4,2)	3,3 (0,4-27,2)	0,29
Sem informação 4				
Uso de droga ilícita antes ou durante a relação sexual				
Não	3 / 57	(5,3)	1,0	
Sim	1 / 12	(8,3)	1,6 (0,2- 17,2)	0,67
Sem informação 2				
Consumo de bebida alcoólica				
Não	2 / 161	(1,2)	1,0	
Sim	7 / 475	(1,5)	1,2 (0,2-5,8)	0,83

TABELA 3- Análise univariada dos fatores de risco associados à infecção pelo HCV em 636 caminhoneiros do sexo masculino que trafegam na rodovia BR-153, Brasil (continuação)

Variáveis	Anti-HCV Positivo / Total	(%)	Estimativa de risco (IC 95%)	p
Consumo de álcool antes ou durante relação sexual				
Não	4 / 350	(1,1)	1,0	
Sim	5 / 278	(1,8)	1,6 (0,4-5,9)	0,74
Sem informação 8				
Relação sexual com profissional do sexo				
Não	4 / 287	(1,4)	1,0	
Sim	4 / 344	(1,2)	0,8 (0,2-3,3)	1,00

Sem informação 5

Uso de preservativo na última relação sexual

Sim	4 / 307	(1,3)	1,0	
Não	5 / 320	(1,6)	1,2 (0,3-4,5)	1,00
Sem informação	9			

Antecedentes de DST

Não	5 / 386	(1,3)	1,0	
Sim	3 / 219	(1,4)	1,1 (0,2-4,6)	0,81
Sem informação	31			

HBV (Anti-HBc)

Negativo	4 / 519	(0,9)	1,0	
Positivo	5 / 117	(4,6)	5,2 (1,4-19,7)	0,02

IC= Intervalo de confiança.

DST= Doença sexualmente transmissível.

HBV= Vírus da hepatite B.

TABELA 4 – Análise multivariada dos fatores de risco associados à infecção pelo HCV em 636 caminhoneiros do sexo masculino que trafegam na rodovia BR-153, Brasil

Variáveis	Estimativa de Risco (IC 95%)		p
	Não ajustada	Ajustada	
Idade			
≤ 40 anos	1,0	1,0	
> 40 anos	2,2 (0,5-8,8)	4,3 (0,7-25,4)	0,11

Transfusão de sangue			
Não	1,0	1,0	
Sim	4,7 (1,1-19,2)	3,2 (0,5-19,7)	0,20
Compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal			
Não	1,0	1,0	
Sim	5,2 (1,4-19,7)	3,5 (0,6-19,4)	0,15
Uso de droga ilícita			
Não	1,0	1,0	
Sim	5,6 (1,4-23,2)	8,8 (1,9-41,7)	0,00
HBV (Anti-HBc)			
Negativo	1,0	1,0	
Positivo	5,2 (1,4-19,7)	5,6 (1,2-25,3)	0,03

Estimativa de risco ajustada para idade, transfusão sangüínea, compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal, uso de droga ilícita e soropositividade ao HBV.

IC=Intervalo de confiança

HBV=Vírus da hepatite B

A genotipagem do vírus da hepatite C, realizada nas amostras RNA-HCV positivas, mostrou a presença dos genótipos 1, 2 e 3. Das oito amostras genotipadas, os tipos 1 e 3 foram igualmente identificados em três (37,5%) amostras, e o tipo 2 foi verificado em duas (25,0%) amostras de caminhoneiros que trafegam na BR-153, Brasil (Figura 7).

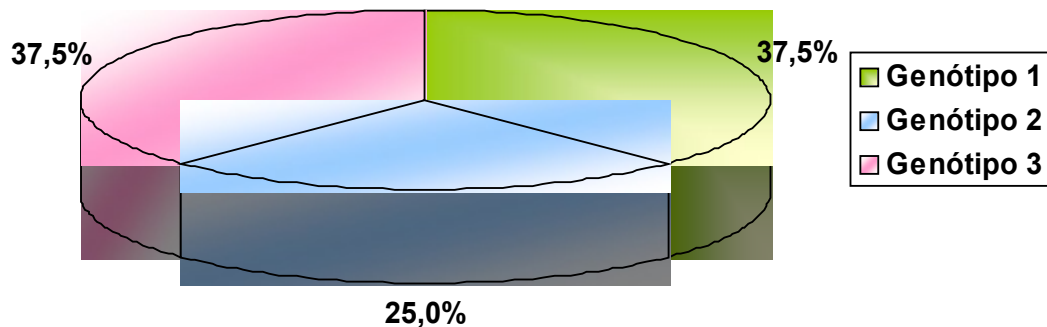


FIGURA 7 - Distribuição dos genótipos do vírus da hepatite C em caminhoneiros que trafegam na BR-153, Brasil.

Em relação à subtipagem, dentre as amostras do genótipo 1, uma foi identificada como subtipo 1b, enquanto que para as duas restantes não foi possível uma distinção precisa entre os subtipos 1a e 1b. Já as amostras dos tipos 2 e 3 apresentaram-se como dos subtipos 2b e 3a, respectivamente.

A Tabela 5 mostra as características de risco e genótipos do vírus da hepatite C em indivíduos portadores do HCV. Observou-se que a idade variou de 35 a 58 anos, sendo os oito do sexo masculino. Foram referidas as seguintes características de risco: transfusão de sangue (2/8), compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal (3/8), uso de droga ilícita (4/8), relação sexual com profissional do sexo (4/8), não uso de preservativo (3/8) ou uso ocasional (2/8), consumo de álcool antes ou durante relação sexual (4/8) e DST (2/8). Verificou-se soropositividade ao HBV em 62,5% dos caminhoneiros infectados pelo HCV. Todos os entrevistados tinham 12 ou mais anos de profissão. A maioria permanecia fora de casa por 10 ou mais dias. Os resultados mostraram ainda que, dos três indivíduos procedentes da Região Sul, dois eram portadores do genótipo 3 (Rio Grande do Sul e Santa Catarina) e um do genótipo 2 (Paraná). Dos quatro entrevistados da Região Sudeste (São Paulo), três apresentaram o genótipo 1 e um o genótipo 2.

Apenas um era proveniente da Região Nordeste (Ceará), sendo o mesmo infectado pelo genótipo 3.

TABELA 5 - Características de risco e genótipos do vírus da hepatite C em caminhoneiros infectados, Brasil

Características/Genótipos	Caminhoneiros							
	71	96	127	232	256	263	358	371
Idade (anos)	36	43	58	46	35	48	47	48
Sexo	M	M	M	M	M	M	M	M
Transfusão sanguínea	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
Compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não
Uso de droga ilícita	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Não
Relação sexual com profissional do sexo	Não	Sim	Sim	Sim	Não	S/Inf	Sim	Não
Uso de preservativo	Não	Não	Sim	As vezes	As vezes	Sim	Sim	Não
Consumo de bebida alcoólica antes ou durante relação sexual	Sim	Não	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim
DST	Sim	Não	Não	S/Inf	Não	Não	Sim	Não
HBV	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim
Anos de profissão	17	12	18	25	12	15	22	22
Tempo de permanência fora de casa (dias)	35	8	10	10	10	10	15	20
Procedência	RS	CE	SP	SC	SP	SP	PR	SP
Genótipos	3	3	1	3	2	1	2	1

M= masculino

DST= Doença sexualmente transmissível

HBV= Vírus da hepatite B

5. DISCUSSÃO

A prevalência mundial da infecção pelo vírus da hepatite C é de aproximadamente 3%, apresentando considerável variação em diferentes grupos populacionais e regiões geográficas (Shepard et al. 2005, Alter 2007). Outrossim, são poucos os estudos sobre a infecção pelo vírus da hepatite C em caminhoneiros. Ressalta-se que a presente dissertação foi a primeira investigação realizada em caminhoneiros de rota longa no Brasil, a qual

objetivou o conhecimento da soroprevalência, fatores associados e genótipos circulantes do HCV em uma população de caminhoneiros que trafegam na rodovia BR-153, não representando, portanto, toda a população.

Ao analisar as características sócio-demográficas de 641 caminhoneiros que trafegavam na BR-153, observou-se que dados como predomínio de indivíduos do sexo masculino, casados ou unidos consensualmente foram semelhantes aos verificados também em caminhoneiros brasileiros por Lacerda et al. (1997), em Santos, e Lippman et al. (2007), na Região Sul. A média de idade da população estudada (40,6 anos) assemelhou-se à encontrada por Lippman et al. (2007) (40 anos). Em relação à escolaridade, a maioria dos indivíduos apresentou até oito anos de estudo. Índice este similar aos verificados por Ferraz et al. (2005), em caminhoneiros de Minas Gerais, e por Vilarinho et al. (2002), em caminhoneiros de rota curta (menos que 50 km) na cidade de Santos, Brasil. Mais de 50% da população estudada relatou renda mensal entre cinco e 10 salários mínimos. Ferraz et al. (2005) encontraram rendimento mensal semelhante em caminhoneiros autônomos. Quanto ao tempo de profissão, houve ligeiro predomínio de indivíduos com até 10 anos de trabalho. Dado concordante ao verificado por Lippman et al. (2007). Portanto, o perfil sócio-demográfico da população de caminhoneiros estudada se configura como homens de meia idade, com escolaridade menor ou igual a 8 anos (aproximadamente 70%), pertencentes as classes sociais B2 e C (IBGE 2006), com pelo menos 10 anos de profissão e provenientes, principalmente, das Regiões Sudeste e Sul do Brasil.

Neste estudo, a prevalência global da infecção pelo vírus da hepatite C de 1,4% (IC 95%: 0,7-2,8) foi similar à observada na população em geral no Estado de São Paulo (1,4%) (IC 95%: 0,7-2,1) por Focaccia et al. (1998), b como está de acordo com os resultados preliminares do inquérito nacional conduzido nas capitais brasileiras (0,94% a 1,89% na faixa etária de 10 a 69 anos) (MS 2008). Percentuais semelhantes foram encontrados em doadores de sangue na Região Sudeste (0,9%; IC 95%: 0,8-1,0 e 1,2%; IC 95%: 1,0-1,3) por Andrade et al. (2006) e Valente et al. (2005), respectivamente e, inferior no sul do País (0,34%) (IC 95%: 0,3-0,4) por Rosini et al. (2003).

Em relação à população caminhoneira, a prevalência verificada neste estudo não foi estatisticamente diferente das encontradas por Gibney et al. (2001) (0,8%) (IC 95%: 0,2-2,4), em caminhoneiros em Bangladesh, e por Ghebrekidan et al. (1998) em caminhoneiros na Eritréa (6,0%) (IC 95%: 1,6-17,5), localizada no leste da África, região de endemicidade elevada para o HCV (Shepard et al. 2005).

Os testes suplementares ou confirmatórios são utilizados para evidenciar real positividade ao anti-HCV (ELISA), sendo fundamentais para a eliminação de resultados falso-positivos especialmente em populações de baixo risco (Erensoy 2001). Na presente investigação, das dez amostras reagentes no ELISA, nove foram positivas pelo immunoblot e uma indeterminada, resultando numa taxa de 90% de confirmação da positividade para anti-HCV. Resultados semelhantes foram verificados em grupos considerados de risco, como hemodialisados (90,1%) (Carneiro et al. 2001) e transplantados renais (90,7%) (Botelho 2005).

Dentre nove amostras anti-HCV reagentes, oito foram RNA-HCV positivas, revelando um índice de viremia de 88,8% nos indivíduos expostos ao HCV. Índices menores foram mostrados por outros autores em doadores de sangue: 50,0% (Vivas-Arceo et al. 2003), 71,0% (Thakral et al. 2006), 71,5% (Amorin et al. 2004) e 80,0% (Martins et al. 2006). Por outro lado, percentuais similares ou maiores foram encontrados por Gonçalves et al. (2000) (88,2%), Muñoz-Gómez et al. (1996) (96,1%) e Ren et al. (2005) (96,4%). Portanto, o resultado do presente estudo se mostra concordante com outros reportados na literatura. Já a amostra cuja positividade para anti-HCV foi confirmada por immunoblot, na ausência do RNA viral, pode ser explicada como infecção passada, viremia intermitente ou resultado falso-negativo pela PCR (Scott & Gretch 2007).

Os resultados deste estudo mostraram, pela análise univariada, que compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal, uso de droga ilícita e exposição ao vírus da hepatite B (reatividade ao Anti-HBc) apresentaram-se

estatisticamente associados ao anti-HCV. Outros estudos apresentaram também esses fatores como de risco para a infecção pelo HCV em doadores de sangue na Tailândia (Thaikruea et al. 2004, Tanwandee et al. 2006), na população em geral em Porto Rico (Perez et al. 2005) e indivíduos co-infectados HCV/HIV no Brasil (Vogler et al. 2004).

Após a análise multivariada, relato de uso de droga ilícita e exposição ao vírus da hepatite B permaneceram associados à infecção pelo vírus da hepatite C. Os entrevistados que fizeram uso de droga ilícita apresentaram chance 8,8 (IC 95%: 1,9-41,7) vezes maior para a aquisição do HCV. Tem sido reportado na literatura que, na atualidade, o uso de drogas ilícitas é o principal fator de risco para a infecção para o HCV (Alavian et al. 2002, Quaglio et al. 2003a, Orton et al. 2004, Perez et al. 2005, Galperim et al. 2006, Adjei et al. 2007). No presente estudo, verificou-se que os quatro indivíduos usuários de droga ilícita anti-HCV positivos referiram uso de droga não injetável. Usuários de drogas não injetáveis apresentam risco aumentado para a aquisição do HCV (Howe et al. 2005, Scheinmann et al. 2007), com taxas de prevalência variando de 2,3% a 35,3% (Santana Rodriguez et al. 1998, Galperim et al. 2004). Estudos sugerem que a eficiência da transmissão do HCV possa estar relacionada ao tempo de exposição à droga (Gyarmathy et al. 2002, Quaglio et al. 2003b), compartilhamento de equipamentos para o uso da mesma (Tortu et al. 2004, Neaigus et al. 2007) e práticas sexuais não seguras (Howe et al. 2005).

Neste estudo, indivíduos expostos ao vírus da hepatite B mostraram chance 5,6 (IC 95%: 1,2-25,3) vezes maior para a infecção pelo HCV. Resultados semelhantes foram demonstrados em população de risco, como usuários de drogas (Quaglio et al. 2003a, Maher et al. 2004), e mesmo na população em geral (Perez et al. 2005). Em Santos, Brasil, Segurado et al. (2004) revelaram que, dentre os indivíduos co-infectados pelo HIV, aqueles que tinham evidência sorológica de exposição ao HBV apresentavam 2,7 vezes mais chance (IC 95%: 1,8-3,9) de adquirir o HCV quando comparados a indivíduos não expostos ao HBV. Além disso, várias publicações têm mostrado índices elevados de co-infecção HCV e HBV (Chakravarte et al. 2005, Reimer

et al. 2005, Ballester et al. 2005). Isto pode ser explicado pelo fato de ambos os vírus possuírem vias de transmissão comuns.

Embora história de hemotransfusão e compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal não tenham sido independentemente associados à infecção pelo HCV, esses fatores apresentaram freqüências elevadas dentre os indivíduos anti-HCV positivos (33,3% e 44,4%, respectivamente). A hemotransfusão foi o fator de risco mais importante para a aquisição do vírus da hepatite C antes da introdução dos testes de triagem para esse vírus nos bancos de sangue, no entanto esse risco tem diminuído substancialmente (Gonzalez et al. 2005b, Offergeld et al. 2005, Pillonel et al. 2005, O'Brien et al. 2007, Shang et al. 2007). Ainda, quanto ao compartilhamento de objetos cortantes de uso pessoal, outros estudos revelaram que tal prática pode ser um fator de risco para a transmissão do vírus da hepatite C (Méndez-Sánchez et al. 2005, Reis 2006).

Todas as amostras RNA-HCV positivas dos caminhoneiros foram genotipadas, sendo verificados os tipos 1 (37,5%), 2 (25,0%) e 3 (37,5%) do HCV. Estes resultados estão de acordo com outras investigações realizadas no Brasil. Martins et al. (2006), estudando doadores de sangue na Região Centro-Oeste, verificaram também a presença dos mesmos tipos do HCV. Ao analisar 1688 amostras de pacientes cronicamente infectados pelo vírus da hepatite C de todas as regiões do país, Campiotto et al. (2005) encontraram cinco genótipos (1 a 5), sendo os tipos 1, 2 e 3 os mais prevalentes e com circulação em todas as regiões do Brasil. O genótipo 3 foi identificado em 30,2% das amostras analisadas, com maior prevalência na Região Sul. Similarmente, outros autores também demonstraram alta prevalência do genótipo 3 na Região Sul (Krug et al. 1996, Oliveira et al. 1999b, Foccacia et al. 2004, Galperim et al. 2006, Silva et al. 2007). Esses resultados podem explicar a procedência do sul de dois (um do RS e outro de SC) dos três indivíduos infectados pelo genótipo 3 do HCV. Dos quatro caminhoneiros provenientes da Região Sudeste, três apresentaram o genótipo 1 e, um o genótipo 2. O predomínio do tipo 1 no sudeste do País foi reportado por outros autores

(Oliveira et al. 1999a, Focaccia et al. 2004, Campiotto et al. 2005, Farah et al. 2007).

Dentre as amostras do genótipo 1, uma foi identificada como subtipo 1b, enquanto para as duas restantes não foi possível distinguir com clareza entre os subtipos 1a e 1b. Outros estudos já reportaram a inabilidade do LiPA em identificar subtipos corretamente, especialmente 1a e 1b (Chen & Weck 2002, Ohman et al. 2004, Laperche et al. 2005b, Espírito-Santo et al. 2007). Esses subtipos são confundidos com frequência, porque a identificação dos mesmos pela análise da região 5'NC é baseada na substituição de uma única base nitrogenada (adenina por guanina) no nucleotídeo da posição -99 (Chen & Weck 2002). Estudos já demonstraram que a região 5'NC, por ser altamente conservada, é preferida para a detecção do RNA viral e genotipagem, porém é menos precisa para a subtipagem (Corbert et al. 2003, Cantaloube et al. 2006). Portanto, sugerimos o seqüenciamento da região NS5B para a confirmação dos genótipos encontrados, bem como para a determinação dos subtipos do HCV na população estudada.

Apesar dos comportamentos de risco para infecção pelo HCV associados à transmissão parenteral serem bem documentados na literatura (Shi et al. 2005, Kerzman et al. 2007, McMahon et al. 2007), há ainda controvérsias quanto à importância da transmissão sexual (Brandão & Fuchs 2002, Gyarmaphy et al. 2002, Ladrón-de Guevara et al. 2002). As características de risco referidas pelos caminhoneiros infectados pelo HCV foram transfusão sanguínea, compartilhamento de objeto cortante de higiene pessoal, uso de droga ilícita, consumo de bebida alcoólica antes ou durante relação sexual, relação sexual com profissional do sexo, não uso ou uso esporádico de preservativo e DST, além de evidência sorológica de exposição ao HBV. Verificou-se que, seis dentre os oito indivíduos infectados pelo HCV relataram história de transfusão ou uso de droga ilícita, além de outras características relacionadas à transmissão parenteral e/ou sexual. Dos dois caminhoneiros restantes (256 e 371), um referiu como comportamento de risco o uso ocasional de preservativo, e o outro consumo de bebida alcoólica aliado a relação sexual sem preservativo, além da constatação de evidência

sorológica de exposição ao HBV. Assim, pode-se supor que relação sexual desprotegida seria uma conseqüência do consumo de álcool. Outros estudos também demonstraram que o consumo de bebida alcoólica pode ser um fator de risco para infecção pelo HCV (Rosman et al. 1996, Srugo et al. 1998, Prakrash et al. 2002), assim como relação sexual desprotegida (Inciardi et al. 2006, Firestone et al. 2007).

Verificou-se que todos os caminhoneiros infectados pelo HCV permaneciam pelo menos oito dias fora de casa e possuíam no mínimo 12 anos de profissão. De acordo com Lankoande et al. (1998), o longo tempo de permanência fora de casa favorece a ocorrência de relações sexuais com diversas parceiras ocasionais sem proteção, o que pode implicar na transmissão de doenças pela via sexual. Ademais, os vários anos de profissão poderiam significar maior tempo de exposição a situações de risco para aquisição do HCV pelos caminhoneiros (Lippman et al. 2007).

Os resultados do presente estudo mostraram uma prevalência semelhante à reportada na população em geral de São Paulo (1,4%) (Focaccia et al. 1998), bem como à que está sendo encontrada (1,4%) no inquérito nacional conduzido nas capitais brasileiras (Turchi MD, comunicação pessoal). Outrossim, reforçam a importância da investigação epidemiológica neste grupo, uma vez que o desconhecimento da infecção, vias de transmissão e formas de prevenção podem resultar na manutenção e disseminação desta virose a nível populacional devido a alta mobilidade dos caminhoneiros, o que foi evidenciado com os genótipos virais encontrados. Além disso, os fatores associados à positividade ao HCV, como uso de droga ilícita, devem ser considerados no planejamento de ações para a prevenção e controle da infecção pelo vírus da hepatite C na população de caminhoneiros brasileiros.

6- CONCLUSÕES

- ❖ A prevalência do marcador anti-HCV de 1,4% em caminhoneiros que trafegam na Rodovia Federal BR-153, Brasil, corrobora a endemicidade intermediária desta infecção no País;

- ❖ Uso de droga ilícita e exposição ao vírus da hepatite B (reatividade ao Anti-HBc) mostraram-se como fatores de risco independentemente associados à infecção pelo vírus da hepatite C na população estudada;
- ❖ Os resultados obtidos indicam a circulação dos tipos 1 (37,5%), 2 (25,0%) e 3 (37,5%) do HCV na população estudada, refletindo a distribuição desses genótipos no Brasil e a alta mobilidade deste grupo;
- ❖ Os resultados deste estudo mostram a importância da adoção das medidas de prevenção da infecção pelo HCV na população de caminhoneiros, visando minimizar o risco a que estão expostos.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adjei AA, Armah HB, Gbagbo F, Ampofo WK, Quaye IK, Heese IF, Mensah 2007. Correlates of hepatitis C virus infection among incarcerated Ghanaians: a national multicentre study. *J Med Microbiol* 56 (3): 391-397.

Ahlvarez do Barrio M, González DR, Hernández SJM, Oyonarte GS 2005. Residual risk of transfusion-transmitted viral infections in Spain, 1997-2002, and impact of nucleic acid testing. *Euro Surveill* 10 (2): 20-22.

Ahmad N, Asgher M, Shafique M, Qureshi JA 2007. An evidence of high prevalence of hepatitis C virus in Faisalabad, Pakistan. *Saudi Med J* 28 (3): 390-395.

Airoid J, Berghella V 2006. Hepatitis C and Pregnancy. *Obstel Ginecol Surv* 61 (10): 666-672.

Akthar S, Moatter T, Azam SI, Rahbar MH, Adil S 2002. Prevalence and risk factors for intrafamilial transmission of hepatitis C virus in Karachi, Pakistan. *J Viral Hepat* 9: 309-314.

Alavian SM, Gholami B, Masarrat S 2002. Hepatitis C risk factors in Iranian volunteer blood donors: A case-control study. *J Gastroenterol Hepatol* 17: 1092-1097.

Alberti A, Benvegnù L 2003. Management of hepatitis C. *J Hepatol* 38: 104-118.

Alter HJ 1992. New kit on the block: evaluation of second-generation assays for antibody to the hepatitis C virus. *Hepatol* 15 (2): 350-353.

Alter MJ 1995. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin Liver Dis* 15 (1): 5-14.

Alter HJ, Seeff LB 2000. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective a long-term outcome. *Semin Liver Dis* 20 (1): 17-35.

Alter MJ 2002. Prevention of spread of hepatitis C. *Hepatology* 36 (5): 93-98.

Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L 2003. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. *MMWR Recomm Rep* 52: 1-13.

Alter MJ 2007. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 13 (17): 2436-2441.

Amorin RMS, Oliveira CP, Wyant OS, Cerqueira DM, Câmara GNL, Flores LS, Martins RMB, Martins CRF 2004. Hepatitis C virus genotypes in blood donors from the Federal District, Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99 (8): 895-897.

Andrade AFB, Oliveira-Silva M, Silva SGC, Motta IJF, Bonvicino CR 2006. Seroprevalence of hepatitis B and C virus markers among blood donors in R de Janeiro, Brazil, 1998-2005. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101 (6): 673-676.

Aoyagi K, Ohue C, Iida K, Kimura T, Tanaka E, Kiyosawa K, Yagi S 1999. Development of a simple and highly sensitive enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen. *J Clin Microbiol* 37 (6): 1802-1808.

Baek KH, Park HY, Kang CM, Kim SJ, Jeong SJ, Hong EK, Park JW, Sung YC, Suzuki T, Kim CM, Lee CW 2006. Overexpression of hepatitis C virus NS5A protein induces chromosome instability via mitotic cell cycle dysregulation. *J Mol Biol* 359 (1): 22-34.

Ballester JM, Rivero RA, Villaescusa R, Merlin JC, Arce AA, Castillo D, Lam RM, Ballester A, Almaguer M, Melians SM, Aparício JK 2005. Hepatitis C virus antibodies and other markers of blood-transfusion-transmitted infection in multi-transfused Cuban patients. *J Clin Virol* 34 (Suppl 2): S39-S46.

Barbosa AP 1998. Estudo soroepidemiológico e genotipagem do vírus da hepatite C em hemofílicos em Goiânia-Goiás. 82p. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical: Doenças Infecciosas e Parasitárias) – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

Barbosa VS, Silva NA, Martins RMB 2005. Hepatitis C virus seroprevalence and genotypes in patients with diffuse connective tissue diseases and spondyloarthropathies. *Braz J Med Biol Res* 38: 801-805.

Bartosch B, Cosset F-L 2006. Cell entry of hepatitis C virus. *Virology* 348: 1-12.

Bdour S 2002. Hepatitis C virus infection in jordanian haemodialysis units serological diagnosis and genotyping. *J Med Microbiol* 51: 700-704.

Bogaerts J, Ahmed J, Akhter N, Begum N, Rahman M, Nahar S, Van Ranst M, Verhaegen J 2001. Sexually transmitted infections among married women in Dhaka, Bangladesh: unexpected high prevalence of herpes simplex type 2 infection. *Sex Transm Inf* 77: 114-119.

Botelho, SM 2005. Perfil soroepidemiológico em Goiás da infecção pelo vírus da hepatite C na população de transplantados renais. 74p. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical/Doenças Infecciosas e Parasitárias) – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

Bourliere M, Barberin JM, Rotily M, Guagliardo V, Portal I, Lecomte L, Benalli S, Boustiere C, Perrier H, Jullien M, Lambot L, Loyer L, LeBars O, Daniel R, Khiri H, Halfon P 2002. Epidemiological changes in hepatitis C virus genotypes in France: evidence in intravenous drug users. *J Viral Hepat* 9: 62-70

Boxall E, Baumann K, Price N, Sira J, Brown M, Kelly D 2007. Discordant outcome perinatal transmission of hepatitis C in twin pregnancies. *J Clin Virol* 38 (2): 91-95.

Bradrick SS, Walters RW, Gromeier M 2006. The hepatitis C virus 3'-untranslated region or a poly(A) tract promote efficient translation subsequent to the initiation phase. *Nucleic Acids Res* 34 (4): 1293-1303.

Brandão ABM, Fuchs SC, Silva MAA, Emer LF 2001. Diagnóstico na prática médica: revisão da literatura. *Pan Am J. Public Health* 9 (3): 161-168.

Brandão ABM, Fuchs SC 2002. Risk factors for hepatitis C virus infection among blood donors in southern Brazil: a case-control study. *BMC Gastroenterol* 2: 1-8.

Brass V, Moradpour D, Blum HE 2006. Molecular of virology of hepatitis C virus (HCV): 2006 update. *Int J Med Sci* 3 (2): 29-34.

Bruguera M 2007. Prevención de las hepatitis virales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 24 (10): 649-656.

Bruguera M, Tapias JMS 2000. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *Nephrol Dial transplant* 15 (Suppl 8): S12-S14.

Busek S, Oliveira G 2003. Molecular epidemiology of the hepatitis C virus in Brazil. *Genet Mol Res* 2 (1): 117-123.

Campello C, Poli A, Dal MG, Besozzi-Valentini F 2002. Seroprevalence, viremia and genotype distribution of hepatitis C virus: a community-based population study in northern Italy. *Infection* 30: 7-12.

Campiotto S, Pinho JRR, Carrilho FJ, Da Silva LC, Souto FJD, Spinelli V, Pereira LMMB, Coelho HSM, Silva AO, Fonseca JC, Rosa H, Lacet CMC, Bernardini AP 2005. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. *Braz J Med Biol Res* 38 (1): 41-49.

Cantaloube J-F, Gallian P, Attoui H, Biagini P, De Micco P, Lamballerie X 2005. Genotype distribution and molecular epidemiology of hepatitis C virus in blood donors from Southeast France. *J Clin Microbiol* 43 (8): 3624-3629.

Cantaloube J-F, Laperche S, Gallian P, Bouchardeau F, Lamballerie X, Micco P 2006. Analysis of the 5' noncoding region versus the NS5b region in genotyping hepatitis C virus isolates from blood donors in France. *J Clin Microbiol* 44: 2051-2056.

Caporaso N, Ascione A, Stroffolini T 1998. Spread of hepatitis C virus infection within families. *J Viral Hepat* 5: 67-72.

Carneiro MAS, Martins RMB, Teles AS, Lopes CL, Cardoso DDP, Vanderborcht BOM, Yoshida CFT 2001. Hepatitis C prevalence and risk factors in hemodialysis patients in Central Brazil: a survey by polymerase chain reaction and serological methods. *Med Inst Oswaldo Cruz* 96 (6): 765-769.

Carneiro MA, Teles SA, Dias MA, Ferreira RC, Naghettine AV, Silva SA, Lampe E, Yoshida CF, Martins RMB 2005. Decline of hepatitis C infection in hemodialysis patients in Central Brazil: ten years of surveillance. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100 (4): 345-349.

Carneiro MA, Teles SA, Lampe E, Espírito-Santo MP, Gouveia-Oliveira R, Reis NR, Yoshida CF, Martins RM 2007. Molecular and epidemiological study on

nosocomial transmission of HCV in hemodialysis patients in Brazil. *J Med Virol* 79 (9): 1325-1333.

Caruntu FA, Benea LB 2006. Acute hepatitis C virus infection: diagnosis, pathogenesis, treatment. *J Gastrointest Liver Dis* 15 (3): 249-256.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 1998. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR Recomm Rep* 47 (19): 1-33.

Centers for Disease Control and Prevention 2003. Exposed to blood: What healthcare personnel need to know. July 2003: 1-8. Disponível em: www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/bbp/exp_to_Blood.pdf

Chacravarte A, Verma V, Jain M, Kar P 2005. Characteristics of dual infection of hepatitis B and C viruses among patients with chronic liver disease: a study from tertiary care hospital. *Trop Gastroenterol* 26 (4): 183-187.

Chen Z, Weck KE 2002. Hepatitis C genotyping: interrogation of the 5' untranslated region cannot accurately distinguish genotypes 1a and 1b. *J Clin Microbiol* 40: 3127-3134.

Chen SL, Morgan TR 2006. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci* 3 (2): 47-52.

Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244: 359-362.

Confederação Nacional dos Transportes. Boletim Estatístico CNT 2007. Disponível em: www.cnt.org.br acessado em: 9 de dezembro de 2007.

[Colichon AY](#), [Figueroa R](#), [Moreno A](#), [Zumaeta E](#), [Ferrandiz J](#), [Busalleu A](#), [Prado W](#), [Candella R](#), [Colichón A](#), [Rodriguez W](#), [Espinoza J](#), [Kianman W](#), [Amaya N](#), [García-Pérez SA](#), [Tello-Rodriguez J](#), [Valdez J](#), [Paucar-Sotomayor H](#), [Sanchez C](#) 2004. Serologic prevalence of HCV antibodies in health personnel in Peru. *Rev Gastroenterol Peru* 24 (1): 13-20.

Conte VP 2000. Hepatite crônica por vírus C. *Arq Gastroenterol* 37 (3): 187-194.

Corbert S, Bukh J, Heinsen A, Fomsgaard A 2003. Hepatitis C virus by a core-envelope 1-based reverse transcriptase PCR assay with sequencing and its use in determining subtype distribution among Danish patients. *J Clin Microbiol* 41 (3): 1091-1100.

Couper FJ, Pemberton M, Jarvis A, Hughes M, Logan BK 2002. Prevalence of drug use in commercial tractor-trailer drivers. *J Forensic Sci* 47 (3): 562-567.

Couroucé AM, Bouchardeau F, Chauveau P, Le Marée N, Girault A, Zins B, Naret C, Poignet JL 1995. Hepatitis C virus (HCV) infection in haemodialysed

patients: HCV-RNA and anti-HCV antibodies (third-generation assays). *Nephrol Dial Transplant* 10: 234-239.

Cristina J, Moreno MP, Moratório G 2007. Hepatitis c virus genetic variability in patients undergoing antiviral therapy. *Virus Res* 127: 185-194.

Cristofari G, Ivanyi-Nagy R, Gabus C, Boulant S, Lavergne J-P, Penin F, Darlix J-L 2004. The hepatitis C virus core protein a potent nucleic acid chaperone that directs dimerization of the viral (+) strand RNA in vitro. *Nucleic Acids Res* 32 (8): 2623-2631.

Crouch DJ, Birkv MM, Gust SW, Rollins DE, Walsh JM, Mouden JV, Quinlan KE, Beckel RW 1993. The prevalence of drugs and alcohol in fatally injured truck drivers. *J Forensic Sci* 38 (6): 1342-1353.

[Dal Molin G](#), [Ansaldi F](#), [Biagi C](#), [D'Agaro P](#), [Comar M](#), [Crocè L](#), [Tiribelli C](#), [Campello C](#) 2002. Changing molecular epidemiology of hepatitis C virus infection in Northeast Italy. *J Med Virol* 68 (3): 352-356.

Das BR, Kundu B, Khandapkar R, Sahni S 2002. Geographical distribution of hepatitis C genotypes in India. *Indian J Pathol Microbial* 45: 423-428.

Davis GL 1999. Hepatitis C virus genotypes and quasispecies. *The Am J Med* 107 (6B): S21-S26.

De Cock L, Vranckx R 2003. Serotyping and genotyping of hepatitis C virus in Belgium. *Infection* 31 (2): 92-97.

Dehesa-Violante M, Nuñez-Nateras R 2007. Epidemiology of hepatitis virus B and C. *Arch Med Res* 38: 606-611.

Dillon JF 2004. What is the best treatment? *J Viral Hepat* 11 (Suppl 1): S23-S27.

EASL. International Consensus Conference on hepatitis C: Paris, 26-28, consensus statement, 1999. *J Hepatol* 30: 956-961.

Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, Izumi N, Marume F, Sato C 1995. Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. *J Clin Invest* 96: 224-230.

Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, Ogura Y, Izumi N, Marumo F, Sato C 1996. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 334: 77-81.

Erensoy S 2001. Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection and laboratory monitoring of its therapy. *J Clin Virol* 21: 271-281.

Espírito-Santo MP, Carneiro MAS, Reis NRS, Kozlowski AG, Teles SA, Lampe E, Yoshida CFT, Martins RMB 2007. Genotyping hepatitis C virus from hemodialysis patients in Central Brazil by line probe assay and sequence analysis. *Braz J Med Biol Res* 40: 545-550.

Farah KP, Carmo RA, Antunes CMF, Serufo JC, Nobre Junior VA, Castro LPF, Leite VHR, Silva RAP, Álvares MCB, Corrêa GO, Busek SCU, Lambertucci JR 2007. Hepatitis C, HCV genotypes and hepatic siderosis in patients with chronic renal failure on haemodialysis in Brazil. *Nephrol Dial Transplant* 22: 2027-2031.

Ferraz EA 2005. Caminhoneiros: Parcerias do Asfalto – conhecimento, atitudes e práticas sobre o HIV/Aids em Uberlândia - Rio de Janeiro: BEMFAM, 288p.

Ferreira-González A, Shiffman ML 2004. Use of diagnostic testing for managing hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 24 (Suppl 1): S9-S18.

Firestone CM, Fischer B, Prata J, Kalousek K, Newton-taylor B, Rehm J, Tyndall M 2007. Prevalence and associated factors of hepatitis C infection (HCV) in a multi-site Canadian population of illicit opioid and other drug users (OPICAN). *Can J Public Health* 98 (2): 130-133.

Firpi RJ, Nelson DR 2007. Current and future hepatitis C therapies. *Arch Med Res* 38: 678-690.

Flint M, Mckeating JA 2000. The role of the hepatitis C virus glycoproteins in infection. *Rev Med Virol* 10: 101-117.

Focaccia R, Conceição OJG, Sete JrH, Sabino E, Bassit L, Nitrini DR, Lomar AV, Lorenço R, Souza , Kiffer CRV, Santos EB, Gonzáles MP, Sáez-Alquézar A, Riscal JR, Fisher D 1998. Estimated prevalence of viral hepatitis in general population of the municipality of São Paulo, measured by a serological survey of stratified randomized and residence-based population. *Braz J Infect Dis* 2 (6): 269-284.

Focaccia R, Conceição O, Oliveira UB 2002. Epidemiologia. 1º Consenso da Sociedade Paulista de Infectologia para manuseio e terapia da hepatite C. São Paulo. Sociedade Paulista de Infectologia.

Focaccia R, Baraldo DCM, Ferraz MLG, Martinelli ALC, Carrilho FJ, Gonçalves JFL, Pedroso MLA, Coelho HSM, Lacerda MA, Brandão CE, Mattos AA, Lira LGC, Zamin JL, Pinheiro JOP, Tovo CV, Both CT, Soares JAS, Dittrich S 2004. Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. *Braz J Infect Dis* 8 (5): 348-355.

Fonseca JCF 1999. Relatório do Grupo de estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C no Brasil. *Gastroentero End Digest* 18 (Suppl 1): S3-S8.

Forns X, Costa J 2006. HCV virological assessment. *J Hepatol* 44 (Suppl 1): S35-S39.

Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçalves F, Haussinger D, Diago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman J, Yu J 2002. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 347 (13): 975-982.

Galossi A, Guarisco R, Bellis L, Puoti C 2007. Extrahepatic manifestations of chronic HCV infection. *J Gastrointestin Liver Dis* 16 (1): 65-73.

Galperim B, Cheinquer H, Stein A, Fonseca A, Lunge V, Ikuta N 2004. Intranasal cocaine use does not appear to be an independent risk factor for HCV infection. *Addiction* 99: 973-977.

Galperim B, Cheinquer H, Stein A, Fonseca A, Lunge V, Ikuta N 2006. Prevalence of hepatitis C virus in alcoholic patients: role of parenteral risk factors. *Arq Gastroenterol* 43 (2): 81-84.

Gault E, Soussan P, Morice Y, Sanders L, Berrada A, Rogers B, Deny P 2003. Evaluation of a new serotyping assay for detection of anti-hepatitis C virus type-specific antibodies in serum samples. *J Clin Microbiol* 41 (5): 2084-2087.

Ghebrekidan H, Cox S, Wahren B, Grandien M 1998. Prevalence of infection with HIV, hepatitis B and C viruses, in four high risk groups in Eritrea. *Clin Diag Virol* 9: 29-35.

Gibb DM, Goodall RL, Dunn DT, Healy M, Neave P, Cafferkey M, Butler K 2000. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum transmission. *Lancet* 356: 904-907.

Gibney L, Saquib N, Metzger J, Choudhury P, Siddiqui M, Hassan M 2001. Human immunodeficiency virus, hepatitis B, C and D in Bangladesh's trucking industry: prevalence and risk factors. *Int J Epidemiol* 30: 878-884.

Ginabreda MGP, Yoshida CFT, Niel C 1997. Genomic characterization of Brazilian hepatitis C virus genotypes 1a and 1b. *J Med and Biol Research* 30: 339-345.

Goldberg D & Anderson E 2004. Hepatitis C: who is at risk and how do we identify them? *J Viral Hepat* 11: 12-18.

Gonçalves NSL, Costa FF, Vassallo J, Gonçalves FL 2000. 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. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 42 (5): 263-267.

Gonzalez M, Regine V, Piccinini V, Vulcano S, Giampaolo A, Hassan HJ 2005b. Residual risk of transfusion-transmitted human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus infections in Italy. *Transfusion* 45: 1670-1675.

[González R](#), [Soza A](#), [Hernández V](#), [Pérez RM](#), [Alvarez M](#), [Morales A](#), [Arellano M](#), [Riquelme A](#), [Viviani P](#), [Covarrubias C](#), [Arrese M](#), [Miquel JF](#), [Nervi F](#) 2005a. Incidence and prevalence of hepatitis C virus infection in Chile. *Ann Hepatol* 4 (2): 127-130.

Gretch D, Lee W, Corey L 1992. Use of aminotransferase, hepatitis C antibody, and hepatitis C polymerase chain reaction RNA assays to establish the diagnosis of hepatitis C virus infection in a diagnostic virology laboratory. *J Clin Microbiol* 30 (8): 2145-2149.

Gretch DR 1997. Diagnostic tests for hepatitis C. *Hepatol* 26 (Supp 1): S43-S47.

Griffin SD, Beales LP, Clarke DS, Worsfold O, Evans SD, Jaeger J, Harris MP, Rowlands DJ 2003. The p7 protein of hepatitis C virus forms an ion channel that is blocked by the antiviral drug, Amantadine. *FEBS Lett* 535: 34-38.

Griffin SD, Harvey R, Clarke DS, Barclay WS, Harris M, Rowlands DJ 2004. A conserved basic loop in hepatitis C virus p7 protein is required for amantadine-sensitive ion channel activity in mammalian cells but is dispensable for localization to mitochondria. *J Gen Virol* 85 (2): 451-461.

Guirao AA, Yuste SR, Regueiro BJ 2007. Epidemiología y manifestaciones clínicas de las hepatitis virales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 24 (4): 264-276.

Gyarmathy VA, Neaigus A, Miller M, Friedman SR, Des Jarlais DC 2002. Risk correlates of prevalent HIV, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infections among noninjecting heroin users. *J Acquir Immune Defic Syndr* 30 (4): 448-456.

Hadziyannis SJ, Sette H, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, Ramadori G, Bodenheimer HJ, Bernstein D, Rizzeto M, Zeuzem S, Pockros PJ, Lin A, Ackrill AM 2004. Peginterferon- α 2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C. A randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Am Intern Med* 140: 346-355.

Heathcote EJ, Shiffman ML, Cooksley WGE, Dusheiko GM, Lee SS, Balart L, Reindollar R, Reddy RK, Wright TL, Lin A, Hoffman J, De Pamphilis J 2000. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *N Engl J Med* 343 (23): 1673-1680.

Healthcote & Main J 2005. Treatment of hepatitis C. *J Viral Hepat* 12: 223-235.

Hoofnagle JH 1997. Hepatitis C: the clinical spectrum. *Hepatology* 26: 15-20.

Hoofnagle JH 2002. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology* 36: (Suppl 1): S21-S29.

Howie H, Hutchinson SJ 2004. What lies ahead and can we afford it? *J Viral hepat* 11 (Suppl 1): S28-S33.

Howe CJ, Fuller CM, Ompad DC, Galea S, Koblin B, Thomas D, Vlahov D 2005. Association of sex, hygiene and drug equipment sharing with hepatitis C virus infection among non-injecting drug users in New York City. *Drug Alcohol Depend* 79: 389-395.

Huang Z, Murray MG, Secrist JA 2006. Recent development of therapeutics for chronic HCV infection. *Antiviral Res* 71: 351-362.

Hügler T, Cerny A 2003. Current therapy and new molecular approaches to antiviral treatment and prevention of hepatitis C. *Rev Med Virol* 13: 361-371.

Huy TTT, Abe K 2004. Molecular epidemiology of hepatitis B and C virus infections in Asia. *Pediatr Int* 46: 223-230.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. As sete Classes Sociais no Brasil em 2006. Disponível em: www.c/documentos and Settings\Administrador\Meus documentos\Nara\CLASSES SOCIAIS.HTM.

ICTV 2006. Hepacivirus; www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB.

Inciardi JA, Surta HL, Kurtz SP 2006. HIV, HBV and HCV infections among drug-involved, inner-city, street sex workers in Miami, Florida. *AIDS Behav* 10 (2): 139-147.

Jahani MR, Motevalian SA, Mahmoodi M 2003. Hepatitis B carriers in large vehicle drivers of Iran. *Vaccine* 21(17-18):1948-1951.

Jittiwutikarn J, Thongsawat S, Suriyanon V, Manekarn N, Calentano D, Razak MH, Srirak N, Vongchak T, Kawichai S, Thomas D, Sripaipan T, Netski D, Ananthakrishnan A, Nelson KE 2006. Hepatitis C infection among drug users in northern Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 74 (6): 1111-1116.

Kao JH, Lai MY, Hwang YT, Yang PM, Chen PJ, Sheu JC, Wang TH, Hsu HC, Chen DS 1996. Chronic hepatitis C without anti-hepatitis C antibodies by second generation assay. A clinicopathologic study and demonstration of usefulness of a third-generation assay. *Dig Dis Sci* 41 (1): 161-165.

Kapoor D, Saxena R, Sood B, Sarin SK 2000. Blood transfusion practices in India: results of a national survey. *Indian J Gastroenterol* 19: 64-67.

Karmochkine M, Carrat F, Dos Santos O, Cacoub P, Raguin G 2006. A case-control study of risk factors of hepatitis C infection in patients with unexplained routes of infection. *J Viral Hepatol* 13 (11): 775-782.

Kech Z-Y, Xia J, Cai Z, Li T-K, Owsianka AM, Patel AH, Luo G, Fong SKH 2007. Immunogenic and functional organization of hepatitis C virus (HCV) glycoprotein E2 on infectious HCV virions. *J Virol* 81 (2): 1043-1047.

Kein RS, Freeman K, Taylor PE, Stevens CE 1991. Occupational risk for hepatitis C virus infection among New York City dentists. *Lancet* 338: 1539-1542.

Kerzman H, Green MS, Shinar E 2007. Risk factors for hepatitis C virus infection among blood donors in Israel: a case-control study between natibe Israelis and immigrants from the former Soviet Union. *Transfusion* 47: 1189-1196.

Kew M, François G, Lavanchy D, Margolis H, Van Damme P, Grob P, Hallauer J, Shouval D, Leroux-Roels G, Meheus A 2004. Prevention of hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 11: 198-205.

Kew MC 2006. Interaction between hepatitis B and C viruses in hepatocellular carcinogenesis. *J Viral Hepat* 13: 145-149.

Khan M, Husain M, Yano M, Hashizume K, Yousuf M, Tanaka F, Matsumoto A, Furuta S, Kivosawa K 1993. Comparison of seroepidemiology of hepatitis C in blood donors between Bangladesh and Japan. *Gastroenterol Jpn* 28 (Suppl 5): S28-S31.

Kikuchi K, Umehara T, Fukuda K, Kuno A, Hasegawa T, Nishikawa S 2005. A hepatitis C virus (HCV) internal ribosome entry site (IRES) domain III-IV-targeted aptamer inhibits translation by binding to an apical loop of domain III. *Nucleic Acids Res* 33 (2): 683-692.

Kim WR 2002. Global epidemiology and burden of hepatitis C. *Microbes Infect* 4: 1219-1225.

[Koch U](#), [Narjes F](#) 2006. Allosteric inhibition of the hepatitis C virus NS5B RNA dependent RNA polymerase. Allosteric inhibition of the hepatitis C virus NS5B RNA dependent RNA polymerase. *Infect Disord Drug Targets* 6 (1): 31-41

Kolykhalov AA, Mihalik K, Feinstone SM, Rice CM 2000. Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3' nontranslated region are essential for virus replication in vivo. *J Virol* 74 (4): 2046-2051.

Krajden M, Shivji R, Gunadasa K, Mak A, McNabb G, Friesenhahn M, Hendricks D, Comanor L 2004. Evaluation of the core antigen assay as a second-line supplemental test for diagnosis of active hepatitis C virus infection. *J Clin Microbiol* 42 (9): 4054-4059.

Krug LP, Lunge VR, Ikuta N, Fonseca AS, Cheiquer H, Ozaki LS, Barros SG 1996. Hepatitis C virus genotypes in Southern Brazil. *Braz J Med Biol Res* 29 (12): 1629-1632.

Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, Diestang JL, Stevens CE, Tegtmeier GE, Bonino F, Colombo M, Lee WS, Kuo C, Berger K, Shuster JR, Overby LR, Bradley DW, Houghton M 1989. An assay

for circulating antibodies to a major etiologic virus of the non-A, non-B hepatitis. *Science* 244: 362-364.

Lacerda R, Gravato N, McFarland W, Rutherford G, Iskrant K, Stall R, Hearst N 1997. Truck drivers in Brazil: prevalence of HIV and other sexually transmitted diseases, risk behavior and potential for spread of infection. *AIDS* 11 (Suppl 1): S15-S19.

Ladrón-de Guevara L, Gómez N, Vázquez-Cantarell M, García-Méndez S, Di Silvio M 2002. Prevalence of and risk factors for hepatitis C in blood donors. *Rev Gastroenterol Mex* 67 (1): 11-16.

Lanford RE, Bigger C 2002. Advances in model systems for hepatitis C virus research. *Virology* 293: 1-9.

Lankoande S, Meda N, Sangare L, Compaore IP, Cayraye J, Zan S 1998. L'infection a VIH chez lès chauffeurs routiers au Burkina Faso: um enquête de seroprevalence. *Med Trop* 58: 41-46.

Laperche S, Elghouzzi M-H, Morl P, Asso-Bonet M, Le Marrec N, Girault A, Servant-Delmas A, Bouchardeau F, Deschaseaux M, Piquet Y 2005a. Is an assay for simultaneous detection of hepatitis C virus core antigen and antibody a valuable alternative to nucleic acid testing? *Transfusion* 45: 1965-1972.

Laperche S, Lunel F, Izopet J, Alain S, Dény P, Duverlie G, Gaudy C, Pawlotsky J, Plantier J, Pozzetto B, Thibault V, Tosetti F, Lefrère J 2005b. Comparison of hepatitis C virus NS5B and 5' noncoding gene sequencing methods in a multicenter study. *J Clin Microbiol* 43: 773-739.

Lauer, GM, Walker BD 2001. Hepatitis C virus infections. *N Engl J Med* 345: 41-52.

Lavanchy D 2002. Public health measures in the control of viral hepatitis: A World Health Organization perspective for the next millennium. *J Gastroenterol Hepatol* 17: 452-459.

Law MG, Dore GJ, Thompson S, Crofts N, Dolan K, Giles W, Gow P, Kaldor J, Loveday S, Powell E, Spencer J, Wodak A 2003. Modelling hepatitis C virus incidence, prevalence and long-term sequelae in Australia. *Int J Epidemiol* 32: 717-724.

Le Guillou-Guillemette H, Vallet S, Gaudy-Graffin C, Payan C, Pivert A, Goudeau A, Lunel-Fabiani F 2007. Genetic diversity of the hepatitis C virus: Impact and issues in the antiviral therapy. *World J Gastroenterol* 13 (17): 2416-2426.

Liao, QJLB, Ye KA, Timani YL, She XJ, Yang L, Ye, and Z. H. Wu. 2005. Hepatitis C virus non-structural 5A protein can enhance full-length core protein-induced nuclear factor-kappa B activation. *World J Gastroenterol* 11: 6433-6439.

Lin C, Lindenbach BD, Pragai BM, McCourt DW, Rice CM 1994. Processing in the hepatitis C virus E2-NS2 region: identification of p7 and two distinct E2-specific products with different C termini. *J Virol* 68 (8): 5063-5073.

Lindsay KL, Trepo C, Heintges T, Shiffman ML, Gordon SC, Hoeps JC, Schif ER, Goodman ZD, Laughlin M, Yao R, Albrecht JK 2001. A Randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon alfa-2b to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology* 34 (2): 395-403.

Lindström H, Lundin M, Häggström S, Persson MAA 2006. Mutations of the hepatitis C virus protein NS4B on either side of the ER membrane affect the efficiency of subgenomic replicons. *Virus Res* 121 (2): 169-178.

Lippman SA, Pulerwitz J, Chinaglia M, Hubbard A, Reingold A, Diaz J 2007. Mobility and its liminal context: exploring sexual partnering among truck drivers crossing the Southern Brazilian border. *Soc Sci Med* 65 (12): 2464-2473.

Lopes CLR, Martins RBM, Carneiro MAS, Teles AS, Maggi AS, Oliveira LA, Cardoso DDP, Yoshida CFT 2002. Soroprevalência da infecção pelo vírus da hepatite C em profissionais das unidades de hemodiálise de Goiânia. *As Pat Trop* 31 (1): 129-133.

Luby S, Khanani R, Zia M, Vellani Z, Ali M, Qureshi AH, Khan AJ, Abdul MS, Shah AS, Fisher-Hoch S 2000. Evaluation of blood bank practices in Karachi, Pakistan, and the government's response. *Health Police Plan* 15: 217-222.

Luz AS, Souza KP, Teles AS, Carneiro MAS, Gomes AS, Dias MA, Ferreira RC, Martins RMB 2004. Soroprevalência das infecções pelos vírus das hepatites B e C em profissionais de hemodiálise do Tocantins. *Rev Pat Trop* 33: 119-123.

Lyra AC, Fan X, Bisceglie AM 2004. Molecular biology a clinical implication of hepatitis C. *Braz J Med Biol Res* 37 (5): 691-695.

Ma XJ, Li ZR, Li DM, Fan YM, Liao GX, Li TS 2006. Virological response of chronic hepatitis C management with peg-interferon alpha-2b and ribavirin. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 28 (5): 721-723.

Madhava V, Burges C, Drucker E 2002. Epidemiology of chronic hepatitis C virus infection in sub-saharan Africa. *Lancet Infect Dis* 2: 293-302.

Maher L, Chant K, Jalaludin B, Sargent P 2004. Risk behaviors and antibody hepatitis B and C prevalence among injecting drug users in South-western Sydney, Australia. *J Gastroenterol Hepatol* 19: 1114-1120.

Majid AM, Gretch DR 2002. Current and future hepatitis C virus diagnostic testing: problems and advancements. *Microbes Infect* 4: 1227-1236.

Major ME, Feinstone SM 1997. The molecular virology of hepatitis C. *Hepatology* 25 (6): 1527-1538.

Malinauskiene V 2003. Truck driving and risk of myocardial infarction. *Przegl Lek* 60 (6): 89-90.

Maresch C, Schluter PJ, Wilson AD, Sleigh A 2007. Residual infectious disease risk in screened blood transfusion from a high-prevalence population: Santa Catarina, Brazil. *Transfusion* (Epub ahead of print).

Martins RBM, Vanderborght BOM, Rouzere CD, Santana CL, Santos CO, Mori DN 1994. Anti-HCV related to HCV PCR and risk factors analysis in a blood donor population of Central Brazil. *Inst Med Trop São Paulo* 36 (6): 501-506.

Martins RBM, Vanderborght BOM, Rouzere CD, Santana CL, Santos CO, Mori DN 1995a. Anti-HCV prevalence and risk factors analysis in pregnant women in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90: 11.

Martins RBM, Porto SOB, Vanderborght BOM, Rouzere CD, Queiroz DAO, Cardoso DDP, Yoshida CFT 1995b. Prevalence of hepatitis C viral antibody among Brazilian children, adolescents, and street youths. *Am J Med Hyg* 53: 654-655.

Martins RMB, Almeida VC, Vanderborght BOM, Brito JBA, Cardoso DDP, Pereira MS, Yoshida CET 1996. Prevalence of hepatitis C antibodies among health care workers at high risk for blood exposure. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 38 (4): 309-310.

Martins RBM, Teles AS, Freitas NR, Motta-Castro ARC, Souto FJD, Mussi A, Amorim RMS, Martins CRF 2006. Distribution of hepatitis C virus genotypes among blood donors from mid-west region of Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 48 (1): 53-55.

Mast EE, Hwang LY, Seto DS, Nolte FS, Nainan OV, Wurtzel H, Alter MJ 2005. Risk factors for perinatal transmission of hepatitis C virus (HCV) and the natural history of HCV infection acquired in infancy. *J Infect Dis* 192: 1880-1889.

Maugat S, Astagneau P, Thibault V, Desruennes E, Baffoy N, Desenclos JC, Brucker G 2003. Nosocomial risk factors of hepatitis C infection. A multicenter study in a hospital-based population. *Rev Epidemiol Sante Publique* 51 (3): 301-308.

McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustqi VK, Goodman ZD, Linq MH, Cort S, Albrecht JK 1998. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic infection with hepatitis C. *N Engl J Med* 339: 1485-1492.

McMahon JM, Pouget ER, Tortu S 2007. Individual and couple-level risk factors for hepatitis C infection among heterosexual drug users: a multilevel dyadic analysis. *J Infect Dis* 195: 1572-1581.

Medeiros MGF, Barbosa AJR, Aguiar PTJ 2001. Caminhoneiros e o conhecimento sobre os meios de transmissão do HIV. In Brasil, Ministério da Saúde. Aids Boletim Epidemiológico. Brasília: Ministério da saúde, ano XIV n 2, p 1-6.

Medeiros MTG, Lima JMC, Lima JWO, Campos HH, Medeiros MMC, Filho JMC 2004. Prevalência e fatores associados à hepatite C em pacientes de hemodiálise. *Rev Saúde Pública* 38 (2): 187-193.

Medhat A, Shehata M, Magder LS, Mikhail N, Abdel-Baki L, Nafeh M, Abdelhamid M, strickland GT, Fix AD 2002. Hepatitis C in a community in Upper Egypt: risk factors for infection. *Am J Trop Med Hyg* 66: 633-638.

Méndez-Sánchez N, Ponciano-Rodriguez G, Chávez-tapia NC, Motola-Kuba D, Almeda-Valdes P, Sánchez-Lara K, Ramos MH, Uribe M 2005. Prevalence of hepatitis C infection in a population of asymptomatic people in a checkup unit in México City. *Dig Dis Sci* 50 (4): 733-737.

Ministério da Saúde (MS) 1993. Portaria n 1376, de 19 de novembro de 1993. Diário Oficial da União, Brasília, Brasil.

Ministério da Saúde (MS) 2002. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas. Hepatite viral crônica C. Interferon alfa, interferon alfa peguilado, ribavirina. Portaria SAS-MS n 863: 431-440.

Ministério da Saúde (MS) 2005. Secretaria de Vigilância em Saúde Programa nacional para a prevenção e controle das hepatites virais. Manual de aconselhamento em hepatites virais/. 52 p.

Ministério da Saúde (MS) 2007. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria n. 34 de 28 de setembro de 2007. Dispõe sobre protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para a hepatite viral C. Brasília, Brasil.

Ministério da Saúde (MS) 2008. Pesquisa traça diagnóstico sobre prevalência das hepatites virais. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=28074. Acessado em 21 de julho de 2008.

Minola E, Baldo V, Baldovin T, Trivello R, Floreani A 2006. Intrafamilial transmission of hepatitis C infection. *Eur J Epidemiol* 21: 293-297.

Mitsui T, Iwano K, Masuko K, Yamazaki C, Okamoto H, Tsurda F, Tanaka T, Mishiro S 1992. Hepatitis C virus infection in medical personnel after needlestick accident. *Hepatology* 16: 1109-1114.

Moreno CR, Louzada FM, Teixeira LR, Borges F, Lorenzi-Filho G 2006 Short sleep is associated with obesity among truck drivers. *Chronobiol Int* 23 (6):1295-1303.

Moreno-Otero R 2004. Therapeutic modalities in hepatitis C: challenges and development. *J Viral Hepat* 12: 10-19.

Muñoz-Gómez R, Gracia-Monzón C, García-Buey L, Lo IO, Borque MJ, García-Sánchez A, Pajares JM, Moreno-Otero R 1996 hepatitis C virus infection in Spanish volunteer blood donors: HCV RNA analysis and liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 8 (3): 273-277.

[Nainan OV](#), [Alter MJ](#), [Kruszon-Moran D](#), [Gao FX](#), [Xia G](#), [McQuillan G](#), [Margolis HS](#) 2006. Hepatitis C virus genotypes and viral concentrations in participants of a general population survey in the United States. *Gastroenterology* 131 (2): 478-484.

Nascimento EC, Nascimento E, Silva JP 2007. Uso de álcool e anfetaminas entre caminhoneiros de estrada. *Rev Saude Publica* 4 (12): 290-293.

Neaigus A, Gyarmathy VA, Zhao M, Miller M, Friedman SR, Des Jarlais DC 2007. Sexual and other non-injection risks for HBV and HCV seroconversions among noninjecting heroin users. *J Infect Dis* 195 (7): 1052-1061.

Nguyen MH, Keeffe EB 2005. Prevalence and treatment of hepatitis C virus genotypes 4, 5, and 6. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 3 (Suppl 2): S97-S101.

Nguyen H, Sankaran S, Dandekar S 2006. Hepatitis c virus core protein induces expression of genes regulating immune evasion and anti-apoptosis in hepatocytes. *Virology* 354: 58-68.

Nossa L 2003. Caminhoneiros e Camicases. *Correio Brasiliense* 2000. Disponível em: www.2.correioweb.com.br-cw2000_07_30-mat_3849. Acessado em: 9 de dezembro de 2007.

O'Brien SF, Yi Q-L, Fan W, Scalia V, Kleinman SH, Vamvakas EC 2007. Current incidence and estimated residual risk of transfusion-transmitted infections in donations made to Canadian blood services. *Transfusion* 47: 316-325.

Offergeld R, Faensen D, Ritter S, Hamouda S 2005. Human immunodeficiency virus, hepatitis C and hepatitis B infections among blood donors in Germany 2000-2002: risk of virus transmission and the impact of nucleic acid amplification testing. *Euro Surveill* 10 (2): 8-11.

Ohman SB, Trabelsi A, Monnet A, Bouzgarrou N, Grattard F, Beyou A, Borlet T, Pozzeto B 2004. Evaluation of a prototype HCV NS5b assay for typing strains of hepatitis C virus isolated from Tunisian hemodialysis patients. *J Virol Methods* 119: 177-181.

[Ohno T](#), [Mizokami M](#), [Wu R-R](#), [Saleh MG](#), [Ohba K-I](#), [Orto E](#), [Mukaide M](#), [Williams R](#), [Lau JYN](#) 1997. New hepatitis C virus (HCV) genotyping system that allows for identification of HCV genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4, 5a, and 6a. *J Clin Microbiol* 35 (1): 201-207.

Okamoto H, Miyakawa Y, Mayumi M 1997. Molecular virology of hepatitis C virus. *Viral hepat* 3 (1): 51-62.

Oliveira GC, Carmo RA, Rocha MO, Silva MO, Lima AT, Guimarães MD, Corrêa-Oliveira R 1999a. Hepatitis C virus genotypes in haemophiliacs in the state of Minas Gerais, Brazil. *Transfusion* 39: 1194-1199.

Oliveira MLA, Bastos FI, Teles PR, Yoshida CFT, Schatzgryn HG, Paetzold U, Pauli G, Scheler E 1999b. Prevalence and risk factors for HBV, HCV and HDV infections among injecting drug users from Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Med Biol Res* 32: 1107-1114.

Organização Mundial de Saúde (OMS). 2007 Hepatitis C. disponível em: www.who.int/immunization/topics/hepatitis_c/en

Orton SL, Stramer SL, Dodd RY, Alter MJ 2004. Risk factors for HCV infection among blood donors confirmed to be positive for the presence of HCV RNA and not reactive for the presence of anti-HCV. *Transfusion* 44: 275-281.

Osoba AO 2002. Hepatitis C virus genotypes in Saudi Arabia. *Saudi Med J* 23: 7-12.

Pawlotsky J-M 2002a. Use and interpretation of hepatitis C virus diagnostic assays. *Hepatology* 36 (5) (Suppl 1): S65-S72.

Pawlotsky J-M 2002b. Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology* 122: 1554-1568.

Pawlotsky J-M 2003. Diagnostic testing in hepatitis C virus infection: viral kinetics and genomics. *Semin Liver Dis* 23 (Suppl 1): S3-S9.

Pereira BJB, Levey AS 1997. Hepatitis C virus infection in dialysis and renal transplantation. *Kidney Int* 51: 981-999.

Pereira GAMM, Stefani CM, Martelli MD, Turchi EM, Siqueira MA, Carneiro MAS, Martins RMB 2006. Human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus co-infection and viral subtypes at an HIV testing center in Brazil. *J Med Virol* 78: 719-723.

Pérez C, Suárez E, Torres EA, Román K, Colón V 2005. Seroprevalence of hepatitis C virus and associated risk behaviours: a population-based study in San Juan, Puerto Rico. *Int J Epidemiol* 34: 593-599.

Pillonel J, Lê Marrec N, Girault A, David D, Laperche S 2005. Epidemiological surveillance of blood donors and residual risk of blood-borne infections in France. *Transfus Clin Biol* 12: 239-246.

Podhisita C, Wawer MJ, Pramualratana A, Kanungskasem U, McNamara R 1996. Multiple sexual partners and condom use among long-distance truck drivers in Thailand. *AIDS Educ Prev* 8 (6): 490-498.

Polis CB, Shah SN, Johnson KE, Gupta A 2007. Impact of maternal HIV coinfection on the vertical transmission of hepatitis C virus: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 44 (8): 1123-1131.

Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo C, Bain V, Heathcote J, Zeuzem S, Trepo C, Albrecht J 1998. Randomised trial of interferon alpha-2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha-2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 352: 1426-1432.

Poynard T, Yuen MF, Ratziu V, Lai CL 2003. Viral hepatitis C. *Lancet* 362: 2095-2100.

Prado KD 2007. Sexual Transmission of HCV. Consensus of the Brazilian Society of infectious Diseases on the Management and Treatment of Hepatitis C. The Brazilian Journal of Infectious Diseases. *BJID* 11 (Suppl 1):S8-S9.

Prakash O, Mason A, Luftig RB, Bautista AP 2002. Hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infections in alcoholics. *Front Biosci* 7: 286-300.

Prati 2006. Transmission of hepatitis C virus by blood transfusions and other medical procedures: A global review. *J Hepatol* 45: 607-616.

Premkumar A, Wilson L, Ewart GD, Gage PW 2004. Cation-selective ions channels formed by p7 of hepatitis C virus are blocked by hexamethylene amiloride. *FEBS Lett* 557: 99-103.

Purcell R 1997. The hepatitis C virus: Overview. *Hepatology* 26: 115-145.

Quaglio G, Lugoboni F, Pajusco B, Sati M, Talamini G, Lechi A, Mezzolani P, Des Jarlais DC 2003a. Factors associated with hepatitis C virus infection in injection and noninjection drug users in Italy. *Clin Infect Dis* 37: 33-40.

Quaglio GL, Lugoboni F, Pajusco B, Sarti M, Talamini G, GICS, Mezzelani P, Des Jarlais DC 2003b. Hepatitis C virus infection: prevalence, predictor variables and prevention opportunities among drug users in Italy. *J Viral Hepat* 10: 394-400.

[Ramia S](#), [Eid-Fares J](#) 2006. Distribution of hepatitis C virus genotypes in the Middle East. *Int J Infect Dis* 10 (4): 272-277.

Ramjee G, Gows E 2002. Prevalence of HIV among truck drivers visiting sex workers in Kwazulu-Natal, South Africa. *Sex Transm Dis* 29 (1): 44-49.

Rao KS, Pilli RD, Rao AS, Chalam PS 1999. Sexual lifestyle of long distance lorry drivers in India: questionnaire survey. *BMJ* 318 (7177): 162-163.

Ray PS, Das S 2004. Inhibition of hepatitis C virus IRES-mediated translation by small analogous to stem-loop structures of the 5'-untranslated region. *Nucleic Acids Res* 32 (5): 1678-1687.

Reimer J, Lorenzen J, Baetz B, Fischer B, Rehm J, Haasen C, Backmund M 2005. Multiple viral hepatitis in injection drug users and associated risk factors. *J Gastroenterol Hepatol* 22: 80-85.

Reis NRD 2006. Estudo sorológico e molecular da infecção pelo vírus da hepatite C em afro-descendentes de comunidades isoladas de Goiás. 49p. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical/Microbiologia) – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

Ren FR, Gong XY, Li JJ, Lu QS, Liu CL, Zhuang H, Shan H, Wang JX 2005. Correlation between signal-cutoff ratios of anti-HCV enzyme immunoassay (EIA) and their true positivity in blood donors. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 13 (4): 255-258.

Rhodes T, Platt L, Maximova S, Koshkina E, Latisheyskaya N, Hickman M, Renton A, Bobrova N, McDonald T, Parry JV 2006. Prevalence of HIV, hepatitis C and syphilis among injecting drug users in Russia: a multi-city study. *Addiction* 101 (2): 252-266.

Roberts EA, Yeung L 2002. Maternal-infant transmission of hepatitis C infection. *Hepatology* 36 (35): 106-113.

Robinson JW, Rosas M, Guzman F, Patarroyo ME, Moreno A 1996. Comparison of prevalence of anti-hepatitis C virus antibodies in differing South American populations. *J Med Virol* 50 (2): 188-192.

Rosen HR 2000. Primer on hepatitis C for hospital epidemiologists. *Infect Control Hosp Epidemiol* 21 (3): 229-234.

Rosini N, Mousse D, Spada C, Treitinger A 2003. Seroprevalence of HbsAg, Anti-HBc and Anti-HCV in Southern, 1999-2001. *Braz J Infect Dis* 7 (4): 262-267.

[Rosman AS](#), [Waraich A](#), [Galvin K](#), [Casiano J](#), [Paronetto F](#), [Lieber CS](#) 1996. Alcoholism is associated with hepatitis C but not hepatitis B in an urban population. *Am J Gastroenterol* 91 (3): 498-505.

[Rustgi VK](#) 2007. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol* 42 (7): 513-521.

Sakai A, Claire MS, Faulk K, Govindarajan S, Emerson SU, Purcell RH, Bukh J 2003. The p7 polypeptide of hepatitis C virus is critical for infectivity and contains functionally important genotype-specific sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 (20): 11646-11651.

Saldanha J, Lelie N, Heath A 1999. Establishment of the first international standard for Nucleic Acid Amplification Technology (NAT) Assays for HCV RNA. *Vox Sang* 76: 149-158.

Santana Rodriguez OE, Malé Gil ML, Hernández Santana JF, Limiñana Cañal JM, Martín Sánchez AM 1998. Prevalence of serologic markers of HBV, HDV, HCV and HIV in non-injection drug users compared to injection drug users in Gran Canaria, Spain. *Eur J Epidemiol* 14 (6): 555-561.

Scheinmann R, Hagan H, Lelutiu-Weinberger C, Stern R, Des Jarlais DC, Flom PL, Strauss S 2007. Non-injection drug use and hepatitis C virus: A systematic review. *Drug and Alcohol Depend* 89: 1-12.

Scott JD, Gretch DR 2007. Molecular diagnosis of hepatitis C virus infection. *JAMA* 297 (7): 724-732.

Segurado AC, Braga P, Etzel A, Cardoso MRA 2004. Hepatitis C virus coinfection in a cohort of HIV-infected individuals from Santos, Brazil: seroprevalence and associated factors. *AIDS Patient Care STDs* 18 (3): 135-143.

Seme K, Poljak M, Babic DZ, Mocilnik T, Vince A 2005. The role of core antigen detection in management of hepatitis C: a critical review. *J Clin Virol* 32: 92-101.

Shah HA, Jafri W, Malik I, Prescott L, Simmonds P 1997. Hepatitis C virus genotypes and chronic liver disease in Pakistan. *J Gastroenterol Hepatol* 12: 758-761.

Shang G, Seed CR, Wang F, Nie D, Farrugia A 2007. Residual risk of transfusion-transmitted viral infections in Shenzhen, China, 2001 through 2004. *Transfusion* 47: 529-539.

Shepard CW, Finelli L, Alter MJ 2005. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 5: 558-567.

Shi XM, Mei ZQ, Gao JH, Qiao XC, Qian HZ, Jia WQ, Yang ZM, Zhang YL, Zheng XW, Wang N 2005. A cross-sectional survey on hepatitis C virus infection among residents aged 18-59 years in a former commercial blood donating community, Shanxi Province. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 26 (11): 864-867.

Silva LK, Silva MB, Rodart IF, Lopes GB, Costa FQ, Melo ME, Gusmão E, Reis MG 2006. Prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV genotypes of haemodialysis patients in Salvador, Northeastern Brazil. *Braz J Med Biol Res* 39 (5): 595-602.

Silva CMD, Costi C, Krug LP, Ramos AB, Grandi T, Gandolf VL, Menezes ME, Ocampos M, Niel C, Rosset MLR 2007. High proportion of hepatitis C virus genotypes 1 and 3 in a large cohort of patients from Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102 (7): 867-870.

Simmonds P 1995. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 21 (2): 570-583.

Simmonds 1999. Viral heterogeneity of the hepatitis C virus. *J Hepatol* 31 (Suppl 1): 54-60.

Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, Halfon P, Inchauspé G, Kuiken C, Maertens G, Mizokami M, Murphy DG, Okamoto H, Pawlotsky JM, Penin F, Sablon E, Shin-I T, Stuyver LJ, Thiel HJ, Viazov S, Weiner AJ, Widell A 2005. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 42 (4): 962-973.

Song Y, Friebe P, Tzima E, Jünemann C, Bartenschlager R, Niepmann M 2006. The hepatitis C virus RNA 3'-untranslated region strongly enhances translation directed by the internal ribosome entry site. *J Virol* 80 (23): 11579-11588.

Souvignet C, Lejeune O, Trepo C 2007. Interferon-based treatment of chronic hepatitis C. *Biochimie* 89: 894-898.

Souza JC, Paiva T, Reimao R 2005. Sleep habits, sleepiness and accidents among truck drivers. *Arq Neuropsiquiatr* 63 (4): 925-930.

Srugo I, Shinar E, Bar-Shany S, Amos L 1998. Hepatitis B and C markers among alcoholics in Israel: high incidence of HCV infection. *Eur J Epidemiol* 14 (4): 333-337.

Strauss E 2001. Hepatitis C. *Rev Soc Bras Med Trop* 34 (1): 69-82.

Street A, Macdonald A, Crowder K, Harris M 2004. The hepatitis C virus NS5A protein activates a phosphoinositide 3-kinase-dependent survival signaling cascade. *J Biol Chem* 279 (13) (Suppl 26): 12232-12241.

Stuyver I, Rossau R, Wyseur A, Duhamel M, Vanderborghet B, Heuverswyn H, Maertens G 1993. Typing of hepatitis C virus isolates and characterization of new subtypes using a line probe assay *J Gen Virol* 74: 1093-1102, 1993.

Stuyver I, Wyseur A, Van Arnhem W, Hernandez F, Maertens G 1996. Second-generation line probe assay for hepatitis C virus genotyping. *J Clin Microbiol* 34:2259-2266.

Sun CA, Chen HC, Lu SN, Chen CJ, Lu CF, You LA, Lin SH 2001. Persistent hyperendemicity of hepatitis C virus infection in Taiwan: the important role of iatrogenic risk factors. *J Med Virol* 65: 30-34.

Suzuki R, Suzuki T, Ishii K, Matsuura Y, Miyamura T 1999. Processing and functions of hepatitis C virus proteins. *Intervirology* 42: 145-152.

Sy T & Jamal MM 2006. Epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci* 3: 41-46.

Tahan V, Karaca C, Yildirim B, Bozbas A, Ozaras R, Demir K, Avsar E, Mert A, Besisik F, Kaymakoglu S, Senturk H, Cakaloglu Y, Kalayci C, Okten A Tozun N

2005. Sexual transmission of HCV between spouses. *Am J Gastroenterol* 100: 821-824.

Tajiri H, Miyoshi Y, Shunpei F, Yuri E, Jiro A, Takashi O, Megumi G, Masahida F, Shinobu I, Chieko N, Mashairo N, Shintaro O 2001. Prospective study of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Pediatr Infect Dis J* 20 (1): 10-14.

Tanwandee T, Piratvisuth T, Phornphutkul K, Mairiang P, Permpikul P, Poovorawan Y 2006. Risk factors of hepatitis C virus infection in blood donors in Thailand: a multicenter case-control study. *J Med Assoc Thai* 89 (Suppl 5): S79-S83.

Tarik A, Bièche I, Paradis V, Bedossa P, Vidaud M, Marcellin P 2007. Genetics, Genomics, and Proteomics: Implications for the Diagnosis and the Treatment of Chronic Hepatitis C. *Sem Liver Dis* 27: 13-27.

Thakral B, Marwaha N, Chawla YK, Saluja K, Sharma A, Sharma RR, Minz RW, Agnihotri SK 2006. Prevalence & significance of hepatitis C virus (HCV) seropositivity in blood donors. *Indian J Med Res* 124 (4): 431-438.

Thaikruea L, Thongsawat S, Maneekarn N, Netski D, Thomas DL, Nelson KE 2004. Risk factors for hepatitis c virus infection among blood donors in Northern Thailand. *Transfusion* 44 (10): 1433-1440.

Thomson BJ, Finch RG 2005. Hepatitis C virus infection. *Clin Microbiol Infect* 11: 86-94.

[Timm J](#), [Neukamm M](#), [Kuntzen T](#), [Kim AY](#), [Chung RT](#), [Brander C](#), [Lauer GM](#), [Walker BD](#), [Allen TM](#) 2007. Characterization of full-length hepatitis C virus genotype 4 sequences. *J Viral Hepat* 14 (5): 330-337.

Torres-Puente M, Cuevas JM, Jiménez-Hernández N, Bracho MA, García-Robles I, Carnicer F, Olmo J, Ortega E, Moya A, González-Candelas F 2007. Contribution of insertions and deletions to the variability of hepatitis C virus populations. *J Gen Virol* 88: 2198-2203.

Tortu S, McMahon JM, Pouget ER, Hamid R 2004. Sharing of noninjecting drug-use implements as risk factors for hepatitis C. *Subst Use Misuse* 39 (2): 211-224.

Uribe M, Mendes-Sanches N 2002. Hepatitis C in México. *Rev Gastroenterol Mex* 67 (Suppl 2): S7-S8.

Valente VBDI, Covas DT, Passos ADC 2005. Hepatitis B and C serologic markers in blood donors of the Ribeirão Preto Blood Center. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 (6): 488-492.

Van de Laar TJW, Van der Bij AK, Prins M, Bruisten SM, Brinkman K, Ruys TA, van der Meer JTM, Vries HJC, Mulder J-W, van Agtmael M, Jurriaans S,

Wolthers KC, Coutinho RA 2007. Increase in HCV incidence among men who have sex with men in Amsterdam most likely caused by sexual transmission. *JID* 196: 230-238.

Vandelli C, Renzo F, Romanò L, Tisminetzky S, De Palma M, Stroffolini T, Ventura E, Zanetti A 2004. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study. *Am J Gastroenterol* 99 (5): 855-859.

Vilarinho L, Bezerra I, Lacerda R, Latorre MRDO, Paiva V, Stall R, Hearst N 2002. Caminhoneiros de rota curta e sua vulnerabilidade ao HIV, Santos, SP. *Rev Saúde Pública* 36 (Suppl 4): 61-66.

Vivas-Arceo C, Benavides AS, Trujillo JDJ, Panduro A, Rivas-Estilla AM 2003. Hepatitis C virus: prevalence and routes of infection among blood donors of West Mexico. *Hepato Res* 25: 115-123.

Vogler IH, Nishiya A, Morimoto HK, Reiche EMV, Bortoliero AL, Matsuo T, Sabino EC, Vaz AJ 2004. Serological, epidemiological and molecular aspects of hepatitis C virus infection in a population from Londrina, PR, Brazil, 2001-2002. *Rev Inst Med trop S Paulo* 46 (6): 303-308.

Wasley A, Alter MJ 2000. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis* 20 (1): 91-96.

Weigand K, Stremmel W, Encke J 2007. Treatment of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 13 (13): 1897-1905.

Welbourn S, Green R, Gamache I, Dandache S, Lohmann V, Bartenschlager R, Meerovitch K, Pause A 2005. Hepatitis C virus NS2/3 processing is required for NS3 stability and viral RNA replication. *J Biol Chem* 280 (33): 29604-29611.

Yen T, Keeffe EB, Ahmed A 2003. The epidemiology of hepatitis C virus infection. *J Clin Gastroenterol* 36 (1): 47-53.

Yu G-Y, Lee K-J, Gao L, Lai MMC 2006. Palmitoylation and polymerization of hepatitis C virus NS4B protein. *J Virol* 80 (12): 6013-6023.

Zein NN 2000. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev* 13 (2): 223-235.

Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, Heathcote EJ, Lai M-Y, Gane E, O'Grady J, Reichen J, Diago M, Lin A, Hoffman J, Brunda MJ 2000. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 343 (23): 1666-1672.