

# Hepatite C na região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil: diagnóstico sorológico, molecular e genotipagem

Edith Motomi Nishiyama Sato<sup>1</sup> e Dennis Armando Bertolini<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Décima Quinta Regional de Saúde, Instituto de Saúde do Estado do Paraná, Secretaria de Saúde do Estado do Paraná, Maringá, Paraná, Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. \*Autor para correspondência. e-mail: dabertolini@uem.br

**RESUMO.** Foi realizado estudo retrospectivo de resultados de testes sorológico e molecular para detecção da infecção pelo vírus da hepatite C (VHC), em 4.288 pacientes atendidos pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2004. Empregou-se ensaio imunoenzimático em micropartículas (MEIA), transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e hibridização reversa (LiPA) para detecção de anticorpos anti-VHC, RNA-VHC e genótipos, respectivamente. Encontrou-se uma prevalência de anti-VHC de 7,3%. Observou-se uma substancial concordância (Kappa = 0,64;  $p < 0,05$ ) entre amostras com resultado DO/CO  $\geq 3,8$  utilizando MEIA e positividade do RNA-VHC por RT-PCR. Foram identificados 62,5% do genótipo 1, 10,0% do 2 e 27,5% do 3. Os resultados mostram uma alta prevalência do anti-VHC, provavelmente pelo atendimento de pacientes com maior risco de aquisição do VHC e uma inesperada maior frequência do genótipo 2.

**Palavras-chave:** hepatite C, anti-VHC, prevalência, genótipos, RT-PCR.

**ABSTRACT. Hepatitis C in the region of Maringá, Paraná State, Brazil: serological and molecular diagnosis, and genotyping.** A retrospective study was carried out in order to detect hepatitis C virus (HCV) infection in 4,288 patients by analyzing the results of serological and molecular tests at the Teaching and Research Laboratory on Clinical Analysis of the State University of Maringá, Paraná State, from January 2002 to December 2004. The microparticle enzyme immunoassay (MEIA); the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and reverse hybridization (LiPA) were used to detect the HCV antibodies (anti-HCV), the HCV RNA and the genotypes, respectively. A prevalence of 7.3% of anti-HCV was found. Furthermore, a substantial agreement was observed (Kappa = 0.64;  $p < 0.05$ ) among the samples, which was DO/CO ratio  $\geq 3.8$  by using the MEIA and HCV RNA positivity by RT-PCR. 62.5% of genotype 1; 10.0% of genotype 2; and 27.5% of genotype 3 was identified. Results showed a high prevalence of anti-HCV, probably caused by the presence of patients with a high risk to acquire HCV, as well as an unexpected high frequency of genotype 2.

**Key words:** hepatitis C, anti-HCV, prevalence, genotypes, RT-PCR.

## Introdução

O vírus da hepatite C (VHC) é um vírus RNA envelopado, classificado no gênero *Hepacivirus*, dentro da família *Flaviviridae*, conforme recente taxonomia viral (Fauquet *et al.*, 2005). Por constante mutação é capaz de escapar da vigilância imunológica do hospedeiro e de instalar infecção crônica em cerca de 55% a 85% dos pacientes infectados, com possível evolução para fibrose hepática, cirrose e carcinoma hepatocelular (Hoofnagle, 2002).

Apresenta uma grande variabilidade na sequência do genoma e sua classificação foi uniformizada por

um consenso durante a 2ª Conferência Internacional do VHC e Vírus Relacionados (Zein, 2000) em 6 genótipos e vários subtipos (Simmonds *et al.*, 1994). Genótipos 1, 2 e 3 têm distribuição mundial, genótipo 4 é comum no norte da África e Oriente Médio, genótipo 5, na África do Sul, e genótipo 6, em Hong Kong e no sudeste asiático (Zein, 2000).

Estima-se que 3% da população mundial (correspondente a 170 milhões de pessoas) esteja infectada pelo VHC (Who, 1999a). Para o Brasil, a Organização Mundial de Saúde (OMS) calcula estimativa em torno de 2,6% (Who, 1999b) e o Ministério da Saúde (Brasil, 2003), em torno de 1,5% de portadores crônicos. A prevalência varia de

acordo com diferentes regiões do mundo e em diferentes populações, de uma frequência baixa de 0,6% em doadores voluntários de sangue a 80% em usuários de drogas endovenosas (Yen *et al.*, 2003). Embora em 20% a 40% dos casos as fontes de contaminação não sejam conhecidas, as duas mais comuns são o uso de drogas endovenosas e a transfusão de sangue ou de derivados (Karmochkine *et al.*, 1998). Esta última foi praticamente eliminada com a obrigatoriedade de os bancos de sangue brasileiros realizarem teste de triagem nos doadores, conforme Portaria n. 1376 do Ministério da Saúde (Brasil, 1993).

Atualmente, os testes diagnósticos mais utilizados são os ensaios imunoenzimáticos (EIA) de 3ª geração, que detectam anticorpos contra o vírus da hepatite C (anti-VHC), muito confiáveis em pacientes imunocompetentes. Posteriormente, o teste EIA positivo deve ser confirmado com a detecção qualitativa do RNA-VHC, utilizado também para verificar a resposta terapêutica. A determinação dos genótipos é importante na tomada de decisão quanto ao tratamento. Genótipo 1, mais comumente encontrado no Brasil, é menos responsivo ao tratamento que genótipos 2 ou 3, por isso a necessidade de se determinar a carga viral para o início do tratamento quando da presença desse genótipo. Os critérios de diagnóstico e de tratamento da hepatite viral crônica C constam no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, de caráter nacional, conforme Portaria n. 863 do Ministério da Saúde (Brasil, 2002).

Este trabalho teve como objetivo determinar as prevalências de anticorpos anti-VHC e dos genótipos nos pacientes da região de Maringá, Estado do Paraná, atendidos pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (Lepac), assim como comparar os resultados dos testes sorológico e molecular.

## Material e métodos

Foram analisados os resultados dos testes sorológico e molecular para detecção da infecção pelo VHC de pacientes atendidos pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (Lepac), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Estado do Paraná, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2004.

O Lepac atende a 30 municípios pertencentes à 15ª Regional de Saúde (15ª RS), no noroeste do Estado de Paraná, com uma população média de 670.000 habitantes, no período estudado. A maioria dos exames foi solicitada pelo Sistema Único de Saúde (SUS), alguns por convênios e, uma minoria, particular.

A pesquisa de anticorpos anti-VHC no soro foi realizado no Lepac pela metodologia Enzimaimunoensaio em Micropartículas (MEIA) AsXYM HCV 3.0 (Laboratório Abbott), de sensibilidade 100% e especificidade entre 99,60% e 99,84%, conforme as instruções do fabricante. O resultado foi expresso pela razão entre densidade óptica da amostra (DO) e valor do limite de corte (CO). Amostras com taxa  $DO/CO \geq 1$  foram consideradas positivas, negativas com  $DO/CO < 0,8$  e inconclusivas, com  $0,8 \leq DO/CO < 1$ .

Considerando que um resultado  $DO/CO \geq 3,8$  tem alto valor preditivo positivo (CDC, 2003), classificaram-se os resultados do teste para o anti-VHC dos pacientes analisados em dois grupos:

- positivo baixo: amostras com  $1 \leq DO/CO < 3,8$ ;
- positivo alto: amostras com  $DO/CO \geq 3,8$ .

Os pacientes que tiveram dois resultados positivos para anti-VHC em datas diferentes e com Autorização do Procedimento de Alto Custo (APAC) fizeram nova coleta de sangue. Essas amostras foram encaminhadas ao Laboratório Central do Estado (Lacen) para realização do teste qualitativo/quantitativo do RNA do vírus da hepatite C (RNA-VHC) por Transcrição Reversa e Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR) e genotipagem, conforme solicitação médica.

A detecção qualitativa do RNA-VHC no plasma foi realizada pelo teste AMPLICOR Hepatitis C Virus 2.0 (Roche Diagnostics) com limite de detecção de 50 UI/mL (135 cópias/mL) e a quantitativa, pelo teste AMPLICOR HCV MONITOR®, versão 2,0 (Roche Diagnostics) com limite de detecção de 600 UI/mL (1.620 cópias/mL), seguindo as instruções do fabricante.

Para a determinação dos genótipos no plasma, utilizou-se o kit VERSANT™ HCV Genotype Assay (LiPA), Bayer Corporation, que detecta genótipos 1 a 6 e seus subtipos mais comuns, conforme as instruções do fabricante.

Os pacientes foram classificados em grupos: profissionais de saúde envolvidos em exposição ocupacional ao sangue, pacientes-fonte dos acidentados, portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), pacientes que receberam transfusão sanguínea antes de 1993 e “não-determinado”.

Por se tratar de um estudo retrospectivo, os dados foram resgatados de informações relatadas pelos pacientes ou constantes na requisição médica, não sendo, portanto, possível distribuir corretamente todos os pacientes em grupos, de acordo com suas características. Entre o grupo classificado como “não-determinado”, enquadram-se pacientes encaminhados

por gastroenterologistas e infectologistas, candidatos inaptos à doação de sangue, pacientes hospitalizados, amostras encaminhadas pela Vigilância Epidemiológica, entre outros.

Para a análise estatística, foi empregado o teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para níveis de significância de 0,1%, 1% e 5% e, para o teste de concordância (Kappa), utilizou-se o programa EPI INFO versão 6.0.

**Resultados**

Dos 4.288 pacientes atendidos pelo Lepac no período estudado, 2.351 (54,8%) eram do gênero feminino e 1.937 (45,2%) do gênero masculino. A variação de idade foi de 02 a 89 anos e a maioria (80,3%) tinha de 20 a 59 anos.

Conforme apresenta a Tabela 1, de 4.288 amostras analisadas para teste anti-VHC, 3.945 (92,0%) foram negativas, 314 (7,3%) positivas e 29 (0,7%) inconclusivas. Encontrou-se presença de anticorpos anti-VHC mais freqüentemente em pessoas de 30 a 69 anos de idade (269 - 85,7%).

Na faixa etária de 10 - 19 anos, foi observada uma maior freqüência de resultados negativos no teste de triagem anti-VHC ( $p < 0,05$ ) e uma menor freqüência de resultados positivos ( $p < 0,01$ ). Na faixa etária de 20 - 29 anos, a freqüência de resultados positivos foi menor ( $p < 0,01$ ), enquanto que, na faixa etária de 50 - 59 anos, encontrou-se uma freqüência maior de resultados positivos ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultados obtidos no teste de triagem para anticorpos anti-VHC em pacientes atendidos pelo Lepac, Maringá, Estado do Paraná, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2004, segundo a faixa etária.

Faixa Etária (anos)	Teste de Triagem*						Total	
	Negativo		Inconclusivo		Positivo		n	%
	n**	%	n	%	n	%		
02-09	87	98,9	1	1,1	0	0	88	2,1
10-19	353**	99,2	0	0	3#	0,8	356	8,3
20-29	971	96,3	4	0,4	33#	3,3	1008	23,5
30-39	994	90,8	4	0,4	97	8,8	1095	25,5
40-49	753	88,5	8	0,9	90	10,6	851	19,9
50-59	422	86,1	9	1,8	59**	12,1	490	11,4
60-69	204	89,5	1	0,4	23	10,1	228	5,3
>70	102	91,9	2	1,8	7	6,3	111	2,6
Não informada	59	96,7	0	0,0	2	3,3	61	1,4
<b>Total</b>	<b>3945</b>	<b>92,0</b>	<b>29</b>	<b>0,7</b>	<b>314</b>	<b>7,3</b>	<b>4288</b>	<b>100,0</b>

\*Teste de triagem: enzima imunoenensaio em micropartículas (MEIA) para anti-VHC; \*\*número de amostras; #  $p < 0,01$ ; \*\*  $p < 0,05$ ; Teste do Qui-quadrado; Positivo x Negativo nas Faixas Etárias

A Tabela 2 permite observar que, dentre os pacientes que realizaram o teste de triagem para o VHC no Lepac, a maioria (63,7%) foi composta por pacientes em que não foi possível a classificação (não determinado), o qual também apresentou uma maior positividade (71,7%), seguido pelo grupo dos portadores do HIV com 22,9% de prevalência. As

maiores prevalências de resultados inconclusivos também foram encontradas no grupo não-determinado (58,6%) e nos pacientes-fonte de acidentados (17,2%).

Observou-se uma menor freqüência de resultados positivos no teste de triagem anti-VHC no grupo de profissionais de saúde acidentados (1,9%;  $p < 0,001$ ) e no de pacientes-fonte (1,6%;  $p < 0,05$ ). O grupo de pacientes portadores do HIV apresentou uma maior freqüência (22,9%;  $p < 0,001$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Resultados obtidos no teste de triagem para anticorpos anti-VHC em pacientes atendidos pelo LEPAC, Maringá, Estado do Paraná, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2004, de acordo com classificação em grupos.

Grupos	Teste de triagem*						Total	
	Negativo		Inconclusivo		Positivo		N	%
	n**	%	n	%	n	%		
AT <sup>1</sup> - Acidentado	610	15,5	3	10,4	6#	1,9	619	14,4
AT <sup>2</sup> - Fonte	333	8,4	5	17,2	5**	1,6	343	8,0
Gestantes	99	2,5	0	0	5	1,6	104	2,4
Portadores do HIV <sup>3</sup>	366	9,3	4	13,8	72#	22,9	442	10,3
Transfusão sanguínea <sup>4</sup>	49	1,2	0	0	1	0,3	50	1,2
Não determinado	2488	63,1	17	58,6	225	71,7	2730	63,7
<b>Total</b>	<b>3945</b>	<b>92,0</b>	<b>29</b>	<b>0,7</b>	<b>314</b>	<b>7,3</b>	<b>4288</b>	<b>100,0</b>

\*Teste de triagem: enzima imunoenensaio em micropartículas (MEIA) para anti-VHC.; \*\*número de amostras; #  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,05$ ; Teste do Qui-Quadrado; positivo x negativo nos grupos; 1 Acidente de trabalho - profissionais de saúde acidentados; 2 Acidente de trabalho - paciente fonte do acidentado; 3 Portadores do vírus da imunodeficiência humana; 4 Transfusão sanguínea anterior a 1993.

Dentre os 343 pacientes com resultado positivo ou inconclusivo para anticorpo anti-VHC, 61 (17,8%) pacientes tiveram solicitação posterior para realizar RNA-VHC, dos quais 56 (91,8%) apresentaram confirmação da infecção pelo VHC e 5 (8,2%) foram negativos. A faixa etária que também apresentou mais positividade no teste confirmatório foi a de 30 a 69 anos de idade (53-94,6%) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resultados obtidos no teste confirmatório (RT-PCR) para diagnóstico da Hepatite C em pacientes atendidos pelo Lepac, Maringá, Estado do Paraná, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2004, segundo a faixa etária.

Faixa etária (anos)	Teste confirmatório*						Total	
	Negativo		Positivo		Não realizado		n	%
	n**	%	n	%	n	%		
02-09	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	0,3
10-19	1	33,3	0	0,0	2	66,7	3	0,9
20-29	0	0,0	3	8,1	34	91,9	37	10,8
30-39	1	1,0	17	16,8	83	82,2	101	29,5
40-49	1	1,0	19	19,4	78	79,6	98	28,7
50-59	2	2,9	10	14,7	56	82,4	68	19,9
60-69	0	0,0	7	29,2	17	70,8	24	7,0
>70	0	0,0	0	0,0	9	100,0	9	2,6
Não informada	0	0,0	0	0,0	2	100,0	2	0,6
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>1,5</b>	<b>56</b>	<b>16,3</b>	<b>282</b>	<b>82,2</b>	<b>343</b>	<b>100,0</b>

\*Teste confirmatório: Transcrição Reversa e Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR) para VHC; \*\*número de amostras.

A análise de dados dos 282 (82,2%) pacientes que não realizaram o teste confirmatório permitiu notar que 253 (89,7%) apresentaram resultados positivos

para o anticorpo anti-VHC, dos quais 190 (75,1%), considerados positivos-alto e 63 (24,9%), positivos-baixo, e que os demais (29 – 10,3%) mostraram resultados inconclusivos.

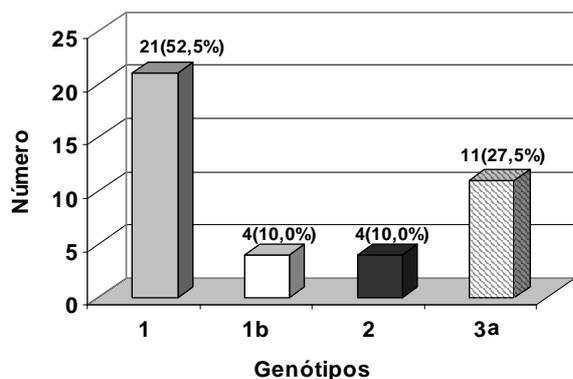
Conforme ilustra a Tabela 4, das amostras com resultado positivo alto ( $DO/CO \geq 3,8$ ) por MEIA, 96,5% (55) tiveram confirmação por RT-PCR e, das amostras positivo-baixo ( $1 \leq DO/CO < 3,8$ ), apenas 25% (1) foram confirmadas. Houve uma concordância substancial entre o teste de triagem com resultado  $DO/CO \geq 3,8$  e a positividade por RT-PCR (Kappa = 0,64;  $p < 0,05$ ).

**Tabela 4.** Concordância dos resultados obtidos no teste de triagem por enzimaímunoensaio em micropartículas (MEIA) e o teste confirmatório (RT-PCR) para diagnóstico da Hepatite C em pacientes atendidos pelo Lepak Maringá, Estado do Paraná, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2004.

Teste de triagem (MEIA)	Teste confirmatório (RT-PCR)		
	Positivo	Negativo	Total
	n	n	n
Grupo I – Positivo alto $DO/CO \geq 3,8$	55	2	57
Grupo II – Positivo baixo $1 \leq DO/CO < 3,8$	1	3	4
Total	56	5	61

n = número de amostras.; DO/CO = relação entre densidade óptica da amostra e valor do limite de corte; Kappa = 0,64;  $p < 0,05$ .

Os genótipos foram determinados em 40 (71,4%) das 56 amostras com RT-PCR positivo. Os resultados indicaram uma prevalência de 52,5% do genótipo 1, 10% do genótipo 1b, 10% do genótipo 2 e 27,5% do genótipo 3a (Figura 1).



**Figura 1.** Distribuição de genótipos do VHC em pacientes atendidos pelo Lepak, Maringá, Estado do Paraná, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2004 (n=40).

## Discussão

Desde a disponibilização de testes diagnósticos para detecção de anticorpos anti-VHC, estudos sobre a prevalência da infecção pelo VHC têm sido conduzidos no Brasil, principalmente em doadores de sangue e em grupos com maior risco de infecção.

A prevalência global de 7,3% para anticorpos

anti-VHC na população estudada pode ser explicada pelo fato de o Lepak atender, além dos pacientes mencionados, também os portadores de HIV encaminhados pelo ambulatório DST/AIDS. Devido às vias de transmissão comuns, a co-infecção entre HIV e VHC ocorre em cerca de 1/3 de indivíduos HIV positivos e provavelmente a infecção crônica por VHC age como doença oportunista, visto que a incidência e a progressão para a cirrose estão aumentadas nesses pacientes (Sulkowski *et al.*, 2000).

Pacientes com idade entre 30 e 69 anos apresentaram maiores freqüências de positividade para anticorpos anti-VHC, atingindo 12,1% na faixa de 50 a 59 anos. Em estudo realizado na população em geral da cidade de São Paulo, foi encontrada uma prevalência de 1,42% para hepatite C, que ocorreu mais freqüentemente em adultos com 30 anos ou mais, atingindo pico de 3,8% no grupo etário de 50 a 59 anos (Focaccia *et al.*, 1998).

Um outro estudo tipo caso-controle, conduzido entre doadores de sangue em Porto Alegre, revelou prevalência de 1,1%, tendo risco de soropositividade maior para HCV a faixa etária entre 30 e 59 anos (Brandão e Fuchs, 2002). Nos Estados Unidos da América (EUA), atualmente, pessoas entre 40 e 59 anos também apresentam maior prevalência de infecção pelo VHC (NIH, 2002).

A prevalência de anti-VHC nos pacientes HIV positivo foi de 22,9% e, dentre os 12 que fizeram confirmatório por RT-PCR, 11 (91,7%) apresentaram viremia detectável. Os dados são semelhantes aos obtidos em pacientes HIV positivos do ambulatório de AIDS da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: 17,7% de co-infecção HIV-VHC e, dos pacientes testados por RT-PCR, 98% apresentaram resultado positivo para hepatite C (Mendes-Corrêa, 2001). Entretanto, em 95 pacientes infectados por HIV de Florianópolis, foi observada uma prevalência de 54,7% de hepatite C (Treitinger *et al.*, 2000), enquanto Fonseca (1999) verificou uma prevalência menor, ou seja, 13,0%.

Observou-se uma prevalência de 1,9% em profissionais da área de saúde que sofreram acidente com material biológico, semelhante à prevalência estimada de 1% a 2% nos EUA (CDC, 1998) e de 2,23% no Brasil (Fonseca, 1999).

Não foram encontrados estudos de prevalência de anti-VHC em pacientes-fonte de profissionais de saúde acidentados com material biológico na literatura consultada, impossibilitando a comparação.

A prevalência de anti-VHC de 1,6% em gestantes foi o dobro da observada em gestantes atendidas no Hospital Universitário Regional de Londrina, no período de 1996 a 1998 (Reiche *et al.*, 2000). Na rotina

dos exames pré-natal, não está incluída a triagem para hepatite C. Como não existem precauções a serem tomadas para redução de transmissão materno-infantil, presume-se que as gestantes avaliadas no Lepac apresentavam suspeitas ou maior risco à infecção por VHC. Apesar disso, a prevalência está dentro da variação de 0,1% a 2,4%, relatada nas gestantes dos EUA (Roberts e Yeung, 2002).

Entre as 50 pessoas que receberam transfusão sanguínea antes de 1993, apenas 1 (0,3%) apresentou resultado fracamente positivo para anticorpos anti-VHC e negatividade para RNA-VHC, indicando resultado falso-positivo do teste de triagem ou infecção passada. Nos EUA, a prevalência de VHC em pessoas que receberam transfusão sanguínea antes de 1990 é de 6% (CDC, 1998). A ausência de risco transfusional não pode ser estendida à população em geral, em virtude do pequeno número de pessoas analisadas.

Teste imunoenzimático como MEIA, utilizado na triagem sorológica, apresenta alta sensibilidade e especificidade, mas indica apenas presença de anticorpos. Pode apresentar resultados falso-negativos durante a janela imunológica, assim como em indivíduos imunocomprometidos (pacientes transplantados, portadores de HIV) ou falso-positivos (35%), em uma população de baixa prevalência de infecção, como doadores voluntários de sangue, profissionais da área de saúde, população em geral (CDC, 2003). Ainda, segundo essa citação, amostras de pacientes imunocompetentes, com resultado superior ou igual a 3,8 vezes o limite de corte (DO/CO) no teste EIA para anticorpos anti-VHC, teriam elevada taxa de confirmação ( $\geq 95\%$ ) por *Recombinant Immunoblot Assay III* (RIBA) e pelo teste de detecção do RNA-VHC ( $>80\%$ ), sugerindo que testes suplementares poderiam ser limitados a amostras positivas com DO/CO $<3,8$ . Pawlowsky *et al.* (1998), analisando a relação custo-efetividade para o diagnóstico da hepatite C, concluíram ser desnecessária a realização do RIBA, propondo que a confirmação de resultados EIA negativo ou fracamente positivo, quando a clínica for compatível, seja efetuada por detecção de RNA-VHC.

Os resultados da pesquisa do anti-VHC comparados com o teste confirmatório (RT-PCR) neste trabalho sugerem uma substancial concordância entre positividade de RNA-VHC e o teste imunoenzimático com valores DO/CO $\geq 3,8$  (Kappa = 0,64;  $p < 0,05$ ). Um estudo conduzido nos EUA revelou que 71% das amostras com DO/CO $>3$  no EIA e 50% das amostras com DO/CO entre 1 e 3 apresentaram positividade para RNA-VHC (Gretch *et al.*, 1992). Um outro estudo,

em Campinas, reportou que 91,5% das amostras com DO/CO $\geq 3$  e 17,6% das amostras com  $1 \leq \text{DO/CO} < 3$  no EIA estavam associadas com a positividade de RNA-VHC (Gonçalves *et al.*, 2000). Em Londrina, estudo similar mostrou que 86,6% das amostras com DO/CO $\geq 5$  e 13,6% em amostras com  $1 \leq \text{DO/CO} < 5$ , no teste MEIA, apresentaram RNA-VHC detectável (Vogler *et al.*, 2004). No Distrito Federal, uma análise retrospectiva encontrou 93,7% de positividade para RNA-VHC, quando DO/CO $>3$  e 44% quando DO/CO $<3$  (Amorim *et al.*, 2004).

Alguns dos 282 (82,2%) pacientes que não fizeram o teste confirmatório podem ter realizado esse diagnóstico por algum tipo de convênio de saúde ou particular, o que seria pouco provável, visto que todos esses pacientes utilizaram o SUS como porta de entrada. Como a resolução espontânea da infecção pelo VHC ocorre em uma minoria dos casos, seria importante a confirmação do resultado positivo no teste de triagem para saber o verdadeiro estado de infecção por vírus da hepatite C.

Dois pacientes com resultados classificados como positivo-alto para anticorpos anti-VHC no teste MEIA realizaram teste para detecção de RNA-VHC (um, após 2 meses e outro, após 6 meses) que não foram confirmados, o que pode significar viremia indetectável ou infecção resolvida.

Identificou-se genótipo 1 em 52,5% das amostras, genótipo 1b em 10,0%, genótipo 2 em 10,0% e genótipo 3a em 27,5% das amostras. Não foi possível estabelecer subtipo em todos os pacientes, porém a classificação em nível de genótipo é suficiente para definir o esquema terapêutico. Métodos de genotipagem que utilizam a região 5' não traduzida (5'UTR), como o LiPA, podem apresentar problemas na diferenciação de subtipos, especialmente entre 1a e 1b. Por não ser suficientemente heterogênea, também não é capaz de distinguir entre genótipos 2a e 2c (Chen e Weck, 2002).

A distribuição de genótipos de VHC encontrada neste estudo é concordante com a distribuição geral na população brasileira. Em Londrina, o genótipo 1 foi o mais prevalente (77%), seguido do genótipo 3 (21,3%) e do genótipo 2 (1,6%) (Vogler *et al.*, 2004). No estado do Paraná, foram encontrados 52,6% de genótipo 1, 41,7% de genótipo 3 e 5,7% de genótipo 2 (Campiotto *et al.*, 2005). Vários outros estudos reportaram o genótipo 1 como o mais prevalente, seguido dos genótipos 3 e 2 (Martins *et al.*, 1998; Oliveira *et al.*, 1999; Amorim *et al.*, 2004), alguns com relatos de uma incomum alta frequência do genótipo 3, na região Sul (Krug *et al.*, 1996; Busek e Oliveira, 2003; Focaccia *et al.*, 2004; Campiotto *et al.*, 2005).

Chamou-nos a atenção a prevalência do genótipo 2 (10,0%), que foi maior que a encontrada por Vogler *et al.* (2004), em Londrina, e por Campiotto *et al.* (2005), no estado do Paraná, uma vez que Clemente e Carrilho (2003) relatam que esse genótipo é menos freqüentemente encontrado no Brasil.

### Conclusão

Com base nos resultados obtidos, observa-se uma alta prevalência (7,3%) de anticorpos anti-VHC na população estudada.

A faixa etária que apresenta a maior freqüência de positividade para anti-VHC é de 50 a 59 anos, sugerindo o desconhecimento da infecção inicial por parte da maioria dos pacientes pelo fato de não apresentar sintomas ou, inespecíficos quando presentes, sendo a infecção diagnosticada décadas mais tarde com a progressão da doença.

Embora o número de amostras encaminhadas para o teste confirmatório tivesse sido pequeno (61), nota-se que o resultado da técnica de MEIA com DO/CO $\geq$ 3,8 é concordante com o resultado do teste confirmatório. Ideal seria a realização deste teste em amostras de todos os pacientes com resultados inconclusivos ou positivos para anti-VHC, mas fazendo uso apropriado de recursos disponíveis, poder-se-ia realizar o teste confirmatório, pelo menos, nos pacientes com resultados DO/CO $\geq$ 3,8 (imunocompetentes).

A distribuição dos genótipos do VHC encontrada neste trabalho, apesar de uma amostragem pequena (n = 40), apresenta uma inesperada maior freqüência de genótipo 2 (10,0%).

As ações de vigilância, prevenção e de acesso ao diagnóstico e tratamento são estratégias fundamentais para a saúde pública. Espera-se que, na área de abrangência da 15ª RS, com a inserção do aconselhamento e triagem sorológica das hepatites virais no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA), haja uma redução de incidência e prevenção secundária da doença hepática crônica.

### Agradecimentos

A Sueli Massumi Nakatani, do Laboratório Central do Estado do Paraná, Sonia Kaori Miyamoto e Maria Ferreira dos Santos Neta, da 15ª Regional de Saúde do estado do Paraná, e Miria Ramos, do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná, pela colaboração na realização das técnicas utilizadas. Ao Curso de Especialização em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná, pela bolsa recebida.

### Referências

- AMORIM, R.M.S. *et al.* Hepatitis C virus genotypes in blood donors from the Federal District, Central Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 99, n. 8, p. 895-897, 2004.
- BRANDÃO, A.B.M.; FUCHS, S.C. Risk factors for hepatitis C virus infection among blood donors in southern Brazil: a case-control study. *BMC Gastroenterology*, Bethesda, v. 2, n. 1, p. 18, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 1376, de 19 de nov. 1993. *Diário Oficial da União*, 2 dez. 1993, 131 (seção 1), p. 18405-18415.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência a Saúde. Portaria n. 863, de 04 de novembro de 2002. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – Hepatite viral crônica C. Disponível em: <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/PORT2002/PT-863.htm>>. Acesso em: 24 jun. 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Programa Nacional de Hepatites Virais. *Hepatites Virais: o Brasil está atento*. Brasília, DF, 2003, 24 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
- BUSEK, S.; OLIVEIRA, G. Molecular epidemiology of the hepatitis C virus in Brazil. *Genet. Mol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 2, n. 1, p. 117-123, 2003.
- CAMPIOTTO, S. *et al.* Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 38, n. 1, p. 41-49, 2005.
- CDC-Centers of Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR*, v. 47, n. RR-19, p.1-39, 1998. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/RR/RR4719.pdf>>. Acesso em: 27 fev. 2005.
- CDC-Centers of Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. *MMWR*, v. 52, n. RR-3, p. 1-16, 2003. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwr.html/rr5203a1.htm>>. Acesso em: 27 fev. 2005.
- CHEN, Z.; WECK, K.E. Hepatitis C virus genotyping: interrogation of the 5' untranslated region cannot accurately distinguish genotypes 1a and 1b. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, D.C., v. 40, n. 9, p. 3127-3134, 2002.
- CLEMENTE, M.C.; CARRILHO, F.J. Epidemiologia. In: SILVA, L.C. da. *Hepatites agudas e crônicas*. 3. ed, São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 16, p. 109-134.
- FAUQUET, C.M. *et al.* *Virus taxonomy*. Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. Elsevier, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/fr-index.htm>>. Acesso em: 26 jun. 2005.
- FOCACCIA, R. *et al.* Estimated prevalence of viral hepatitis in the general population of the municipality of São Paulo, measured by a serologic survey of a stratified, randomized and residence-based population. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 38, n. 6, p. 269-284, 1998.

- FOCACCIA, R. *et al.* Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.*, Salvador, v. 8, n. 5, p. 348-355, 2004.
- FONSECA, J.C.F. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C no Brasil. Relatório do grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. *GED*, São Paulo, v. 18, p. 3-8, 1999.
- GONÇALES, N.S.L. *et al.* 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*, São Paulo, v. 42, n. 5, p. 263-267, 2000.
- GRETCH, D. *et al.* Use of amionotransferase, 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.*, Washington, D.C., v. 30, n. 8, p. 2145-2149, 1992.
- HOOFNAGLE, J.H. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology*, Washington, D.C., v. 36, n. 5, suppl. 1, p. S21-S29, 2002.
- KARMOCHKINE, M. *et al.* Transmission modes of hepatitis C virus. *Presse Med.*, Paris, v. 27, n. 18, p. 871-876, 1998.
- KRUG, L.P. *et al.* Hepatitis C virus genotypes in Southern Brazil. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 29, n. 12, p. 1629-1632, 1996.
- Management of hepatitis C: 2002. *NIH Consens State Sci Statements*. v. 19, n. 3, p.1-46, 2002. Disponível em: <[http://www.consensus.nih.gov/cons/116/hepatitis\\_c\\_consensus.pdf](http://www.consensus.nih.gov/cons/116/hepatitis_c_consensus.pdf)>. Acesso em: 27 fev. 2005.
- MARTINS, R.M.B. *et al.* Hepatitis C virus genotypes among blood donors from different regions of Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 93, n. 3, p. 299-300, 1998.
- MENDES-CORRÊA, M.C.J. *et al.* Hepatitis C virus seroprevalence and risk factors among patients with HIV infection. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 15-19, 2001.
- OLIVEIRA, M.L.A. *et al.* Distribution of HCV genotypes among different exposure categories in Brazil. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 32, n. 3, p. 279-282, 1999.
- PAWLOTSKY, J.M. *et al.* What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories? *Hepatology*, Washington, D.C., v. 27, n. 6, p. 1700-1702, 1998.
- REICHE, E.M.V. *et al.* Prevalência de tripanossomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba, v. 33, n. 6, p. 519-527, 2000.
- ROBERTS, E.A.; YEUNG, L. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology*, Washington, D.C., v. 36, n. 5, suppl 1, p. 106-113, 2002.
- SIMMONDS, P. *et al.* A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology*, Washington, D.C., v. 19, n. 5, p. 1321-1324, 1994.
- SULKOWSKI, M. *et al.* Hepatitis C virus infection as an opportunist disease in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.*, Boston, v. 30, suppl 1, p. 77-84, 2000.
- TREITINGER, A. *et al.* Hepatitis B and hepatitis C prevalence among blood donors and HIV-1 infected patients in Florianópolis - Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.*, Salvador, v. 4, n. 4, p. 192-196, 2000.
- VOGLER, I.H. *et al.* 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*, São Paulo, v. 46, n. 6, p. 303-308, 2004.
- WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a Who Consultation organized in collaboration with the viral hepatitis C prevention board, Antwerp, Belgium. *J. Viral Hepat.*, Oxford, v. 6, n. 1, p. 35-47, 1999a.
- WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. Hepatitis C global prevalence (update). *Wkly Epidemiol. Rec.* Genebra, v. 74, n. 49, p. 421-428, 1999b. Disponível em: <<http://www.who.int/docstore/wer/pdf/1999/wer7449.pdf>>. Acesso em: 27 fev. 2005.
- YEN, T.M.D. *et al.* The epidemiology of hepatitis C virus infection. *J. Clin. Gastroenterol.*, New York, v. 36, n. 1, p. 47-53, 2003.
- ZEIN, N.N. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin. Microbiol. Rev.*, Washington, D.C., v. 13, n. 2, p. 223-235, 2000.

Received on October 24, 2005.

Accepted on June 05, 2006.