

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: GASTROENTEROLOGIA

**ESTUDO DA PREVALÊNCIA DO ANTI-VHC NOS  
PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS E SEUS  
RESPECTIVOS DOADORES**

Maria Lúcia Zanotelli

T. 1137

Porto Alegre  
1994

MLD

10060  
05187287

T

WJ368 233e 1994

{000171155} Zanotelli, Maria Lucia. Estudo da  
prevalência do anti-vhc nos pacientes  
transplantados renais e seus respectivos  
doadores. 1994. 142 f. : il.

MLD

## FICHA CATALOGRÁFICA

Z38p Zanutelli, Maria Lúcia

Estudo da prevalência do anti-VHC nos pacientes transplantados renais e seus respectivos doadores/Maria Lúcia Zanutelli - Porto Alegre : UFRGS, 1994. - 142 p. : il.

Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Medicina.

1. Transplante renal. 2. Hepatopatias. 3. Infecção por VHC. I. Silveira, Themis T. da. II. Título

CDU: 616.61-089.84:616.36

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: GASTROENTEROLOGIA

**ESTUDO DA PREVALÊNCIA DO ANTI-VHC NOS  
PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS E  
SEUS RESPECTIVOS DOADORES**

**Autora:** Maria Lúcia Zanotelli

**Orientadora:** Profa. Dra. Themis Reverbél da Silveira

*Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Curso de Pós-Graduação em Medicina: Gas-  
troenterologia, para obtenção do título de  
Mestre.*

Porto Alegre  
1994

## DEDICATÓRIA

*Ao Guido, por seu carinho, paciência e compreensão inesgotáveis.*

*Aos meus pais, que desde cedo se privaram da minha convivência e, mesmo de longe, sempre apoiaram e estimularam meu crescimento profissional.*

*Se não há pensamento, não há pensador; são duas coisas inseparáveis; o pensador e o pensamento.*

*E nós, pessoas comuns, com os nossos cotidianos problemas, temos igualmente de viver com uma compreensão mais profunda. Interessá-nos descobrir, pensar, penetrar no desconhecido.*

De *O Vôo da Águia* - Krishnamurti

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

À Professora Themis que, já Doutora em Medicina, com vasto conhecimento da Hepatologia, aceitou ser orientadora de uma cirurgiã com interesse no aprendizado das doenças hepáticas.

Seu apoio, incentivo e entusiasmo me cativaram. Mais do que uma mestra, considero-a uma amiga e um modelo a ser seguido.

O meu agradecimento muito especial por ter acreditado em mim.

## AGRADECIMENTOS

Às farmacêuticas-bioquímicas Maria Clara Medina Correa e Marisa Chersky, pela realização dos testes sorológicos, assim como ao Serviço de Imunologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

À Dra. Leila M.P.B. Pereira, que atenciosamente se responsabilizou pela intercâmbio deste estudo com o Hospital *King's College* - Londres, incluindo a pesquisa do VHC-RNA.

À enfermeira e grande amiga Gelir Scolari, que me auxiliou sobremaneira desde o início deste trabalho, mostrando-se sempre confiante, positiva e otimista.

Aos médicos e funcionários do Serviço de Nefrologia, Hemodiálise e Transplante Renal da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo auxílio na metodologia do trabalho.

Ao Curso de Pós-Graduação de Gastroenterologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, especialmente ao Coordenador Professor Sérgio Barros.

Aos funcionários do Bloco Cirúrgico do Hospital São Francisco e do Laboratório Central da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

À Profa. Maria do Horto Soares Motta, pelo apoio incansável na revisão do texto deste trabalho.

Ao Prof. João Alberto de Souza Júnior, pela orientação estatística do trabalho.

Ao Laboratório Behringwerke, pela doação dos testes anti-VHC e HBsAg.

À FAPERGS, pelo auxílio financeiro do projeto, possibilitando a realização do mesmo.

# SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

ABREVIATURAS UTILIZADAS

RESUMO

SUMMARY

**1- INTRODUÇÃO / 22**

1.1- Transplante Renal / 22

1.1.1 - *Aspectos Históricos* / 22

1.1.2 - *Análise Custo-Benefício* / 24

1.1.3 - *Seleção de Receptores e Doadores* / 27

1.1.4 - *Complicações Infeciosas Pós-Transplante* / 37

1.2 - Hepatite Viral C / 43

1.2.1 - *Considerações Finais* / 43

1.2.2 - *Vírus da Hepatite C* / 46

1.2.3 - *Diagnóstico Sorológico* / 51

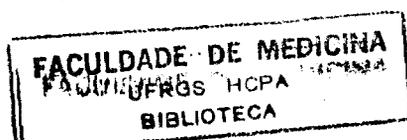
1.3 - Anti-VHC e Transplante Renal / 54

**2 - JUSTIFICATIVA / 58**

**3 - OBJETIVOS / 60**

3.1 - Geral / 60

3.2 - Específicos / 60



## **4 - PACIENTES E MÉTODOS / 63**

### **4.1 - Delineamento / 63**

### **4.2 - População em Estudo / 63**

#### **4.2.1 - Crêterios de Elegibilidade e de Exclusão / 64**

#### **4.2.2 - Tamanho da Amostra / 64**

### **4.3 - Variáveis em Estudo / 65**

### **4.4 - Avalia o das Variáveis / 67**

### **4.5 - Análise dos Dados / 69**

## **5 - RESULTADOS / 71**

### **5.1 - Características dos Receptores e Doadores Renais / 71**

### **5.2 - Avalia o Sorológica dos Receptores e Doadores Renais / 73**

### **5.3 - Estado Sorológico Anti-VHC e Características dos Receptores / 82**

### **5.4 - Avalia o Bioquímica dos Receptores / 84**

## **6 - DISCUSSÃO / 87**

### **6.1 - Característica dos Receptores e Prevalência do Anti-VHC / 87**

### **6.2 - Testes Sorológicos da Hepatite C e Transplante Renal / 91**

### **6.3 - Transmissão do VHC-RNA pelo Enxerto Renal / 94**

### **6.4 - Positividade ao Anti-VHC e HBsAg nos Receptores e Doadores Renais / 98**

### **6.5 - Concentra es Séricas de AST e ALT e Estado Anti-VHC do Receptor / 100**

## **7 - CONCLUSÕES / 104**

## **8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS / 107**

## **ANEXOS**

## **LISTA DE QUADROS**

- QUADRO 1 -** Contra-indicações para o Tx renal / 28
- QUADRO 2 -** Contra-indicações para doação renal - DV / 32
- QUADRO 3 -** Avaliação complementar do DV / 33
- QUADRO 4 -** Contra-indicações para doação renal - DC / 35
- QUADRO 5 -** Hepatite C - vias de transmissão / 44
- QUADRO 6 -** Regiões genômicas / proteínas do VHC utilizadas nos testes anti-VHC / 52
- QUADRO 7 -** Variáveis em estudo / 65

## **LISTA DE FIGURAS**

**FIGURA 1** - Anti-VHC e Tx renal / 30

**FIGURA 2** - Metodologia para detecção da fração protéica antigênica capaz de diagnosticar a presença de anticorpo contra o VHC / 47

**FIGURA 3** - Organização genômica do flavivírus proposta para o VHC / 48

## **LISTA DE TABELAS**

- TABELA 1** - Qualidade de vida pós-Tx comparada ao tratamento dialítico / 25
- TABELA 2** - Variação geográfica na prevalência dos genótipos do VHC / 49
- TABELA 3** - Características demográficas dos receptores / 71
- TABELA 4** - Características clínicas dos receptores / 72
- TABELA 5** - Características demográficas dos doadores / 73
- TABELA 6** - Positividade ao anti-VHC nos receptores renais pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx pelos testes Elisa da UBI, Abbott e Behring / 75
- TABELA 7** - Prevalência do anti-VHC nos doadores pelos testes Elisa da UBI, Abbott e Behring / 76
- TABELA 8** - Comparação da positividade do VHC-RNA por PCR nos receptores anti-VHC positivos pelo teste da UBI / 77
- TABELA 9** - Comparação da positividade do VHC-RNA por PCR nos doadores anti-VHC positivos pelo teste da UBI / 78
- TABELA 10** - Resultados dos testes anti-VHC dos receptores de acordo com o estado sorológico dos doadores / 78
- TABELA 11** - Estado sorológico anti-VHC dos receptores e positividade ao HBsAg (Abbott e Behring), ao HBeAg e ao anti-HBe, pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano Pós-Tx / 80
- TABELA 12** - Estado sorológico anti-VHC dos doadores e positividade ao HBsAg (Abbott e Behring), ao HBeAg e ao anti-HBe / 81
- TABELA 13** - Características demográficas e clínicas dos receptores de acordo com o estado sorológico anti-VHC / 83
- TABELA 14** - Comparação dos níveis séricos de ALT e AST pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx com os resultados dos testes anti-VHC Elisa de segunda geração nos receptores positivos e negativos / 85

## **ABREVIATURAS UTILIZADAS**

|          |  |
|----------|--|
| ABTO     | Associação Brasileira de Transplante de Órgãos                   |
| ALT      | Alanina Aminotransferase ou Transaminase Glutâmico-Pirúvica      |
| Anti-HBc | Antígeno core da Hepatite B                                      |
| Anti-HBe | Anticorpo para o antígeno "e" da hepatite B                      |
| Anti-HIV | Anticorpos contra o Vírus da Imunodeficiência Humana             |
| Anti-VHC | Anticorpos contra o Vírus da Hepatite C                          |
| AST      | Aspartato Aminotransferase ou Transaminase Glutâmico-Oxalacético |
| CAPD     | Diálise Peritoneal Ambulatorial Crônica                          |
| CFR      | Controles Fortemente Reagentes                                   |
| CMV      | Citomegalovírus  |
| CNR      | Controles Não Reagentes  |
| DBPOC    | Doença Bronco-Pulmonar Obstrutiva Crônica                        |
| DC       | Doador Cadavérico  |
| DM       | Diabete Mellitus   |
| DNAc     | DNA complementar   |
| DP       | Diálise Peritoneal   |
| DV       | Doador Vivo  |
| DVNR     | Doador Vivo Não Relacionado                                      |
| DVR      | Doador Vivo Relacionado  |
| EBV      | Epstein-Baar Vírus   |
| EQU      | Exame Qualitativo de Urina                                       |
| EUA      | Estados Unidos da América  |
| EV       | Endovenoso   |
| HAS      | Hipertensão Arterial Sistêmica                                   |
| HBeAg    | Antígeno "e" da hepatite B                                       |
| HBsAg    | Antígeno de Superfície da Hepatite B                             |
| HCP      | Hepatite Crônica Persistente                                     |
| HD       | Hemodiálise  |
| HLA      | Antígeno de Histocompatibilidade                                 |
| HPT      | Hepatite Pós-Transfusional                                       |

|         |  |
|---------|--|
| HSV     | Herpes Simples Vírus                                 |
| IAM     | Infarto Agudo do Miocárdio                           |
| IRC     | Insuficiência Renal Crônica                          |
| ISCOMPA | Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre |
| TTP     | Tempo de Tromboplastina Parcial ativado              |
| MIs     | Membros Inferiores                                   |
| NANB    | Não A não B  |
| NCx     | Absorção média dos controles negativos               |
| PAM     | Pressão Arterial Média                               |
| PCR     | Reação em Cadeia da Polimerase                       |
| PCx     | Absorção média dos controles positivos               |
| PFH     | Provas de Função Hepática                            |
| PVC     | Pressão Venosa Central                               |
| RIBA    | Ensaio "Immunoblot" Recombinante                     |
| SNC     | Sistema Nervoso Central                              |
| SNG     | Sonda Nasogástrica                                   |
| TP      | Tempo de Protrombina                                 |
| TVP     | Trombose Venosa Profunda                             |
| Tx      | Transplante  |
| UTI     | Unidade de Tratamento Intensivo                      |
| VHB     | Vírus da Hepatite B                                  |
| VHB-DNA | Fração DNA do vírus da hepatite B                    |
| VHC     | Vírus da Hepatite C                                  |
| VHC-RNA | RNA do Vírus da Hepatite C                           |
| VZV     | Varicella Zoster Vírus                               |

**RESUMO**

---

## RESUMO

Doença hepática crônica é uma complicação freqüente no transplante (Tx) renal. O risco de infecção pelo VHC nos pacientes em HD e transplantados renais é alto. Investigou-se a prevalência do anti-VHC em 48 receptores renais (24 masculinos; média de idade 37 anos  $\pm$  14) e seus respectivos doadores (28 masculinos; média de idade 32 anos  $\pm$  12,76). A pesquisa do anti-VHC foi realizada em 192 amostras (144 de transplantados e 48 de doadores). Foi coletado sangue dos receptores no pré-operatório (pré-Tx), aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx; e dos doadores no momento da nefrectomia. As amostras foram conservadas a - 20 °C. Os testes anti-VHC utilizados foram dos laboratórios UBI (peptídeos sintéticos do VHC), Abbott e Behring (ELISA de segunda geração). Nos pacientes com positividade ao anti-VHC pelo teste da UBI, foi pesquisado o VHC-RNA por PCR. Nas amostras colhidas pré-Tx, 12 de 48 receptores (25%) foram positivos pelo teste anti-VHC Abbott, 11 de 48 (22,92%) pelo teste do laboratório Behring e 11 de 40 (27,50%) pelo teste da UBI. Nove (19%) receptores foram anti-VHC positivos pré-Tx nos três testes. A positividade ao anti-VHC no período de 1 ano de seguimento foi de 16 em 48 pacientes (33,33%). Dois pacientes tornaram-se positivos para o anti-VHC aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx. Um deles apresentou positividade também ao VHC-RNA. Nenhum receptor com anti-VHC positivo pré-Tx negativou em 1 ano de seguimento. Verificou-se a presença do VHC-RNA apenas em 5 de 11 pacientes (45,45%) pré-Tx e em 6 de 12 (50,00%) aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o tempo de hemodiálise pré-Tx e o número de transfusões recebidas pelos pacientes anti-VHC positivos em relação aos negativos. As dosagens séricas de AST e ALT nos períodos pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx não mostraram significância estatística na comparação dos receptores anti-VHC negativos e positivos. Três de 40 doadores (7,50%) foram anti-VHC positivos pelo teste da UBI e 4 de 48 (8,33%) pelos testes dos laboratórios Abbott e Behring. Dois de 3 doadores (66,66%) apresentaram positividade ao VHC-

-RNA. Concluiu-se que: a) prevalência do anti-VHC pré-Tx no estudo foi de 27,50% (UBI), 25,00% (Abbott) e 22,92% (Behring); b) o total de seroconversão para anti-VHC positivo foi de 1 paciente aos 6 meses (UBI), 1 aos 6 meses e outro em 1 ano (Abbott), e 2 em 1 ano (Behring); c) nenhum receptor anti-VHC positivo pré-Tx seroconverteu no período de seguimento de 1 ano; d) os pacientes VHC-RNA positivos pré-Tx mantiveram a positividade aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx, evidenciando persistência da replicação viral apesar da imunossupressão; e) os doadores anti-VHC positivos não transmitiram a infecção através do enxerto renal no seguimento de 1 ano pós-operatório; f) detectou-se a presença do VHC-RNA em 5 de 11 receptores anti-VHC positivos pelo teste da UBI pré-Tx e em 6 de 12 aos 6 meses e em 1 ano.



## **SUMMARY**

Chronic liver disease is common in kidney transplant (Tx) recipients. The risk of hepatitis C virus (HCV) infection in hemodialysis patients and renal transplantation is high. The recent availability of serological tests for the antibody to HCV (anti-HCV) has allowed the diagnosis of HCV in these patients. We have investigated the prevalence of HCV infection in 48 kidney recipient patients (24 male, median age 41 years  $\pm$  14) and in their corresponding donors (28 male, median age 32 years  $\pm$  12.76). The total number of the patients studied was 96. Anti-HCV was tested in 192 sera (144 from recipients and 48 from donors). The serum specimens were collected from the donors at the time of donation and prospectively from the recipients pre-Tx and at 6 and 12 months post-Tx. The samples were stored at - 20 °C. The anti-HCV tests used were commercial ELISA kits based on synthetic HCV peptides (UBI, New York-USA) and Enzygnost Anti-HCV (Behring) and Abbott HCV EIA 2nd generation. HCV-RNA was performed by reverse transcriptase polymerase chain reaction (PCR) using "nested primers" in the patients with UBI anti-HCV positive. Twelve of 48 (25%) were Abbott anti-HCV tests positive, 11 of 48 (23%) were positive by Behring tests and 1 of 40 (27,50%) were UBI positive tests. Nine (19%) patients were Anti-HCV positive pre-Tx to the three tests. The general positive anti-HCV was 33.33% (16 of 48 patients) during 1 year of follow-up. Two more patients became positive after 6 and 12 months post-Tx. None recipient anti-HCV positive pre-Tx became negative after 1 year. One of them was HCV-RNA positive too. Only 5 of 11 patients (45.45%) were HCV-RNA positive pre-Tx and 6 of 12 (50.00%) at 6 and 12 months post-Tx. The time of hemodialysis and blood transfusion didn't show significance between anti-HCV positive and negative recipients. The ALT levels  $< 2 N$  at 1 year post-operative were not statistically significant in comparison of positive and negative anti-HCV patients. Three of 40 donors (7.50%) were positive for anti-HCV antibody UBI and 4 of 48 (8.33%) to the Behring e Abbott tests. Two of 3 donors (66.66%) had HCV-RNA positive. In conclusion: a) the prevalence of anti-HCV positive pre-Tx was 27.50% (UBI) and 25.00% (Abbott) and 22.92% (Behring); b) the total of serconversion to positive was 1 patient at 6 months (UBI) and 1 at 6 months

and other at 1 year (Abbott) and 2 at 12 months (Behring); c) none anti-HCV positive patient became negative after 1 year post-Tx; d) the patients maintain the positivity of HCV-RNA at 6 and 12 months pos-Tx showing persistence of viral replication under immunosuppression; e) anti-HCV positive donors do not transmitted the infection during one year post-Tx; f) the HCV-RNA was presented in 5 of 11 UBI anti-HCV positive recipients pre-Tx and 6 of 12 at 6 months and 1 year post-Tx.



## **INTRODUÇÃO**

### **1.1 - Transplante Renal**

#### *1.1.1 - Aspectos Históricos*

O primeiro transplante (Tx) renal com sucesso foi realizado por Murray (83), em Boston - EUA, no *Peter Bent Brigham Hospital*, no dia 23 de dezembro de 1954. Um rim normal foi removido de um doador saudável, chamado Ronald Herrick, gêmeo idêntico do receptor Richard Herrick, portador de insuficiência renal crônica (IRC) em estágio terminal. O rim transplantado iniciou a produzir urina imediatamente após o implante, e o paciente viveu durante 8 anos com boa função renal.

Resultados similares, no entanto, não ocorriam com enxertos de doadores vivos não-relacionados (DVNR) ou cadavéricos (DC). Mesmo pacientes que recebiam órgãos de doadores vivos relacionados (DVR) mas geneticamente diferentes, pareciam ter uma barreira que impedia o sucesso do Tx.

A existência dessa barreira foi identificada na década de 40, devendo-se a mesma, provavelmente, a uma reação imunológica ativa do receptor estimulada por antígenos do doador (54). A natureza dessa reação imunológica e o caminho que ela determina à rejeição do enxerto têm sido foco da atenção de vários pesquisadores nestas últimas décadas (19, 80, 84).

A descoberta de drogas imunossupressoras e a sua utilização a partir de 1959 estimularam o desenvolvimento de programas de Tx pela redução do risco de rejeição do enxerto sem causar uma toxicidade muito grande. Iniciava-se a era clínica moderna do Tx de órgãos (84).

Foi no final da década de 70, no entanto, com a introdução da ciclosporina, que ocorreu um impacto na prática do Tx renal, pela melhora tanto da sobrevida do enxerto, como da qualidade de vida dos pacientes transplantados (19).

O primeiro país da América Latina a realizar um Tx renal foi a Argentina, em 1957, seguida pelo México, em 1963, e pela Colômbia e Brasil, em 1965. No período de 1970 a 1978, 15.195 Tx renais foram realizados na América Latina, sendo o Brasil o país que fez o maior número, com um total de 6.721 (44,23%), seguido pelo México (2.028), Argentina (1.546), Cuba (1.161) e Chile (988) (116).

O primeiro Tx renal no Brasil ocorreu no dia 21 de janeiro de 1965, no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O paciente recebeu o rim do irmão e viveu normalmente mais de 8 anos. Em 1967, foi realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, o primeiro Tx renal com DC no país, embora a lei que regulamentou a doação de órgãos intervivos e de cadáveres no Brasil tenha sido promulgada em agosto de 1968 (62).

No Rio Grande do Sul, o primeiro Tx renal foi realizado no ano de 1968, na Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA) na extinta enfermaria 30 do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela equipe do Prof. Loreno Brentano.

Em 1976, a Sociedade Brasileira de Nefrologia criou a Comissão de Diálise e Transplante, cuja finalidade era coordenar as atividades de diálise e Tx no Brasil. Em 1982 essa comissão apresentou os dados sobre Tx renais realizados no Brasil até dezembro de 1981. Existiam 53 centros de Tx renal, estando 48 deles localizados nas regiões Sul e Sudeste, tendo-se um total de 2.100 Tx renais, com a proporção de 75,90% de DVR, 12,60% de DC e 11,60% de DVNR (62).

Em 19 de dezembro de 1986 foi fundada, em São Paulo, a Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO), e, em 1988, o Comitê Assessor de Coleta de Dados da ABTO divulgou dados sobre Tx renais realizados até dezembro de 1987 no Brasil, mostrando um total de 5.808 Tx, com 72,90% de DVR, 17,76% de DC e 9,26% de DVNR.

Os dados da ABTO indicavam, também, que 48% dos Tx renais do Brasil foram feitos no estado de São Paulo, seguindo-se Rio Grande do Sul, Paraná e Minas Gerais (62).

No ano de 1991 foram realizados 1.200 transplantes, sendo 50,25% de DVR, 45,90% de DC e 3,90% de DVNR, demonstrando um expressivo aumento do número de DC, estabilização do número de DVR e diminuição de DVNR. Esse resultado foi fruto de inúmeras campanhas nacionais e regionais de captação de órgãos, bem como atualização da legislação brasileira sobre doação de órgãos.

Atualmente, do total de 78 centros de Tx renal existentes no Brasil, 8 deles não têm feito transplante, 35 realizam de 1 a 10 anualmente e apenas 3 fizeram mais de 20 por ano, correspondendo a 5,3 pacientes transplantados por milhão de habitantes, um dos índices mais baixos do mundo. Esses dados indicam de forma evidente que a maioria dos centros não está utilizando sua capacidade de realizar Tx de forma eficiente. Acrescente-se a isso, o fato de que apenas 20% dos pacientes em lista de espera são transplantados (56). Uma avaliação da resolutividade de um programa de Tx renal DC-UNICAMP, realizada no período de janeiro de 1987 a dezembro de 1990, mostrou que de 763 pacientes dos 54 diferentes centros dialíticos estudados, apenas 116 (15,20%) foram transplantados e 158 (20,70%) faleceram antes da possibilidade de realizar Tx (14). Isso reforça a necessidade da continuidade de campanhas efetivas de doação de órgãos.

### 1.1.2 - *Análise Custo-Benefício*

Não há dúvidas de que, quando bem sucedido, o Tx renal constitui a abordagem de menor custo e maior benefício no tratamento da doença renal em estágio terminal.

O Tx é considerado o tratamento ideal para pacientes urêmicos crônicos (109). Além de oferecer uma maior sobrevida e uma melhora na qualidade de vida quando comparado à diálise, representa um investimento de menor custo financeiro (24). Não se deve esquecer, no entanto, que a diálise (hemodiálise ou diálise peritoneal) representa um importante papel na terapêutica da IRC, sendo essencial para a manutenção da vida dos pa-

cientes que aguardam o Tx e a única forma disponível de tratamento dos pacientes com contra-indicação cirúrgica (81).

Nos Estados Unidos (EUA), o custo de um Tx renal, incluindo o primeiro ano de pós-operatório, situa-se em torno de US\$ 15.000. Em comparação, o custo anual da hemodiálise (HD) hospitalar é de US\$ 30.000 e o da domiciliar, aproxima-se de US\$ 25.000. O custo da diálise peritoneal (DP) é estimado em aproximadamente de US\$ 27.000 (24).

Dados fornecidos em 1988 mostraram que o custo no Brasil é de US\$ 12.578 para diálise peritoneal ambulatorial crônica (CAPD) por ano, de US\$ 10.981 para HD, de US\$ 7.283 para Tx renal com DC e de US\$ 3.851 com doador vivo (DV) (62).

Um estudo realizado nos EUA mostrou que 79% dos pacientes transplantados renais encontravam-se aptos ao exercício profissional pleno, em contraste com 47% a 59% dos pacientes mantidos em diálise (Tabela 1) (39).

**TABELA 1**

**QUALIDADE DE VIDA PÓS-Tx COMPARADA AO TRATAMENTO DIALÍTICO**

|                                  | HD DOMICILIAR | HD HOSPITALAR | CAPD   | Tx     |
|----------------------------------|---------------|---------------|--------|--------|
| Atividade parcial sem queixas    | 59,10%        | 44,70%        | 47,10% | 79,10% |
| Habilidade plena para o trabalho | 59,30%        | 37,20%        | 24,70% | 74,00% |

Adaptado de Evans (39)

Em 1982, a Comissão de Diálise e Transplante apresentou um relatório mostrando que, no Brasil, a reabilitação para o trabalho do paciente transplantado renal era normal em 68% dos casos e parcial em 22%, com incapacitação profissional de apenas 10%. No entanto, dos pacientes em diálise crônica, apenas 32% desempenhavam atividade profissional normal, 39% parcial e 29% foram considerados incapacitados (62). Um estudo realizado no Hospital das Clínicas da UNICAMP mostrou que dos 6,50% pacientes que exerciam atividade profissional pré-Tx houve um aumento para 65,40% pós-Tx (14).

No serviço de diálise da ISCMPA apenas 20% dos urêmicos que lá são atendidos realizam suas atividades habituais, enquanto que a maioria recebe benefícios da Previdência Social. No entanto, 80% dos transplantados com enxerto funcionante retornaram as suas atividades, embora em alguns deles manifestem-se efeitos indesejáveis da imunossupressão, como obesidade, diabete, suscetibilidade aumentada a infecções, necrose asséptica de osso e maior risco de neoplasia (51).

Um grande número de pacientes em diálise apresenta ansiedade, depressão, perda da auto-estima e redução da atividade sexual (58).

Atualmente a percentagem de sucesso do Tx renal no Brasil é alta, com baixo risco cirúrgico. Um estudo realizado por Sesso e colaboradores (118), através de dados coletados de 70 centros de Tx do Brasil, comparando a sobrevida atuarial dos receptores e enxertos renais nos períodos de janeiro de 1987 a dezembro de 1989, e janeiro de 1990 a março de 1992, mostrou que, no final do primeiro ano pós-Tx, a sobrevida dos pacientes receptores de DV foi de 92% e de 94% para os períodos 87/89 e 90/92, respectivamente. Para esses receptores, a sobrevida do enxerto aumentou de 82% para 86% entre 87/89 e 90/92. Pacientes que receberam rim de DC, ao final do primeiro ano, tiveram a sobrevida aumentada de 83% para 88% entre 87/89 e 90/92; e a sobrevida do enxerto, de 66% para 73% nesses mesmos períodos. Nossas taxas de sobrevida, entretanto, ainda são inferiores as da Europa e próximas as dos EUA. Tal fato pode ser explicado, em parte, pela diferença das condições sócio-econômicas dos pacientes em nosso meio.

A situação do paciente com IRC, infelizmente, continua crítica. Embora o tratamento dialítico seja disponível para cerca de 80% da população que dele necessita, o Tx só pode ser oferecido para uma minoria, mesmo representando um custo financeiro menor,

com uma reabilitação superior (56). O número de Tx renais, no entanto, vem aumentando progressivamente nos últimos anos, particularmente às custas do DC e esperamos que esse aumento seja continuado para que possamos, cada vez mais, atender da melhor forma os pacientes urêmicos crônicos do nosso país.

### 1.1.3 - *Seleção de Receptores e Doadores*

#### ◆ Receptores

A melhora dos resultados do Tx renal tornou muito flexível os critérios de seleção dos receptores. Atualmente, a maioria dos pacientes com IRC são considerados candidatos ao Tx. Entretanto ainda existe um número significativo de situações clínicas que podem ser consideradas como contra-indicações para o Tx (Quadro 1) (16).

Idade cronológica avançada e doenças sistêmicas graves, como *diabete mellitus*, doença cardiovascular grave ou doença brocopulmonar obstrutiva crônica diminuíram de importância como fatores limitantes, devendo ser considerado cada caso individualmente (136). Um paciente com alto risco cirúrgico e que se mantenha razoavelmente bem com diálise, por exemplo, deve ser deixado fora da lista de espera; no entanto, outro paciente nas mesmas condições clínicas, mas com dificuldade de acesso vascular para diálise ou de manter-se em tratamento dialítico peritoneal de forma adequada, deve ser transplantado. Os riscos são considerados em relação à probabilidade de sucesso do Tx e suas vantagens para cada paciente.

## QUADRO 1

### CONTRA-INDICAÇÕES PARA O Tx RENAL

- Doença maligna disseminada
- Insuficiência cardíaca refratária
- Insuficiência respiratória crônica
- Doença hepática progressiva
- Doença vascular coronariana, cerebral ou periférica extensa
- Anormalidade do trato urinário congênita grave
- Infecção crônica sem resposta ao tratamento
- SIDA
- Distúrbio persistente de coagulação
- Retardo mental grave
- Distúrbios psicossociais, como psicose, alcoolismo ativo, adição a drogas

Adaptado de Briggs (16)

Infecção ativa e neoplasia são contra-indicações absolutas para o Tx até que tenham sido devidamente tratadas (66). Uma avaliação com vistas a detectar infecções deve ser feita em todo candidato ao Tx, incluindo anamnese detalhada, exame físico, radiografia de tórax, reação de Mantoux, culturas de urina e escarro, avaliação dentária e revisão ginecológica nas mulheres. Pesquisa de vírus como *herpes simplex* (HSV), *varicella zoster* (VZV), *Epstein-Baar* (EBV), *citomegalovirus* (CMV) devem ser realizadas, visto que tais viroses podem causar infecção clínica pós-Tx, embora não representem uma contra-indicação ao procedimento. Pesquisa do HBsAg, do anti-HBc IgM e IgG, do anti-VHC (ELISA ou RIBA) pode identificar pacientes com possibilidade de desenvolver doença hepática pós-Tx.

Nos portadores do vírus da hepatite B (VHB) com alterações persistentes das transaminases, é recomendada a realização da biópsia hepática, ficando o Tx na dependência da gravidade das lesões (35). Degos e colaboradores (34) estudaram um grupo

de pacientes candidatos ao Tx renal, submetendo-os à biópsia hepática no dia do Tx, 1 e 3 anos após. Encontraram alterações histológicas pré-Tx em 97% dos casos com hepatopatia crônica observando, ainda, que os pacientes com hepatite crônica persistente (HCP) e HBsAg positivo evoluíram para formas ativas da doença pós-Tx. Kim e colaboradores (67) avaliaram 600 Tx renais de DV e verificaram que a sobrevida do enxerto nos pacientes HBsAg positivos foi significativamente menor do que as dos receptores HBsAg negativos. No entanto Shons e colaboradores (123) avaliaram 168 receptores renais e não encontraram diminuição da sobrevida do enxerto ou do receptor na presença de positividade ao HBsAg.

Uma pesquisa feita com 46 centros de Tx dos EUA mostrou que 31 deles (67%) realizam Tx renal em pacientes HBsAg positivos. Dezessete de 31 (55%) quando a biópsia pré-Tx não mostra doença hepática crônica, 13 de 31 (42%) quando as provas de função hepática (PFH) estão normais, 4 de 31 (13%) quando o HBV-DNA e o HBeAg são negativos, 3 de 31 (10%) quando o paciente foi tratado com interferon e 2 de 31 (6%) quando o paciente está clinicamente bem (117).

O comportamento dos transplantados renais portadores do VHC, é bastante variável e o curso clínico da infecção pouco conhecido. Roth e colaboradores (113) estudaram 641 receptores, com RIBA 4, e encontraram 109 pacientes positivos. A detecção do VHC-RNA por PCR confirmou a infecção em 74% dos receptores. A positividade ao anti-VHC não significa, necessariamente, uma contra-indicação ao Tx, embora se recomende que o paciente anti-VHC positivo seja avaliado antes do Tx (Fig. 1). Sugere-se que os urêmicos crônicos com infecção pelo VHC e transaminases alteradas realizem biópsia hepática pré-Tx para diagnosticar a extensão da lesão. Na presença de positividade ao anti-VHC, com PFH normais, deve ser pesquisado o VHC-RNA por PCR e se necessário fazer biópsia nos candidatos ao Tx renal.

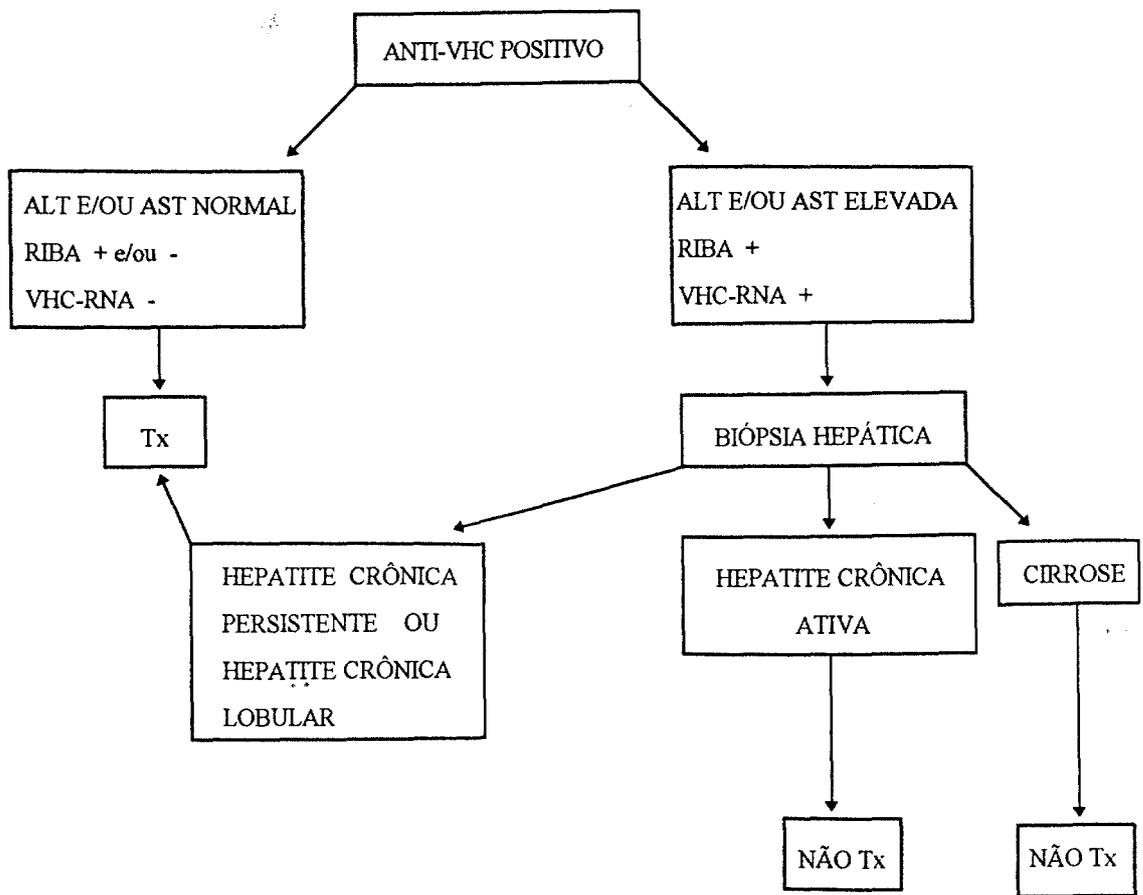


Fig. 1 - Anti-VHC e Tx Renal (113)

Pacientes anti-VHC positivos são transplantados em 41 dos 46 centros (89%) de Tx dos EUA, sendo que em 15 de 41 (37%) se a biópsia hepática não mostra doença crônica e 10 de 41 (24%) se as PFH forem normais. Quatro de 46 centros (11%) não realizam o anti-VHC como teste de rotina nos critérios de seleção (117).

É importante a realização de uma avaliação psicossocial em um estágio precoce, na tentativa de identificar doença mental, abuso de drogas, alcoolismo ou incapacidade do paciente ou da família de entender o processo do Tx em sua totalidade. É fundamental a compreensão do procedimento pelo paciente, principalmente a necessidade do uso regular de drogas imunossupressoras, evitando com isto a perda do enxerto por rejeição e piora nos resultados do Tx.

Um estudo imunológico inicial deve incluir o grupo sanguíneo ABO e a tipagem HLA. Os anticorpos citotóxicos no soro do receptor são detectados utilizando-se um painel de linfócitos T e B para determinar o grau de sensibilização do receptor, refletindo-se no tempo de espera para o Tx de DC ou na escolha do DV.

#### ◆ Doadores Vivos

A atitude em relação à utilização de DV no Tx renal varia consideravelmente entre diferentes países. O predomínio de DV na América Latina é surpreendente. Ocorre uma verdadeira inversão dos dados vistos na Europa e América do Norte. Esta desproporção parece ser um reflexo de fatores culturais, religiosos e legais (116).

O uso de DVR justifica-se por várias causas: melhor sobrevida do receptor e enxerto renal; possibilidade de encaminhar o Tx precocemente e no melhor momento clínico do receptor, facilitando o seu preparo, com cirurgia marcada eletivamente; diminuição do tempo em diálise e menor risco de sensibilização; incapacidade, até o momento, de a doação cadavérica satisfazer a demanda de órgãos para o Tx. Acrescente-se a isto o fato de que os riscos de mortalidade de uma nefrectomia unilateral em um indivíduo saudável são inferiores a 0,1% sem efeitos adversos aparentes na expectativa de vida (66, 137).

A utilização de DVNR deve ser desencorajada pelo risco de comercialização dos órgãos e pelo fato de os resultados não serem melhores do que os verificados com DC. Trabalho realizado no Hospital das Clínicas de São Paulo com 98 receptores renais de DVNR demonstrou que, a sobrevida do enxerto, nesses pacientes, foi comparável a do DC (80,60%) e inferior a do DVR (88,10)% em 12 meses (91).

A seleção do DV baseia-se em critérios clínicos, imunológicos e emocionais. Uma avaliação preliminar é feita através da anamnese e exame físico, análise imunológica e perfil psicológico. Com a avaliação clínica procura-se excluir qualquer contra-indicação para

a doação (Quadro 2) (137). A compatibilidade ABO entre o doador e o receptor é fundamental e, embora o sucesso seja maior entre irmãos HLA idênticos, uma sobrevida superior a 90% pode ser conseguida entre indivíduos HLA incompatíveis (81). O potencial doador deve ser avaliado, pelos serviços social e psiquiátrico. É fundamental que a doação seja voluntária e não sujeita a pressões familiares. O doador deve ser emocionalmente estável, altamente motivado e isento de qualquer coerção.

## QUADRO 2

### CONTRA-INDICAÇÕES PARA DOAÇÃO RENAL - DV

- Idade (inferior à 18 e superior à 70 anos)
- Alterações psiquiátricas
- Nefrolitíase
- Doença sistêmica ou hereditária que afete o rim
- Doença crônica tipo DBPOC grave
- HAS severa
- Infecção ativa
- Obesidade, varizes dos MIs com história de TVP

Adaptado de Wood (137)

O doador ideal deve, preferencialmente, ter idade entre 18 e 65 anos, encontrar-se com excelente saúde física e sem evidência de doença renal estrutural ou funcional (137). É feita ainda uma avaliação laboratorial para complementar a investigação clínica e diminuir a possibilidade de risco cirúrgico (Quadro 3) (16).

Estudo adicional dos marcadores da hepatite B (anti-HBc IgM e IgG) também é indicado. No caso de doadores com positividade ao HBsAg ou anti-HBc IgM

reagente, desaconselha-se a doação. Landrenou e colaboradores (71) relataram o caso de uma paciente sem evidência clínica ou sorológica de infecção pelo VHB e que foi vacinada com *Heptavax-B*. Desenvolveu anticorpos contra o VHB e recebeu um rim de sua irmã que era HBsAg positivo. Três meses após receber o enxerto foram identificadas antigenemia para hepatite B e doença hepática associada. Segundo os autores tal fato demonstra que a imunização concebida por vacina pode ser insuficiente para proteger contra a inoculação de um rim de doador HBsAg positivo. Isso talvez possa ser atribuído a ação das drogas imunossupressoras que favorecem a replicação viral e afetam de forma adversa a história natural da hepatite crônica secundária ao VHB. A positividade de um vírus B mutante não pode ser afastada.

Na presença de positividade ao anti-VHC deve ser pesquisado o VHC-RNA por reação em cadeia da polimerase (PCR), sendo que a presença do vírus pode contraindicar a doação (113).

### QUADRO 3

#### AValiação complementar do DV

- LABORATORIAL: hemograma, plaquetas, fibrinogênio, TP, KTTP, glicemia de jejum, ácido úrico, cálcio, fósforo, colesterol, triglicerídeos, fosfatase alcalina, bilirrubinas, transaminases, VDRL, CMV, Chagas, HBsAg, anti-HVC, anti-HIV, EQU, urocultura, depuração da creatinina endógena, proteinúria de 24 horas.
- ELETROCARDIOGRAMA
- RADIOGRAFIA DE TÓRAX
- ECOGRAFIA ABDOMINAL
- UROGRAFIA EXCRETÓRIA
- AORTOGRAFIA COM ARTERIOGRAFIA RENAL SELETIVA
- OUTROS: espirometria (asmático, fumante, DBPOC) endoscopia digestiva alta (história de úlcera ou gastrite); avaliação urológica (homem com mais de 50 anos); avaliação ginecológica (mulheres com vida sexual ativa).

Adaptado de Briggs (16)

Avaliação radiológica com pielografia venosa e ureterocistografia miccional é necessária para identificar o tamanho e a configuração renais, assim como afastar a presença de refluxo vesicoureteral.

Uma angiografia renal com cateterização seletiva deve ser realizada para demonstrar a vascularização renal. Preferencialmente utiliza-se o rim com artéria renal única. Rins com múltiplas artérias podem ser usados desde que a avaliação cirúrgica pré-operatória seja criteriosa e não aumente o risco para o doador (137).

#### ◆ Doadores Cadavéricos

A definição legal de morte cerebral, em 1968, nos Estados Unidos, representou um marco significativo na história dos Tx, permitindo uma melhor qualidade dos enxertos. Até então, os rins eram retirados sob condições intoleráveis de "isquemia quente".

O candidato para doação de órgãos deve ter diagnóstico confirmado de morte cerebral. A maioria deles são vítimas de acidente de trânsito ou doença neurológica de ocorrência súbita. De um modo geral esses pacientes tiveram um traumatismo cranioencefálico, hemorragia subaracnóidea, acidente vascular cerebral ou tumor cerebral primário.

Todos os pacientes internados em UTI com deterioração do estado neurológico e evolução para morte cerebral devem ser vistos como prováveis doadores de múltiplos órgãos (124). A remoção de órgãos de um DC, desde que respeitados os princípios de declaração de morte cerebral e autorização da família, não apresenta problemas legais no nosso país.

As contra-indicações para o paciente ser doador estão listadas abaixo (Quadro 4) (57).

## QUADRO 4

### CONTRA-INDICAÇÕES PARA A DOAÇÃO RENAL - DC

- Infecção sistêmica
- Doença maligna de localização fora do SNC
- HAS severa
- Idade superior a 70 anos
- Diabete insulino-dependente
- Anti-HIV positivo

Adaptado de Guidelines and Information for Organ Donation (57)

O DC ideal deve ter idade inferior a 70 anos, adequada função renal e ausência de doença renal prévia. O principal objetivo no tratamento do DC é assegurar a sua estabilidade hemodinâmica, evitando-se com isto isquemia dos órgãos a serem retirados. Alguns cuidados devem ser tomados para manter o paciente em seu melhor estado fisiológico: cateterização de veia central para controle da PVC e infusão de líquidos, medida da PAM, colocação de SNG e cateter vesical. O paciente e os líquidos infundidos devem ser aquecidos para evitar hipotermia. A reposição de volume deve ser guiada pelas medidas hemodinâmicas e diurese. Na presença de *diabete insipidus* está indicado o uso de desmopressina intranasal ou endovenosa.

A avaliação laboratorial é feita através de tipagem sanguínea, hemograma, glicemia, transaminases, bilirrubinas, fosfatase alcalina, TP, KTTP, amilase, sódio, potássio, cloro, creatinina, uréia, urocultura, pesquisa de doença de Chagas, toxoplasmose, Lues, CMV, pesquisa de HBsAg, anti-VHC e anti-HIV.

A positividade ao HBsAg do DC pode contra-indicar ou não o implante renal. A maioria dos grupos que trabalham com Tx não aceitam rins de DC HBsAg positivos pelo risco de transmissão da hepatite B através do enxerto contaminado (23). Bedrossian e colaboradores (12), no entanto, estudaram 11 pacientes transplantados com rins de doadores HBsAg positivos e níveis de ALT normais, não tendo observado antigenemia com um segui-

mento de 2 anos pós-Tx. Um paciente já tinha sido infectado pelo VHB antes do Tx, mas sem viremia (HBsAg negativo). Os outros 10 pacientes foram vacinados desenvolvendo anticorpos apropriados pré-Tx. Nove de 11 tinham positividade ao anti-VHC concomitantemente. Somente 2 dos 11 pacientes HBsAg positivos tiveram aumento temporário dos níveis de ALT, chegando a cinco vezes o limite superior da normalidade. Esses dados sugerem que rins de doadores HBsAg positivos podem ser usados em receptores imunizados contra o vírus B.

A positividade ao anti-VHC permanece uma incógnita em termos de contra-indicação ao Tx renal. Tem sido sugerido, recentemente, que órgãos de doadores anti-VHC positivos não devem ser transplantados em receptores anti-VHC negativos. Um estudo em 39 pacientes anti-VHC negativos que receberam rim de DC anti-VHC positivo mostrou uma seroconversão em 59% dos pacientes no período de 3 a 36 meses de pós-operatório (10). Existem dúvidas, também, quanto a utilização de rins de DC anti-VHC positivo nos receptores com presença do anticorpo do VHC, uma vez que, ainda faltam dados para elucidar a evolução da doença. Vinte e nove de 46 centros (63%) de Tx dos EUA responderam que não utilizam rins de DC anti-VHC positivos. Doze de 46 (36%) transplantam rins de DC positivos somente em receptores positivos e 5 de 46 (11%) usam esses rins para qualquer receptor. Relato da UNOS de 154 Tx renais com doador anti-VHC positivo mostrou que 97 (67%) foram transplantados e 44 (30%) desprezados (117). Embora a utilização de rins de doadores anti-VHC positivos permaneça controversa, cada centro de Tx deve estabelecer regras e seguir protocolos que levem em consideração a escassez de doadores, a prevalência do anti-VHC nas unidades de HD, o risco de contaminação dos pacientes com a permanência em tratamento dialítico e/ou pela necessidade de transfusões e as condições clínicas do potencial receptor que pode ter pouca disponibilidade de espera por outro doador. Ponderadas as vantagens e desvantagens, deve-se decidir pelo uso de órgãos de doadores anti-VHC positivos ou não.

Para selecionar os receptores em lista de espera têm sido utilizadas, no nosso meio, a compatibilidade ABO e a prova cruzada (*cross-match*) negativa entre linfócitos do doador e soro do receptor.

#### 1.1.4 - *Complicações Infecciosas Pós-Transplante*

Infeção é a complicação clínica mais freqüente do Tx renal e uma das maiores causas de mortalidade pós-Tx (138). Mais de 80% dos receptores renais apresentam pelo menos um episódio de infecção no primeiro ano pós-operatório (76, 114). Tais pacientes correm risco de desenvolver infecções por germes oportunistas que normalmente não são patogênicos nos indivíduos com sistema imunitário preservado (8, 114). Receptores com idade superior a 40 anos, leucopênicos, hiperglicêmicos ou com a função renal diminuída apresentam risco aumentado de adquirir infecções.

Uma análise com dados de necrópsias de 103 óbitos de receptores renais, no Hospital das Clínicas de São Paulo, mostrou que infecção foi a causa mais freqüente de morte, ocorrendo em 60 casos (58,20%). Das infecções, a bacteriana foi a mais comum (78,30%), e o pulmão o órgão mais acometido. Não foi observado nenhum óbito por CMV. Infecção fúngica ocorreu em 13,30% dos pacientes. Catorze pacientes (13,60%) tiveram problemas digestivos como causa de óbito, sendo que destes a cirrose foi o mais presente, ocorrendo em 42,80% dos casos. A mortalidade devido à cirrose, em 83,30% das vezes, foi após o 4º ano do Tx (47).

Sopko e colaboradores (125) relataram uma incidência de 60% de infecções bacterianas, 20% fúngicas, 26% virais e 5% por *Pneumocystis carinii* em um grupo de pacientes transplantados renais.

O diagnóstico das infecções pós-Tx requer uma colaboração criteriosa do laboratório, com um envolvimento ativo do infectologista no manejo dos pacientes. As infecções podem ser decorrentes de bactérias, fungos, protozoários e vírus.

## ◆ Infecções Bacterianas

Geralmente ocorrem no primeiro mês pós-Tx, tendo como fontes mais freqüentes o trato urinário, o pulmão, a ferida operatória e cateteres endovenosos (114).

Infecção urinária é, ainda, a mais freqüente, ocorrendo em torno da metade dos pacientes transplantados renais, embora com redução significativa de sua gravidade e incidência pelo uso profilático de sulfametoxazol-trimetoprim ou norfloxacin. Os germes mais comumente encontrados são as enterobactérias, seguidas por *enterococcus*, *pseudomonas* e *estafilococcus* (15).

As infecções pulmonares e de ferida cirúrgica são as seguintes em freqüência, aparecendo em aproximadamente 20% dos receptores. As infecções respiratórias são comumente causadas por *pneumococcus* ou *Haemophilus influenzae* e mais raramente por microrganismos gram-negativos, aparecendo na maior parte das vezes no pós-operatório imediato e relacionadas com fisioterapia respiratória inadequada. Dois terços das infecções de ferida operatória são superficiais, causadas por *estafilococcus* e de fácil resolução. Podem estar associadas a alta morbidade e mortalidade nos pacientes diabéticos (26).

Septicemia é incomum e, quando presente, é geralmente causada por germes gram-positivos, associada a contaminação por cateteres, podendo evoluir drasticamente se não for tratada de forma adequada (138).

Um estudo das causas de óbitos de 102 transplantados renais, submetidos à necrópsia, demonstrou que 69,60% dos pacientes apresentavam infecção e as bactérias foram os agentes mais comuns (58%). Septicemia foi encontrada em 28 receptores (39,40%), pneumonia em 17 (23,90%), pielonefrite em 10 (14,10%), infecções do trato digestivo em 7 (9,90%), meningoencefalite em 6 (8,40%) e endocardite em 3 (4,20%) (108).

#### ◆ Infecções por Fungos e Protozoários

A *Candida albicans* é o fungo mais frequentemente encontrado. Localiza-se, em geral, na cavidade oral e pode ser controlada com o uso profilático de nistatina via oral. Infecções pulmonares graves podem ser causadas pelo *Aspergillus fumigatus* e *histoplasma*. *Cryptococcus* em geral causa acometimento do sistema nervoso central (SNC). Nas infecções pulmonares por protozoários, deve ser destacado o *Pneumocystis carinii* como o agente etiológico mais freqüente. Toxoplasmose e giardíase também têm sido relatadas no Tx renal (15).

#### ◆ Vírus

Cerca de 79% dos receptores renais apresentam alguma evidência de infecção pelo CMV, sendo esse o agente viral mais comum nas unidades de Tx (138). Esse vírus aparece em aproximadamente 50% a 90% dos pacientes em torno de 2 meses de pós-operatório, seja por diagnóstico sorológico ou por dados de necrópsia. Tal fato suporta o conceito de que a ativação viral em indivíduos imunossuprimidos é alta (100).

Gerdes e colaboradores (53) estudaram prospectivamente 47 pacientes transplantados renais e encontraram positividade para o CMV em 38 deles (81%). Desses, apenas 7 (15%) foram sintomáticos.

Vinte e sete pacientes transplantados renais no Hospital das Clínicas de São Paulo foram estudados de forma prospectiva, para detectar a prevalência da infecção por CMV através da sorologia (IgM e IgG), das culturas sanguíneas e urinárias. Esses exames foram realizados a cada 4 semanas nos primeiros 100 dias pós-Tx, mostrando que 85,18% dos receptores pré-Tx e 70% dos doadores renais apresentavam sorologia (IgG) positiva para o CMV. A prevalência de infecção por esse vírus foi de 81,49% (42). A infecção clínica por CMV manifesta-se, geralmente, 1 a 4 meses após o Tx, sendo caracterizada por febre, leuco-

penia, plaquetopenia, artralgia e mialgia. O desenvolvimento de complicações graves como pneumonia, hepatite, ulceração gastrointestinal e encefalite podem ocorrer. A infecção é habitualmente autolimitada, e com terapia apropriada a maioria dos pacientes recupera-se. Entretanto a situação de imunossupressão secundária pode causar infecções por germes oportunistas especialmente o *Pneumocystis carinii*, *Aspergillus sp* e *Listeria monocytogenes* (114).

Problemas cutâneos como herpes simples e papiloma virus podem ser muito desconfortáveis para o paciente, causando quadro de dor considerável. Infecções pelo HSV disseminadas são raras (100).

VZV pode ocasionar infecções no SNC como encefalite ou meningite, pneumonia, lesões de pele e hepatite com risco de evolução para necrose hepática (15).

Mozes e colaboradores (82) observaram em 567 receptores renais, 22 casos de icterícia, sendo que desses, 9 morreram no episódio inicial de hepatite, 6 morreram em 3 meses por insuficiência hepática, 4 desenvolveram hepatite crônica e 3 recuperaram-se totalmente. Cinco pacientes eram HBsAg positivos, 4 tiveram hepatite por CMV, 2 por HSV, 1 por VZV e 3 tiveram insuficiência hepática associada à sepse por bactéria e/ou fungo.

#### ♦ Hepatites Virais

Hepatite viral pode ser definida como uma infecção sistêmica na qual ocorrem inflamação e necrose das células hepáticas, responsáveis por um quadro clínico, bioquímico, imunossorológico e morfológico característicos (69).

A etiologia viral das hepatites foi postulada na primeira década deste século. Durante e após a Segunda Guerra Mundial, vários estudos realizados sugeriram a existência de diferentes agentes causadores das hepatites, firmando, assim, uma base para compreensão da hepatite A. Os progressos, no entanto, foram lentos. Muito pouco aconteceu de significativo, durante vinte anos, com os possíveis agentes responsáveis pelas hepatites, em

contraste com os avanços na área da virologia, marcados pela descoberta de outros vírus e preparação das respectivas vacinas (45).

O marco decisivo da nova era no campo da história das hepatites virais ocorreu na década de 1960, com a descoberta do antígeno austrália (HBsAg) por Blumberg e colaboradores (69). Outros marcadores da hepatite B foram detectados no soro, posteriormente, permitindo o diagnóstico da fase aguda da infecção, da imunidade, do estado de portador do vírus e, ainda, da presença ou ausência da replicação viral. Para a hepatite A, de forma semelhante, foram desenvolvidos métodos imunológicos de detecção sorológica da fase aguda da doença, bem como da presença de imunidade contra esse vírus.

Na década de 70 ficou comprovada a existência de outros vírus causadores de hepatite. Esses casos, na ausência de marcadores sorológicos positivos tanto para a hepatite A, como para a hepatite B, passaram a ser designados como um terceiro tipo de hepatite, denominada hepatite não A não B (NANB), que posteriormente veio a ser definida, na maioria dos casos, como hepatite viral C.

O VHB e VHC são os agentes causadores mais frequentes das hepatites virais pós-Tx nas formas crônicas da doença (21). A incidência da hepatite B tem diminuído nas unidades de diálise e Tx renal, sem uma queda proporcional da hepatite crônica nestes pacientes, provavelmente devido a infecção pelo VHC (140). Sabe-se, hoje, que a hepatite C é a causa mais importante de doença hepática crônica pós-Tx (110).

A obtenção de bons resultados está intimamente vinculada à atenção dispensada às causas de morbidade e mortalidade dos pacientes transplantados. Entre as mais importantes inclui-se a hepatite crônica, a qual incide com uma frequência de 10 a 15% nos receptores renais. Muitos desses indivíduos desenvolvem dano hepático progressivo que contribui significativamente para o aumento da mortalidade tardia (44, 110).

Ranjan e colaboradores (106) estudaram a influência da doença viral nos resultados a longo prazo pós-Tx. Após 10 anos, as sobrevidas do paciente e do enxerto renal foram de 68% e 48% respectivamente. A presença de positividade ao HBsAg e ao anti-VHC não influenciou a mortalidade geral ou sobrevida do enxerto renal. Entretanto o estado sorológico negativo para o CMV pré-Tx foi importante. Pacientes CMV negativos que rece-

beram rins de doadores positivos foram afetados adversamente, apresentando maior risco de desenvolverem doença primária. Embora a positividade ao HBsAg nos pacientes assintomáticos não tenha interferido nos resultados do Tx, a associação desse marcador com doença hepática, diagnosticada por PFH ou biópsia alteradas, determinou um pior prognóstico. Nos pacientes com positividade ao anti-VHC, a seroconversão foi detectada raramente, não ocorrendo disfunção hepática significativa.

Os pacientes transplantados renais HBsAg positivos parecem apresentar maior morbidade e mortalidade do que os negativos (102). Entretanto não há consenso na literatura a respeito do impacto a longo termo da hepatite B na sobrevida do paciente e enxerto renal. Enquanto alguns autores encontraram uma mortalidade maior nos receptores com positividade ao HBsAg, outros não mostraram qualquer diferença na sobrevida dos transplantados HBsAg positivos ou negativos (23, 25, 49). Rao e colaboradores (107) encontraram 54% de mortalidade nos indivíduos portadores crônicos do VHB submetidos a Tx, comparados com 12% no grupo sem a doença, com seguimento de 7 anos. Esses autores também sugerem que, os pacientes com positividade ao HBsAg são adicionalmente imunossuprimidos devido ao resultado direto da infecção viral. Conseqüentemente, apresentam uma melhora na sobrevida inicial do enxerto, vindo a ter uma mortalidade maior, tardiamente, por sepse.

Gagnadoux e colaboradores (49), em um seguimento de mais de 10 anos de 210 transplantados renais HBsAg negativos, verificaram sobrevidas de 87%, 80% e 77% para os períodos de 5, 10 e 15 anos pós-Tx respectivamente. Em 50 pacientes HBsAg positivos as sobrevidas foram de 98%, 90% e 70% nos mesmos períodos pós-Tx. Embora as sobrevidas dos receptores HBsAg positivos e negativos em 15 anos de seguimento, não tenham sido diferentes do ponto de vista estatístico, a mortalidade foi significativamente maior nos positivos (20%) em relação aos negativos (3%).

## 1.2 - Hepatite Viral C

### 1.2.1 - *Considerações Gerais*

Em 1989, na Califórnia, um grupo de pesquisadores da *Chiron Corporation*, liderados por Houghton, identificou um agente transmitido de forma parenteral, o qual, posteriormente, veio a ser denominado vírus da hepatite C. Esse vírus passou a ser considerado o principal agente causador da hepatite NANB. Com a utilização da engenharia genética para replicação e armazenamento dos clones do vírus, foi possível o isolamento de uma proteína específica, permitindo a detecção de um anticorpo contra o vírus NANB. A posterior clonagem das proteínas constituintes do novo vírus possibilitou a classificação inicial daquela que passou a ser denominada hepatite C (70).

Dos vírus NANB identificados até agora, o VHC é o mais importante em termos de morbidade e mortalidade. Em 1992, foi relatada a existência de mais de 500 milhões de pessoas infectadas ou com risco de serem contaminadas com o VHC (121).

Hepatite viral C é uma doença comum nos EUA. Estimou-se, em 1989, que aproximadamente 150.000 casos de infecções pelo VHC ocorriam anualmente, sendo que 7.500 a 15.000 eram resultantes de transfusões. De todos os infectados, em torno de 5.000 apresentaram evidência bioquímica de doença hepática crônica. Cerca de 15.000 evoluíram para HCA ou cirrose. Praticamente 25.000 pessoas morrem por ano devido doença hepática crônica e cirrose nos EUA, sendo essas a 9ª causa de morte naquele país (5, 7).

Um estudo da prevalência do anti-VHC nas populações urbanas e rurais da Bahia pelo teste Elisa de segunda geração (Abbott) e confirmação dos casos positivos com RIBA 2 (Chiron) mostrou uma maior ocorrência do VHC na população urbana (1,25%) quando comparada à rural (zero), podendo-se inferir que a introdução do VHC no Brasil tenha se dado, possivelmente, através das populações urbanas (92).

Trabalho realizado no Rio de Janeiro com 6.411 pacientes doadores de sangue identificou uma prevalência de 2,30% de positividade ao anti-VHC pelo teste ELISA de segunda geração. De 82 pacientes anti-VHC positivos, foi encontrada em 17 deles (21%) história de transfusão de sangue, 11 (13%) referiam uso de drogas EV no passado, 41 (50%) haviam realizado pelo menos um procedimento cirúrgico, 2 (3%) tinham feito acupuntura, 9 (11%) possuíam tatuagem e 1 (1%) tinha história de acidente com agulha (99).

A prevalência da hepatite C é maior nos indivíduos que receberam transfusões de sangue e derivados, usuários de drogas ou de medicação parenteral e pacientes renais crônicos em hemodiálise (130). Além da transmissão parenteral, é relatada a ocorrência de formas esporádicas que não apresentam uma via de transmissão bem definida. Pelo menos de metade dos casos de hepatite C não se consegue determinar a fonte de infecção (119). As vias de transmissão mais frequentemente encontradas estão descritas no Quadro 5.

#### QUADRO 5

##### HEPATITE C - VIAS DE TRANSMISSÃO

- Transfusão de sangue e/ou derivados
- Hemodiálise
- Seringas e agulhas compartilhadas
- Tatuagem
- Perinatal
- Contatos familiares
- Sexual
- Saliva
- Transplantes

O VHC é o principal agente causador da hepatite pós-transfusional (HPT), sendo responsável por praticamente 90% dos casos (5). Os pacientes renais crônicos, em hemodiálise, com muita frequência são transfundidos (135).

O uso de drogas EV compartilhando seringas e agulhas, assim como tatuagens têm sido relatadas como fontes de infecção (1, 38). O risco de transmissão do VHC por picada de agulha exposto ao sangue de um indivíduo anti-VHC positivo é de 3% a 10% (1).

A transmissão perinatal do VHC inicialmente foi considerada excepcional em mães anti-HIV negativas. Mais tarde, porém, foi observado que, embora não tão freqüente como o VHB também pode ocorrer. Atualmente acredita-se que o genótipo do vírus possa ter influência decisiva nessa via de transmissão (86).

Contatos familiares vem sendo sugeridos como formas de transmissão da hepatite C, principalmente no período de viremia, embora o risco da disseminação intrafamiliar do VHC ainda precise ser melhor estudado (142).

A transmissão sexual do VHC está relatada, apesar de ser menos freqüente do que a do VHB e do HIV (6).

O anti-VHC foi detectado na saliva, tendo-se relato da possibilidade de transmissão do vírus através da mordida humana, embora não esteja esclarecido se pode ser transmitido pelo beijo (37).

Pereira e colaboradores (94, 95, 96), em uma série de estudos, avaliaram 716 doadores de órgãos, sendo 13 deles anti-VHC positivos, sem evidência de hepatite e HBsAg negativos. Dezenove rins, 6 corações e 4 fígados foram implantados em 29 receptores. Todos os receptores eram HBsAg negativos no momento do Tx e 27% deles eram anti-VHC positivos pré-Tx, tendo essa positividade aumentado para 58% pós-Tx entre os receptores com doença hepática. Com esses dados, os autores verificaram que o órgão transplantado pode transmitir hepatite C, fazendo um sério questionamento a respeito da aceitação ou não de rins de doadores anti-VHC positivos.

Na grande maioria dos casos, a infecção aguda pelo VHC é inaparente. O quadro clínico sintomático, com icterícia, é observado em pouco mais de 10% dos casos. A doença é raramente fulminante, apresentando-se, nessa forma, com uma evolução arrastada, prognóstico sombrio e altos índices de mortalidade (122).

Apesar do conhecimento da história natural e da evolução da hepatite C ainda serem incompletos, sabe-se que, independentemente da fonte de infecção, 50% a 70% dos indivíduos expostos ao VHC desenvolvem infecção crônica. Desses, cerca de 12% evoluirão para cirrose. Nos cirróticos o risco de carcinoma hepatocelular (CHC) é aumentado em torno de 15% (110, 113).

Existem fortes evidências entre a associação de infecção crônica pelo VHC e a ocorrência de CHC (122). O VHC parece estar, por si só, direta ou indiretamente ligado à etiopatogenia do CHC, embora sua ação carcinogênica seja, ainda, um problema não esclarecido. No entanto é possível que uma ação conjunta com o vírus B, em indivíduos co-infetados, ou na presença de outros fatores de risco possa haver um estímulo para o desenvolvimento tumoral (50).

### 1.2.2 - *Virus da Hepatite (VHC)*

Durante muito tempo o agente causador da hepatite C permaneceu desconhecido, a despeito de inúmeros esforços por parte dos virologistas, imunologistas e biólogos moleculares para descobrir sua natureza e estrutura. Pela primeira vez na história da humanidade um vírus teve seu genoma detectado, clonado e completamente identificado sem que nunca houvesse sido visualizado (120).

A identificação direta do VHC é difícil, visto que apresenta baixas concentrações nos fluidos orgânicos, com pequena quantidade de partículas circulantes (3).

Foram muito engenhosos os estudos de Choo e colaboradores (28) e de Kuo e colaboradores (70), realizados com o plasma de chimpanzé infectado por hepatite NANB pós-transfusional e com títulos excepcionalmente altos do vírus. Isolaram-se os ácidos nucleicos DNA e RNA, fazendo a clonagem dos mesmos para DNA complementar (DNAC), possibilitando a formação de um arquivo após a hibridização em levedura e em lisado de *Escherichia coli*. Dentre os inúmeros clones armazenados, um deles veio a corresponder ao

vírus procurado. Para encontrá-lo, foram utilizados plasmas de indivíduos sabidamente convalescentes de hepatite NANB pós-transfusional. Após várias experiências, a persistência da reação antígeno-anticorpo para um dos clones caracterizou-o como sendo uma seqüência de proteínas formadoras do vírus C. Para testar a especificidade, procedeu-se à clonagem dessa seqüência protéica, com o RNA existente no hepatócito de chimpanzé infectado, ocorrendo a reação. Por outro lado, não houve reação desta proteína com o soro pré-infecção dos convalescentes de hepatite NANB. A descoberta da estrutura do genoma e a habilidade de expressar a proteína do vírus em levedura e lisado de *Escherichia coli* foram os pré-requisitos para o desenvolvimento de técnicas auxiliares na detecção dos anticorpos específicos contra o VHC (Fig. 2) (28).

### VÍRUS DA HEPATITE C - MÉTODO DE DETECÇÃO

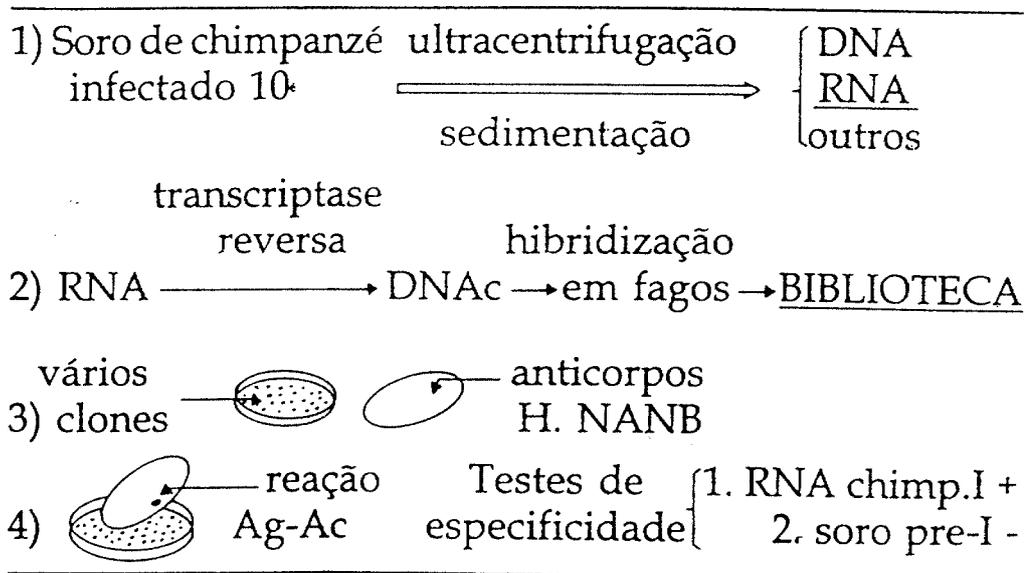
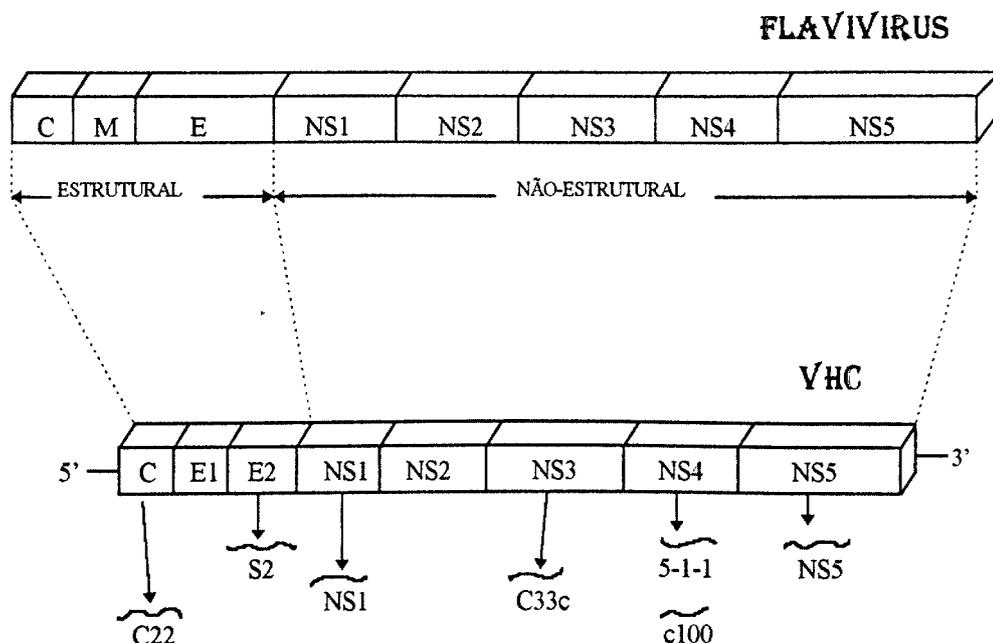


Fig. 2 - Metodologia empregada para detecção da fração protéica antigênica capaz de diagnosticar a presença de anticorpo contra o VHC

Adaptado de Choo e colaboradores (28)

O VHC é um vírus RNA que, em termos de estrutura geral e organização, lembra a família dos flavivírus (causadores da febre amarela, dengue e encefalite japonesa) e dos pestevírus animais. Seu genoma tem uma poliproteína precursora que contém regiões estruturais e não-estruturais (Fig. 3) (3, 90).



**Fig. 3** - Organização genômica do Flavivírus proposta para o VHC. As regiões estruturais (C = core, M = matriz, E = envelope) e não estruturais (NS) estão identificadas acima

Adaptado de Alberti (3)

Uma das grandes questões atuais se refere à possível diversidade genômica do vírus e o que representam os diferentes genótipos encontrados com relação à patogenicidade e à resposta antiviral (142). Resposta imunitária diferente ao VHC podem ser consequência da reatividade imune de cada indivíduo, mais do que das divergências entre as cepas virais. Entretanto sabe-se que as seqüências de amino-ácidos das proteínas virais estão sujeitas a trocas consideráveis dentro de um curto período de tempo (31). Até o momento, pelo menos

cinco genótipos distintos estão associados à hepatite C, cuja prevalência varia conforme sua distribuição geográfica (Tabela 2) (127).

TABELA 2

VARIAÇÃO GEOGRÁFICA NA PREVALÊNCIA DOS GENÓTIPOS DO VHC

| País   | n°  | Genotipo VHC |          |          |     |   |
|--------|-----|--------------|----------|----------|-----|---|
|        |     | PT           | k1       | k2       | k2b | ? |
| Japão  | 121 | 1            | 94 (78%) | 20 (17%) | 6   | 0 |
| China  | 18  | 0            | 8 (44%)  | 9 (50%)  | 1   | 0 |
| Europa | 19  | 8 (42%)      | 10 (53%) | 0        | 0   | 1 |
| Brasil | 14  | 5 (36%)      | 5 (36%)  | 0        | 0   | 4 |
| USA    | 10  | 7 (70%)      | 1        | 0        | 1   | 1 |

Adaptado de Takada (127)

O agente tipo 1 (K1) é o genótipo predominante no Japão, tendo sido detectado em diferentes países com alta prevalência, exetuoando-se os EUA. Corresponde ao vírus originalmente descrito, sensível a solventes orgânicos, medindo entre 30 à 60 nm de diâmetro e apresentando capsídeo e dois envelopes lipídicos. Seu genoma constitui-se de pequena cadeia simples de RNA com aproximadamente 10.000 nucleotídeos. É dotado de

pelo menos 10 genes que codificam proteínas diversas, uma das quais foi clonada e expressada, podendo ser usada como base para o diagnóstico de infecção pelo vírus C. Tem capacidade de induzir alterações citoplasmáticas, como formação de estruturas tubulares nos hepatócitos de chimpanzés infectados, por exemplo.

O VHC PT é o tipo mais freqüente nos EUA e o segundo da Europa, sendo também encontrado no Brasil. Entretanto é raro no Japão, e ainda não foi identificado na China. Esses dados sugerem a possibilidade de se tratar de um vírus de distribuição ocidental.

O agente tipo 2 (K2) parece ter um tamanho menor do que o K1, com 25 a 30 nm de diâmetro, não sensível aos solventes orgânicos e incapaz de induzir lesões citoplasmáticas. É o tipo predominante na China e o segundo do Japão, não tendo sido encontrado na Europa, EUA e Brasil, por isso postula-se que seja um tipo oriental do VHC (127).

Os genótipos virais diferem principalmente quanto à região do envelope do vírus. As variações se verificam, em geral, nas áreas NS1 E2 e NS2 E2, as quais são as menos conservadas. As regiões do capsídeo, NS3 e NS4 estão habitualmente preservadas, encontrando-se a mesma seqüência viral - NS3 - mais de 96,80% das vezes (31). A área mais preservada nos diferentes tipos do VHC é a 5' não traduzida, e que é a escolhida, preferencialmente, para o diagnóstico por apresentar a menor taxa de mutação (122).

Um estudo realizado em 15 pacientes com doença hepática crônica e em 17 doadores de sangue, buscando detectar o genótipo do VHC em nosso país, mostrou que as seqüências de VHC-RNA encontradas foram similares às do VHC tipo 1 já descrito, com homologia na região NS5 de 98,80% à 99,20%. A análise filogenética indicou que o VHC desses pacientes pertence ao grupo 1 do genótipo do VHC com pequena divergência em relação ao tipo predominante na Europa e América do Norte (98).

### 1.2.3 - Diagnóstico Sorológico

Os testes diagnósticos da hepatite C são de utilização recente. Entretanto multiplicam-se rapidamente as diversas técnicas que visam detectar os peptídeos estruturais e não estruturais do VHC no sangue periférico e no hepatócito.

As variações genéticas do vírus dificultaram o surgimento de testes diagnósticos que fossem, ao mesmo tempo, sensíveis e específicos.

ELISA de primeira, segunda e terceira geração, RIBA de primeira e segunda geração e reação em cadeia da polimerase (PCR) têm permitido crescente detecção do vírus ou anticorpos a ele relacionados.

O teste anti-VHC ELISA de primeira geração pesquisa anticorpos contra o antígeno c100-3, localizado na parte não estrutural do vírus (70). Nesse teste, o anti-VHC torna-se reagente, habitualmente, cerca de 15 semanas após a fase aguda da doença, com uma variação de 2 semanas até 1 ano ou mais. Apresenta risco de resultados falso-positivos na presença de fator reumatóide, hipergamaglobulinemia, hepatite crônica ativa auto-imune, hepatopatia alcoólica e paraproteinemia. É pouco sensível e pouco específico, não discriminando as classes IgM e IgG de anticorpos. Estima-se que 10% a 20% dos pacientes infectados com o vírus C não dão resposta positiva ao teste (32).

Devido à seroconversão tardia e à pouca correlação com infecção, foi substituído pelo teste anti-VHC ELISA de segunda geração, o qual detecta antígenos estruturais (c22) e não estruturais (c33 e c100-3) do VHC, sendo, portanto, mais sensível e específico. O anti-VHC (anti-c22, anti-c33 e anti-c100-3) positiva-se 30 a 90 dias mais cedo do que o anti-VHC de primeira geração, mas, ainda assim, várias semanas após o episódio agudo, permanecendo uma janela imunológica significativa.

ELISA de terceira geração tem sido recentemente utilizado, testando anticorpos contra o core, antígenos NS3 e NS5, aumentando ainda mais a habilidade para detectar pacientes infectados pelo VHC (37).

A preocupação com resultados falso-positivos nos testes anti-VHC (ELISA), principalmente nas populações de baixo risco, levou à realização de ensaios suplementares para confirmar o resultado positivo. O mais comum deles é um ensaio recombinante - RIBA.

RIBA de primeira geração atua imobilizando os antígenos recombinantes utilizados no ELISA. É um teste de grande especificidade, mas menos sensível que o ELISA e, por isso, não representa um teste confirmatório ideal. Com o RIBA de segunda geração (RIBA 4), que utiliza quatro antígenos do VHC (c22, c33, c100-3 e 5-1-1), é possível o diagnóstico de hepatite C no primeiro mês da doença em aproximadamente 50% dos casos. Um teste RIBA 4 positivo tem boa correlação com viremia ou presença do VHC-RNA no soro (Quadro 6) (37).

#### QUADRO 6

#### REGIÕES GENÔMICAS / PROTEÍNAS DO VHC UTILIZADAS NOS TESTES ANTI-VHC

| ENSAIO                                | REGIÃO GENÔMICA-PROTÉICA DO VHC  |
|---------------------------------------|--|
| <b>1 - TESTES DE <i>SCREENING</i></b> |  |
| ELISA 1ª geração                      | c100-3 / NS4   |
| ELISA 2ª geração                      | c22c / Core (1)  |
| ELISA 3ª geração                      | c200 / NS3 / NS4 (c33c / NS3 + c100-3<br>Core / NS3 / NS5)                                       |
| <b>2 - TESTES CONFIRMATÓRIOS</b>      |  |
| RIBA 1ª geração                       | c100-3 / NS4   |
| RIBA 2ª geração<br>(RIBA 4)           | 5-1-1 (proteínas das regiões NS3 / NS4)<br>c100-3 / NS4<br>5-1-1<br>c33c / NS3<br>c22-3 / C (S1) |

Adaptado de Dusheiko (37)

Em virtude da pequena quantidade de vírus C circulante, o RNA não é encontrado no soro pelas técnicas usuais. Utilizando-se a PCR, verificou-se que muitos pacientes com hepatite aguda pelo vírus C têm RNA do vírus circulante no sangue, tanto no final do período prodrômico como durante as manifestações clínicas da doença, o que também pode ser comprovado com o RIBA. A identificação do RNA no soro por PCR ou do anti-VHC por RIBA 4 constituem atualmente os melhores métodos para confirmar a presença de infecção pelo VHC.

Durante a fase inicial da hepatite C, a presença do VHC-RNA parece ser o único marcador diagnóstico da infecção, demonstrando a existência de vírus circulante com provável replicação. O desaparecimento do VHC-RNA do soro significa, em geral, cura da hepatite C, ao passo que sua persistência é verificada nos doentes que progridem para hepatite crônica. Apesar de ser altamente sensível e específica, a PCR apresenta como principal limitação o fato de não ser quantitativa (75).

Um novo teste desenvolvido recentemente pela *Chiron Corporation* permite a quantificação da taxa de viremia tanto no soro como no tecido hepático. Esse teste é chamado de *Branched DNA-enhance Label Amplification Assay* (bDNA) ou simplesmente *Amplex*. Difere da PCR porque o material genético não é amplificado e sim ligado a um substrato luminescente que emite luz, sendo essa, detectada por um luminômetro. A intensidade do sinal é proporcional à quantidade original de ácido nucléico viral na amostra, permitindo assim a quantificação do RNA do VHC. A técnica oferece informações valiosas, uma vez que a quantidade de vírus pode ser proporcional ao grau de alteração histológica, servindo para monitorizar a gravidade da doença e resposta ao tratamento anti-viral (75).

A pesquisa do anti-VHC IgM trouxe importante contribuição para a caracterização da infecção ativa e replicação viral. Esse anticorpo pode ser detectado precocemente, nas primeiras quatro semanas da infecção, mas persiste reagente nos pacientes com doença crônica, não podendo ser utilizado isoladamente como teste confirmatório da infecção aguda (17).

### 1.3 - Anti-VHC e Transplante Renal

É freqüente a presença do anti-VHC nos receptores renais, sendo responsável por um significativo índice de disfunção hepática pós-Tx. Entretanto, até agora, ainda não se tem dados suficientes para demonstrar os efeitos adversos do VHC na sobrevivência a longo prazo do paciente e do enxerto renal (113, 132, 140).

O curso clínico e a evolução da hepatite C após o Tx permanecem desconhecidos. O significado específico da presença do anti-VHC pré-Tx, sua relação com o Tx e o surgimento de doença hepática pós-Tx ainda precisam ser melhor esclarecidos. Ynares e colaboradores (140) estudando 273 receptores renais verificaram positividade ao anti-VHC em 70 deles (26%). Cinco permaneceram positivos por um período tão longo quanto 11 anos, a partir do teste inicial, e apenas 1 dos 5 apresentou hepatite crônica. Mortalidade secundária à insuficiência hepática ocorreu em 2 de 65 pacientes no seguimento pós-operatório de 5 a 12 anos.

A infecção pelo VHC nos receptores renais parece ter uma evolução diferente da observada nos indivíduos com HPT. O curso da hepatite C pós-Tx, aparentemente, é mais agressivo do que o da HPT (96). A persistência da positividade ao anti-VHC pode significar a continuidade da infecção pelo VHC, sugerindo que os receptores renais anti-VHC positivos correm risco aumentado de desenvolver hepatopatia crônica após o Tx (117).

Um grande número de autores descreve uma prevalência elevada do anti-VHC nos receptores no momento do Tx, observando que a maioria desses pacientes foi contaminada durante o período de HD, por isso urêmicos crônicos em tratamento dialítico têm sido motivo de constante estudo e preocupação.

Yoshida e colaboradores (141) verificaram uma variação muito grande na positividade para o anti-VHC nos pacientes em HD em diferentes países, encontrando 1% na Inglaterra, 10% na Alemanha, 12% nos Estados Unidos, 18% na Itália, 20% na Espanha e 22% no Japão. Os autores referidos salientam que em nosso país a situação é grave, com índices de positividade ao anti-VHC de até 50% para pacientes em HD e de até 20% para os em DP. A

prevalência do anti-VHC nos pacientes com IRC submetidos a HD no Hospital Evangélico e na Santa Casa de Londrina foi de 20,20% (65). Santana e colaboradores (115) estudando 262 pacientes em HD na cidade de Salvador-BA, registraram uma prevalência do anti-VHC de 29,80% por ELISA de segunda geração com confirmação com RIBA 2.

Hayashi e colaboradores (59) estudaram 418 pacientes em seis unidades de HD no Japão e detectaram positividade para o anti-VHC em 127 (30,40%), índice vinte vezes mais alto do que em doadores de sangue.

O estado sorológico anti-VHC do receptor e sua relação com o Tx renal também têm sido amplamente discutidos na literatura.

Em uma revisão de 596 pacientes transplantados renais, Fernandez e colaboradores (44) encontraram 154 (26%) pacientes anti-VHC positivos pré-transplante (HD), 180 (30%) anti-VHC positivos na cirurgia do transplante e 117 (22%) anti-VHC positivos 1 ano pós-transplante, verificando que a maior parte dos receptores anti-VHC positivos com 1 ano pós-Tx já possuía o anticorpo pré-Tx.

Oliveras e colaboradores (87) analisaram dois grupos de pacientes transplantados renais, um deles incluindo 100 receptores com duas dosagens sorológicas, uma no momento do Tx e outra com tempo médio de 36 meses de pós-operatório. O outro grupo consistiu de 35 receptores e foi estudado sorologicamente com uma única dosagem do anti-VHC no período pós-operatório entre 1 a 5 anos. Vinte e cinco de 100 pacientes (25%) apresentaram anti-VHC positivo pré-Tx, sendo que 14 deles permaneceram com positividade no período de 1 a 5 anos pós-Tx. No segundo grupo, 11 de 35 receptores (31,50%) apresentaram anti-VHC positivo. Novamente observa-se que a contaminação pelo VHC ocorreu, predominantemente, no período pré-Tx.

Em uma série de pacientes estudados, Morales e colaboradores (78, 79) observaram positividade ao anti-VHC por ELISA de segunda geração, confirmado por RIBA 4, em 83 de 327 transplantados renais, sendo que 60% deles tinham doença hepática crônica. Dentre os receptores anti-VHC positivos, 76% já apresentavam anticorpos antes do Tx, por provável contaminação durante o período de HD.

Conlon e colaboradores (29), acompanhando 272 pacientes transplantados renais em Dublin, observaram uma prevalência de 1,10% de positividade ao anti-VHC. Tal prevalência, extremamente baixa nos receptores irlandeses, sugere uma variação geográfica ou genética associada com a infecção pelo VHC.

Um trabalho realizado na Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas de São Paulo mostrou que a prevalência do anti-VHC pelo teste ELISA de primeira geração nos pacientes com diagnóstico de hepatite NANB foi de 73%, enquanto que o grupo com hepatite B apresentou positividade ao anti-VHC em 44% dos casos (97).

Cenderoglo e colaboradores (21) analisaram de forma randomizada o soro estocado de 70 dos 384 pacientes transplantados no período de 1976 a 1990 na Unidade de Transplante Renal da Escola Paulista de Medicina, encontrando uma prevalência de 40% do anti-VHC pelo teste ELISA da Abbott.

A possibilidade de transmissão da hepatite C através do Tx renal tem sido referida recentemente.

Alguns autores como Huang e colaboradores (61) desaconselham a utilização de doadores de órgãos anti-VHC positivos no Tx renal. No entanto Aeder e colaboradores (2), ao contrário, acreditam que rins de doadores anti-VHC positivos pelos testes ELISA de primeira e segunda gerações podem ser transplantados sem maiores riscos de transmissão do VHC se esses pacientes apresentarem PCR e RIBA negativos.

Em dois registros de um mesmo grupo de pacientes, foram avaliados 22 receptores anti-VHC positivos que receberam rins de doadores também positivos, e 27 receptores seropositivos de doadores anti-VHC negativos. O teste anti-VHC utilizado foi ELISA de segunda geração e os resultados positivos confirmados por RIBA. Não houve diferença entre os transplantados quanto à prevalência de doença hepática e todos eles permaneceram seropositivos para o VHC. Por esses achados, os autores sugerem que rins de doadores anti-VHC positivos podem ser usados para Tx de pacientes anti-VHC positivos sem um risco maior de desenvolvimento de hepatopatia pós-Tx (78,79).

**JUSTIFICATIVA**

---

**JUSTIFICATIVA**

- ◆ Considerando que a hepatite viral é uma complicação comum no Tx renal e que muitos deles desenvolvem dano hepático progressivo contribuindo significativamente para a sua morbi-mortalidade;
- ◆ considerando que 10% a 15% (44, 113) dos receptores renais apresentam hepatite crônica e que, em 50% das vezes, ela é causada pelo VHC (44);
- ◆ considerando que a hepatite C é a causa mais importante de doença hepática crônica pós-Tx;
- ◆ considerando que a presença do VHC está relacionada a um alto grau de cronicidade da doença hepática e evolução para cirrose;
- ◆ considerando que dados de prevalência do VHC nos pacientes transplantados renais, no nosso meio, ainda são escassos, bem como a repercussão clínica da doença no seguimento pós-operatório destes indivíduos;
- ◆ foi julgada adequada a realização deste estudo na tentativa de obter elementos que venham a esclarecer algumas das questões supracitadas.

**OBJETIVOS**

---

**FACULDADE DE MEDICINA**  
UFRGS HCPA  
BIBLIOTECA

## OBJETIVOS

### 3.1 - Geral

- ◆ Detectar a prevalência do anti-VHC nos pacientes transplantados renais e seus respectivos doadores.

### 3.2 - Específicos

- ◆ Identificar a seroconversão do anti-VHC nos receptores renais pós-transplante (aos 6 meses e em 1 ano).

- ◆ Comparar os resultados dos testes anti-VHC ELISA de segunda geração.

- ◆ Identificar a prevalência do VHC-RNA nos pacientes doadores e receptores renais com positividade ao anti-VHC pelo teste da *United Biomedical Incorporation* (UBI).

- ◆ Investigar a possibilidade de transmissão do VHC através do enxerto contaminado, com 1 ano de seguimento pós-operatório.

- ◆ Comparar a positividade do anti-VHC com o tempo de hemodiálise pré-Tx, as transfusões sanguíneas e as alterações dos níveis sanguíneos de AST (Aspartato Aminotransferase) e ALT (Alanina Aminotransferase).

- ◆ Identificar a presença do HBsAg nos doadores e receptores renais no momento do Tx, aos 6 meses e 1 ano após.

- ◆ Identificar a prevalência da positividade do HBsAg e do anti-VHC simultaneamente.
- ◆ Identificar a presença do HBeAg ou do anti-HBe nos pacientes HBsAg positivos.



## **PACIENTES E MÉTODOS**

### 4.1 - Delineamento

Para avaliar a prevalência e a seroconversão do anti-VHC no Tx renal foram utilizados um estudo transversal e uma coorte contemporânea, respectivamente, tendo sido estudados pacientes transplantados renais na ISCMPA no período de outubro de 1991 a julho de 1992, com um seguimento de 1 ano pós-operatório.

Foi realizado um outro estudo transversal, identificando-se os doadores anti-VHC positivos no momento da doação e a possibilidade de transmissão da doença para o receptor através do enxerto contaminado.

### 4.2 - População em Estudo

Foi estudada uma amostra de 48 pacientes, portadores de IRC, com indicação clínica de Tx e que foram submetidos ao seu primeiro Tx renal com DV ou DC na ISCMPA, no período de outubro de 1991 a julho de 1992, independentemente da idade, sexo, cor ou etiologia da doença renal. A imunossupressão consistiu de esquema tríplice com ciclosporina, azatioprina e corticoesteróides ou da associação de azatioprina com esteróide nos receptores de rim de DVR HLA idênticos. Avaliou-se, ainda, a população de doadores, tanto DVR como DC.

#### 4.2.1 - Critérios de Elegibilidade e de Exclusão

Foram considerados elegíveis para o estudo pacientes que concordaram em participar da investigação, através da assinatura do termo de consentimento, tendo sido as crianças representadas por pais ou responsáveis (Anexo 1). Todos os pacientes deveriam ser portadores de IRC com indicação de Tx renal, que não tivessem sido transplantados previamente e que realizassem a cirurgia na ISCMPA no período de outubro de 1991 a julho de 1992. Os pacientes seriam acompanhados por um período de no mínimo 1 ano pós-operatório, sendo considerados como perda aqueles que viessem a evoluir para o óbito ou enxerto não funcionante, independentemente da causa, antes de se completar 1 ano pós-Tx.

#### 4.2.2 - Tamanho da Amostra

A dimensão da amostra foi feita com base nos seguintes parâmetros:

Nível de significância : 5%

Erro amostral : 8,30%

Prevalência de anti-HCV : 12%

Considerando-se um nível de significância de 5%, um erro amostral de 8,30% e com base em uma prevalência do anti-VHC no transplantado renal em torno de 12%, de acordo com dados de literatura, foi calculado que seria aceitável para o estudo um tamanho de amostra com um número de no mínimo 30 pacientes. Prevendo-se em 25%-30% as eventuais perdas no seguimento pós-operatório, estimou-se uma amostra de 40 pacientes. Foi possível, no entanto, no período estabelecido, estudar 48 receptores renais e seus respectivos doadores.

#### 4.3 - Variáveis em Estudo

As variáveis avaliadas no estudo estão listadas no quadro abaixo (Quadro 7).

### QUADRO 7

#### VARIÁVEIS EM ESTUDO

- 1 - Positividade aos testes anti-VHC (ELISA) dos laboratórios UBI, Abbott e Behring no doador e, no receptor renal, pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx
- 2 - Presença do VHC-RNA por PCR nos pacientes com anti-VHC positivos pelos testes da UBI
- 3 - Positividade ao HBsAg (laboratórios Abbott e Behring) no doador e, no receptor renal, pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx
- 4 - Presença do HBeAg e anti-HBe (Abbott) nos pacientes com positividade ao HBsAg
- 5 - Níveis sanguíneos de ALT e AST na admissão do paciente para o Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx
- 6 - Tempo de duração da HD pré-Tx (em meses)
- 7 - Necessidade de HD pós-Tx
- 8 - Número de transfusões sanguíneas (em unidades) pré-Tx, transoperatório e até 1 ano pós-Tx
- 9 - Doador vivo ou cadavérico
- 10 - Sexo
- 11 - Idade
- 12 - Cor

A realização dos testes sorológicos anti-VHC por *kits* fornecidos pelos laboratórios UBI, Abbott e Behring possibilitou a identificação dos pacientes doadores e receptores renais com positividade ao anti-VHC pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx.

Nos pacientes com anti-VHC positivos pelos testes da UBI, foi pesquisada a presença do VHC-RNA no soro por PCR.

Todos os pacientes foram testados quanto à presença do HBsAg, sendo que nos com positividade ao teste realizou-se a pesquisa do HBeAg e anti-HBe.

Foram considerados os resultados das dosagens séricas de AST e ALT realizadas pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx.

O tempo de permanência em HD convencional foi considerado em meses, desde o início do tratamento até a data da realização do Tx. A necessidade eventual de realização de HD temporária pós-Tx devido, por exemplo, a necrose tubular aguda ou rejeição grave do enxerto foi outra variável avaliada.

Quanto ao uso de transfusão de sangue e derivados, foi considerada a informação sobre a necessidade de utilização dos mesmos, em unidades, desde o início da HD até a realização do Tx, transoperatório e até 1 ano pós-Tx.

Os pacientes doadores foram divididos em DVR ou DC.

A idade foi considerada em anos completos, tendo sido ignorado o tempo residual em meses e dias.

Quanto à variável cor, os pacientes foram classificados como brancos ou não brancos.

#### 4.4 - Avaliação das Variáveis

##### ◆ Estudo Bioquímico

A determinação dos exames laboratoriais foi realizada a partir de amostras de sangue colhidas no momento da indução anestésica, pelo médico anestesista; e aos 6 meses e 1 ano pós-Tx, em amostras colhidas por técnico responsável pela coleta.

As dosagens bioquímicas solicitadas (ALT e AST) foram realizadas no Laboratório Central da ISCMPA pelo método cinético otimizado, segundo recomendações da *International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)*, tendo como valores de referência no soro até 20 U/l para a AST e até 25 U/l para a ALT. Quando os níveis séricos da AST e ALT excederam 2 vezes o limite superior da normalidade ( $> 2N$ ), considerou-se o fato como sugestivo de disfunção hepática.

##### ◆ Estudo Sorológico

Como todo método diagnóstico, a determinação sérica do anti-VHC sofre restrições naturais, dependentes de sua sensibilidade em detectar a infecção, sempre que ela estiver presente, e de sua especificidade em mostrar-se negativo na ausência da mesma. O nível de corte ou *cut-off* foi utilizado para tornar o método mais sensível ou mais específico, conforme as necessidades (Anexos 5, 6, 7 e 8).

Para a realização do estudo sorológico foram coletadas amostras de 5 ml de sangue dos pacientes no bloco cirúrgico, no momento da realização do transplante ou da nefroureterectomia do doador; aos 6 meses e 1 ano pós-operatórios apenas nos receptores.

As amostras foram centrifugadas, sendo o soro conservado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização dos testes.

A pesquisa do anti-VHC foi realizada através de ensaio imunoenzimático - ELISA de segunda geração - com testes da UBI HCV EIA (*United Biomedical, Inc, New York, USA*), da ABBOTT HCV EIA *2nd Generation (Abbott Diagnostics Division)* e da BEHRINGWERKE (Enzygnost - Anti-HCV), seguindo-se rigorosamente as orientações dos fornecedores (Anexo 2).

Os testes da UBI são um ensaio imunoenzimático qualitativo utilizados para a detecção *in vitro* de anticorpos para o VHC. Consistem de peptídeos VHC sintéticos que correspondem a segmentos altamente antigênicos das porções estruturais e não-estruturais do vírus. O uso de peptídeos sintéticos oferece a vantagem de minimizar a incidência de reações não-específicas resultantes da reatividade cruzada dos anticorpos no soro. Esses testes, assim como a pesquisa do VHC-RNA por PCR foram realizados no *Kings College Hospital*, em Londres, sob a supervisão da Dra. Leila M.B.B. Pereira, sendo as amostras descongeladas 1 vez e as alíquotas enviadas para Londres. Durante o transporte, foram mantidas refrigeradas em gelo seco por um período aproximado de 12 horas. Foi realizado um total de 160 testes em 120 soros de receptores renais e em 40 de doadores.

Nos pacientes que apresentaram positividade ao anti-VHC pelo teste da UBI foi pesquisada a presença do VHC-RNA por PCR pela técnica de transcrição reversa *double nested* (duas amplificações), também no *Kings College Hospital*, conforme descrito no Anexo 3.

Os outros testes anti-VHC de segunda geração (Abbott e Behring) foram realizados no Serviço de Imunologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelas bioquímicas Maria Clara Correa e Marisa Chesky. O teste do laboratório Abbott (enzima imunoensaio - segunda geração) detecta anticorpos contra as regiões estrutural e não-estrutural do genoma do VHC. O teste anti-VHC do laboratório Behring é um ensaio imunoenzimático (ELISA) para pesquisa de anticorpos IgG contra o VHC, detectando anticorpos contra peptídeos sintéticos da região não-estrutural (NS 4) e da região do capsídeo. Foi analisado um total de 192 amostras de soro pelos testes Abbott e Behring, sendo 48 de doadores e 144 de receptores renais, referentes aos períodos pré-operatório, 6 meses e 1 ano pós-Tx. Todas as amostras foram testadas em duplicata, independentemente do primeiro resultado.

Os soros dos transplantados e dos seus doadores foram ainda analisados pelos testes Auszyme monoclonal (Abbott) e Enzygnost HBsAg monoclonal (Behring). Nos positivos, foi pesquisada a presença de infectividade do VHB através do teste Hbe (rDNA) EIA - (Abbott) que detecta o HBeAg e o anti-Hbe. Tais testes também foram realizados no HCPA pelas mesmas bioquímicas já citadas anteriormente, conforme orientações dos fornecedores específicos (Anexo 3).

Auszyme e Enzygnost monoclonais são ensaios imunoenzimáticos qualitativos de terceira geração que detectam o HBsAg.

O HBe (rDNA) EIA é um ensaio imunoenzimático utilizado para a detecção qualitativa do antígeno "e" da hepatite B (HBeAg) e do anticorpo para o antígeno "e" da hepatite B (Anti-Hbe).

#### 4.5 - Análise dos Dados

Os dados de cada paciente foram armazenados e processados em banco de dados, para o que se utilizou o programa de microcomputador Epi info, versão 5.0. Além da análise descritiva, realizou-se o teste  $\chi^2$  nas tabelas de números 6, 7, 8, 10, 11 e 12, para comparação das variáveis em questão. O teste t de *student* foi empregado para avaliação de amostras independentes nas tabelas 13 e 14.

As variáveis numéricas foram expressas em média  $\pm$  desvio padrão (DP), tendo-se adotado o nível de significância de 0,05.

**RESULTADOS**

---

## RESULTADOS

### 5.1 - Características dos Receptores e Doadores Renais

#### ◆ Características Demográficas dos Receptores

No período de julho de 1991 a outubro de 1992, 48 pacientes transplantados renais foram estudados, sendo 24 (50,00%) do sexo masculino e 24 (50,00%) do sexo feminino. As idades variaram de 3 a 70 anos, com média de 37 anos e desvio padrão de 14 anos. Quanto à cor, 40 pacientes (83,30%) eram brancos (Tabela 3).

**TABELA 3**  
**CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DOS RECEPTORES**

|                 |         |
|-----------------|---------|
| Nº de pacientes | 48      |
| Sexo            |         |
| Masculino       | 24      |
| Feminino        | 24      |
| Idade (em anos) |         |
| Média ± DP      | 37 ± 14 |
| Amplitude       | 3-70    |
| Cor             |         |
| Branco          | 39      |
| Não Branco      | 9       |

♦ Características Clínicas dos Receptores

O tempo de permanência em HD pré-Tx variou de zero a 74 meses, com média de 21,5 meses e desvio padrão de 16,3 meses. Dez pacientes (20,80%) necessitaram pelo menos de uma sessão de HD no pós-operatório imediato. O número de transfusões sanguíneas no pré-operatório variou de zero a 21 unidades, com média de 3,10 e desvio padrão de 4,18 unidades. No transoperatório, o número de transfusões de sangue ou derivados variou de zero a 3 unidades, com média de 0,40 e desvio padrão de 0,76 unidades. No período de 1 ano pós-operatório, o número de transfusões variou de zero a 1 unidade, com média de 0,13 e desvio padrão de 0,33 unidades. Dezenove rins (39,60%) foram de DC e 29 (60,40%) de DVR (Tabela 4).

**TABELA 4**

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS RECEPTORES**

|                                   |                    |
|-----------------------------------|--------------------|
| Tempo de HD pré-Tx (meses)        |                    |
| Média ± DP                        | 21,5 ± 16,3        |
| Amplitude                         | 0 - 74             |
| HD pós-Tx (nº de pacientes)       | 10/48              |
| Transfusões sanguíneas (unidades) |                    |
| Média ± DP (Amplitude)            |                    |
| Pré-Tx                            | 3,10 ± 4,18 (0-21) |
| Transoperatório                   | 0,40 ± 0,76 (0-3)  |
| Pós-Tx                            | 0,13 ± 0,33 (0-1)  |
| Tipo de Doador                    |                    |
| Cadáver                           | 19                 |
| Vivo relacionado                  | 29                 |

#### ♦ Características Demográficas dos Doadores

Dos 48 doadores, 28 (58,30%) eram do sexo masculino e 20 (41,70%) do sexo feminino. As idades variaram de 11 a 61 anos, com média de 32 anos e desvio padrão de 12,76 (Tabela 5).

TABELA 5

#### CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DOS DOADORES

|                 |       |
|-----------------|-------|
| Nº de pacientes | 48    |
| Sexo            |       |
| Masculino       | 28    |
| Feminino        | 20    |
| Idade (anos)    |       |
| Média           | 32    |
| Desvio padrão   | 12.76 |
| Amplitude       | 11-71 |

#### 5.2 - Avaliação Sorológica dos Receptores e Doadores Renais

##### ♦ Teste Anti-VHC por Elisa

A pesquisa do anti-VHC pelo teste ELISA do laboratório da UBI (peptídeos sintéticos) foi realizada em 40 receptores renais e seus doadores, totalizando 160 amostras correspondentes aos períodos pré-Tx, 6 meses e 1 ano pós-Tx. Onze de 40 pacientes

(27,50%) apresentaram positividade ao anti-VHC pré-Tx e 12 (30,00%) aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx, tendo ocorrido seroconversão de 1 em 40 pacientes (2,50%) aos 6 meses.

Doze de 48 pacientes (25,00%) tiveram resultado positivo pelo teste anti-VHC ELISA de segunda geração do laboratório Abbott pré-Tx, 13 (27,08%) aos 6 meses e 14 (29,17%) em 1 ano pós-Tx, tendo ocorrido seroconversão de 2 em 48 pacientes (4,16%), 1 aos 6 meses e o outro com 1 ano pós-Tx.

Onze de 48 pacientes (22,92%) mostraram positividade ao anti-VHC pelo teste ELISA de segunda geração da Behring pré-Tx, sendo que 3 pacientes (6,25%) seroconverteram com 1 ano de pós-operatório, encontrando-se 14 de 48 pacientes (29,17%) positivos nesse período de seguimento.

Nove receptores mostraram-se positivos pelos três testes, simultaneamente, nos três períodos de avaliação.

Independentemente do teste utilizado, nenhum paciente com positividade ao anti-VHC pré-Tx seroconverteu, no entanto, 2 de 48 seronegativos pelos três testes pré-Tx positivaram até 1 ano de seguimento pós-operatório (Tabela 6).

Na comparação entre os resultados dos testes dos diferentes laboratórios (UBI, Abbott e Behring) não foram verificadas significâncias estatísticas nos períodos pré-Tx ( $\chi^2 = 0,244$ , gl = 1,  $p > 0,05$ , valor crítico = 3,841), aos 6 meses ( $\chi^2 = 0,567$ , gl = 1,  $p > 0,05$ , valor crítico = 3,841) e em 1 ano pós-Tx ( $\chi^2 = 0,007$ , gl = 1,  $p > 0,05$ , valor crítico = 3,841).

POSITIVIDADE AO ANTI-VHC NOS RECEPTORES RENAIIS PRÉ-T<sub>x</sub>, AOS 6 MESES E EM 1 ANO PÓS-T<sub>x</sub> PELOS TESTES ELISA DA UBI, ABBOTT E BEHRING

| TESTES            | PRÉ-T <sub>x</sub> *<br>N (%) | 6 MESES**<br>N (%) | 1 ANO***<br>N (%) |
|-------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|
| UBI positivos     | 11/40 (27,50%)                | 12/40 (30,00%)     | 12/40 (30,00%)    |
| UBI negativos     | 29/40 (72,50%)                | 28/40 (70,00%)     | 28/40 (70,00%)    |
| Abbott positivos  | 12/48 (25,00%)                | 13/48 (27,08%)     | 14/48 (29,17%)    |
| Abbott negativos  | 36/48 (75,00%)                | 35/48 (72,92%)     | 34/48 (70,83%)    |
| Behring positivos | 11/48 (22,92%)                | 11/48 (22,92%)     | 14/48 (29,17%)    |
| Behring negativos | 37/48 (77,08%)                | 37/48 (77,08%)     | 34/48 (70,83%)    |

$\chi^2$ : \* = 0,244

\*\* = 0,567

\*\*\* = 0,007

p > 0,05

Três de 40 pacientes (7,50%) doadores renais apresentaram positividade ao teste anti-VHC ELISA de segunda geração da UBI, sendo 2 DC e 1 DV. Considerando-se a prevalência em relação ao tipo de doador, houve 2 de 15 DC (13,33%) e 1 de 25 DV (4,00%) anti-VHC positivos. Quatro de 48 doadores (8,33%) mostraram-se positivos pelos testes anti-VHC dos laboratórios Abbott e Behring, sendo 2 de 19 DC (10,53%) e os outros 2 de 29 DV (6,89%) (Tabela 7).

TABELA 7

PREVALÊNCIA DO ANTI-VHC NOS DOADORES PELOS TESTES ELISA DA UBI,  
ABBOTT E BEHRING

| TESTES    | RESULTADO*<br>N (%) |
|-----------|---------------------|
| UBI       |                     |
| positivos | 3/40 (7,50%)        |
| negativos | 37/40 (92,50%)      |
| ABBOTT    |                     |
| positivos | 4/48 (8,33%)        |
| negativos | 44/48 (91,67%)      |
| BEHRING   |                     |
| positivos | 4/48 (8,33%)        |
| negativos | 44/48 (91,67%)      |

$\chi^2$ : \* = 0,021

p > 0,05

Compararam-se os resultados entre os testes dos diferentes laboratórios, não sendo encontrada significância estatística ( $\chi^2 = 0,021$ , gl = 1, p > 0,05, valor crítico = 3,841).

♦ VHC-RNA por PCR

TABELA 8

COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE DO VHC-RNA POR PCR NOS RECEPTORES ANTI-VHC POSITIVOS PELO TESTE DA UBI

| PERÍODOS* | UBI POSITIVO | VHC-RNA POSITIVO |
|-----------|--------------|------------------|
| Pré-Tx    | 11           | 5/11 (45,45%)    |
| 6 meses   | 12           | 6/12 (50,00%)    |
| 1 ano     | 12           | 6/12 (50,00%)    |

$\chi^2$ : \* = 0,048  
 $p > 0,05$

Os receptores e doadores renais com positividade ao anti-VHC pelo teste da UBI foram pesquisados quanto à presença do VHC-RNA por PCR. De 11 receptores renais anti-VHC positivos pelo teste da UBI pré-Tx, 5 (45,45%) apresentaram positividade ao VHC-RNA pela técnica da PCR. Aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx, de 12 pacientes anti-VHC positivos, 6 (50,00%) tinham o vírus (Tabela 8). Constatou-se a persistência da replicação viral nesses pacientes no período de 1 ano pós-operatório apesar da imunossupressão. Realizou-se o teste  $\chi^2$  para comparação das variáveis em relação aos períodos de tempo pré-Tx, 6 meses e 1 ano pós-Tx, não sendo encontrada significância estatística ( $\chi^2 = 0,048$ , gl = 1,  $p > 0,05$ , valor crítico = 3,841).

De 3 doadores renais anti-VHC positivos pelo teste da UBI, 2 (66,66%) evidenciaram a presença do VHC-RNA por PCR, sendo 1 DC e 1 DV (Tabela 9).

TABELA 9

COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE DO VHC-RNA POR PCR NOS DOADORES  
ANTI-VHC POSITIVOS PELO TESTE DA UBI

|          | UBI positivo | VHC-RNA positivo |
|----------|--------------|------------------|
| DOADORES | 3            | 2/3 (66,66%)     |

- ◆ Relação do Estado Sorológico dos Doadores Anti-VHC ou VHC-RNA Positivos com os Receptores

TABELA 10

RESULTADOS DOS TESTES ANTI-VHC DOS RECEPTORES DE ACORDO COM O  
ESTADO SOROLÓGICO DOS DOADORES

| DOADORES     | RECEPTORES                                       |         |       |  |         |         |
|--------------|--|---------|-------|--|---------|---------|
|              | ANTI-VHC POSITIVOS<br>(UBI OU ABBOTT OU BEHRING) |         |       | ANTI-VHC NEGATIVOS<br>(UBI OU ABBOTT OU BEHRING) |         |         |
|              | PRÉ-Tx   | 6 MESES | 1 ANO | PRÉ-Tx   | 6 MESES | 1 ANO   |
| Anti-VHC +   | 0/4  | 0/4     | 0/4   | 4/4  | 4/4     | 4/4     |
| Anti-VHC - * | 15/44  | 15/44   | 15/44 | 29/44  | 29/44   | 29/44 * |
| VHC-RNA +    | 0/2  | 0/2     | 0/2   | 2/2  | 2/2     | 2/2     |
| VHC-RNA -    | 0/1  | 0/1     | 0/1   | 1/1  | 1/1     | 1/1     |

$\chi^2$ : \* = 4,455

p < 0,05

De 48 doadores renais foram identificados 4 anti-VHC positivos e, desses, 2 com o VHC-RNA detectado por PCR. Os receptores dos rins correspondentes a esses doadores apresentavam anti-VHC negativo pré-Tx e, no tempo de seguimento de 1 ano pós-Tx, nenhum deles seroconverteu.

Observou-se positividade ao anti-VHC em 15 de 48 receptores (31,25) por um dos três testes (UBI, Abbott, Behring) realizados nos período pré-Tx, aos 6 meses ou em 1 ano pós-Tx, sendo que todos os transplantados receberam rins de doadores anti-VHC negativos (Tabela 10).

Na comparação entre os receptores com anti-VHC positivo e negativo, no grupo dos doadores com anti-VHC negativo, constatou-se significância estatística ( $\chi^2 = 4,455$ ,  $gl = 1$ ,  $p < 0,05$ , valor crítico = 3,851) - houve prevalência dos receptores com anti-VHC negativo.

- ◆ Estado Sorológico Anti-VHC dos Receptores e Doadores em Relação ao HBsAg, HBeAg e Anti-HBe

TABELA 11

ESTADO SOROLÓGICO ANTI-VHC DOS RECEPTORES E POSITIVIDADE AO HBsAg (ABBOTT E BEHRING), AO HBeAg E AO ANTI-HBe, PRÉ-Tx, AOS 6 MESES E EM 1 ANO PÓS-Tx

| TESTES             | ANTI-VHC POSITIVOS | ANTI-VHC NEGATIVOS |
|--------------------|--------------------|--------------------|
| Pré-Tx             |                    |                    |
| HBsAg + (Abbott)   | 6/48               | 18/48              |
| HBsAg + (Behring)* | 5/48               | 18/48              |
| HBeAg positivo     | 0/27               | 5/27               |
| Anti-HBe positivo  | 3/27               | 1/27               |
| 6 meses pós-Tx     |                    |                    |
| HBsAg + (Abbott)   | 10/48              | 20/48              |
| HBsAg + (Behring)* | 9/48               | 19/48              |
| HBeAg positivo     | 0/32               | 7/32               |
| Anti-HBe positivo  | 1/32               | 3/32               |
| 1 ano pós-Tx       |                    |                    |
| HBsAg + (Abbott)   | 8/48               | 19/48              |
| HBsAg + (Behring)* | 11/48              | 12/48              |
| HBsAg + (Behring)* | 2/26               | 7/26               |
| HBeAg positivo     | 1/26               | 0/26               |
| Anti-HBe positivo  |                    |                    |

$\chi^2$ : \* 3,450  
 $p > 0,05$

Seis de 48 (12,50%) e 5 de 48 (10,42%) receptores renais evidenciaram positividade ao HBsAg, respectivamente, pelos testes dos laboratórios Abbott e Behring junto com a presença do anti-VHC no período pré-Tx. Desses pacientes, nenhum apresentou positividade ao HBeAg e 3 de 27 mostraram-se reagentes para o anti-HBe. Aos 6 meses de

pós-operatório, 4 receptores seroconverteram por ambos os testes HBsAg e apenas 1 permaneceu anti-HBe positivo. Com 1 ano pós-Tx observou-se positividade ao HBsAg em 8 de 48 (16,66%) (Abbott) e em 11 de 48 (22,91%) (Behring) nos pacientes com anti-VHC positivo. Vinte e seis desses pacientes foram avaliados com os testes HBeAg e anti-HBe, mostrando-se reagentes em 2 (7,69%) e em 1 (3,85%) deles respectivamente.

A comparação dos receptores anti-VHC positivos e negativos, com a positividade ao HBsAg pelos testes da Behring, nos períodos pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx, mostrou-se próxima do valor estipulado como estatisticamente significativo ( $\chi^2 = 3,450$ ,  $p > 0,05$ ,  $gl = 1$ , valor crítico = 3,841). Verificou-se que, com o transcorrer do tempo, aumentou a incidência dos anti-VHC positivos (Tabela 11).

Nenhum paciente doador de órgãos apresentou concomitantemente positividade ao anti-VHC e ao HBsAg. Houve uma prevalência do HBsAg de 9 em 44 doadores anti-VHC negativo (20,45%) pelo teste do laboratório Abbott e de 2 em 44 doadores anti-VHC negativo (4,54%) pelo do Behring. Tanto o HBeAg quanto o anti-HBe foram não reagentes (Tabela 12).

TABELA 12

**ESTADO SOROLÓGICO ANTI-VHC DOS DOADORES E POSITIVIDADE AO HBsAg (ABBOTT E BEHRING), AO HBeAg E AO ANTI-HBe**

| TESTES            | ANTI-VHC POSITIVOS | ANTI-VHC NEGATIVOS |
|-------------------|--------------------|--------------------|
| HBsAg + (Abbott)  | 0/4                | 9/44               |
| HBsAg + (Behring) | 0/4                | 2/44               |
| HBeAg positivo    | 0/0                | 0/9                |
| Anti-Hbe positivo | 0/0                | 0/9                |

### 5.3 - Estado Sorológico Anti-VHC e Características dos Receptores

A positividade total ao anti-VHC pré-Tx até o período de seguimento de 1 ano pós-Tx nos receptores renais foi de 33,33% (16 de 48 pacientes). Desses, 7 (43,75%) eram do sexo masculino e 9 femininos (56,25%). Onze rins (69,37%) foram de DV e 5 de DC (30,63%) nos pacientes anti-VHC positivos. Nos negativos, 18 (56,25%) foram rins de DV e 14 (43,75%) de DC.

A média de idade dos pacientes anti-VHC positivos foi de 38,75 com desvio padrão de 11,11, e dos anti-VHC negativos de 35,97 e 15,08.

Os testes aplicados para análise das variáveis tempo de HD pré-Tx ( $t_c = 0,664$ ,  $t$  com 46 gl a 5% valor crítico = 2,014), e número de transfusões de sangue e/ou derivados pré-Tx ( $t_c = 0,032$ ,  $t$  com 46 gl a 5% valor crítico = 2,014), intraoperatória ( $t_c = 0,870$ ,  $t$  com 46 gl a 5% valor crítico = 2,014) ou pós-operatória ( $t_c = 1,139$ ,  $t$  com 46 gl a 5% valor crítico = 2,014), em relação aos receptores anti-VHC positivos e negativos não evidenciaram significância estatística, embora os pacientes positivos tenham tido um tempo médio de HD de 3,4 meses a mais do que os negativos (tabela 13).

**CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DOS RECEPTORES DE  
ACORDO COM O ESTADO SOROLÓGICO ANTI-VHC**

| CARACTERÍSTICAS                    | ANTI-VHC POSITIVOS | ANTI-VHC NEGATIVOS |
|------------------------------------|--------------------|--------------------|
| Nº de pacientes                    | 16/48              | 32/48              |
| Masculinos                         | 7/16               | 17/32              |
| Femininos                          | 9/16               | 15/32              |
| Idade (anos)<br>média ± DP         | 38,75 ± 11,11      | 35,97 ± 15,08      |
| Tipo de doador<br>vivo<br>cadáver  | 11/16<br>5/16      | 18/32<br>14/32     |
| Tempo de HD (meses)*<br>média ± DP | 23,81 ± 13,00      | 20,41 ± 17,81      |
| HD pós-Tx (N)                      | 5/16               | 5/32               |
| Nº de transf.(unid)<br>média ± DP  |                    |                    |
| Pré-Tx**                           | 2,69 ± 2,33        | 2,72 ± 3,65        |
| Transoperatório***                 | 0,56 ± 0,96        | 0,38 ± 0,71        |
| Pós-operatório****                 | 0,44 ± 0,73        | 0,22 ± 0,55        |

t student: \* = 0,664

\*\* = 0,032

\*\*\* = 0,870

\*\*\*\* = 1,139

p > 0,05

#### 5.4 - Avaliação Bioquímica dos Receptores

O estudo bioquímico através das dosagens séricas de AST e ALT pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx, em relação ao estado sorológico anti-VHC dos receptores renais nos mesmos períodos de tempo mostrou uma significância estatística próxima ao valor estabelecido para o estudo ( $t_c = 1,936$ ,  $t$  com 41 gl = 2,020,  $p > 0,05$  ( $p = 0,06$ )), na comparação dos receptores anti-VHC positivos e negativos com o nível sérico de ALT < 2 N após 1 ano do Tx. A média dos valores em u/l no grupo anti-VHC positivo foi superior à do negativo.

O número de pacientes com alteração dos valores de ALT pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx foram respectivamente, 1 em 15 (6,66%), 2 em 15 (13,33%) e 2 em 15 (13,33%) no grupo dos pacientes anti-VHC positivos, e de 4 em 33 (12,12%), 1 em 33 (3,03%) e 3 em 33 (9,09%) nos negativos. Valores alterados de AST apareceram em 5 de 15 (33,33%) pré-Tx e aos 6 meses, e em 2 de 15 (13,33%) em 1 ano pós-Tx nos pacientes com positividade ao anti-VHC. Seis de 33 (18,18%), 2 de 33 (6,06%) e 4 de 33 (12,12%) pacientes anti-VHC negativos apresentaram valores anormais de AST (Tabela 14).

TABELA 14

COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE ALT E AST PRÉ-TX, AOS 6 MESES E 1 ANO PÓS-Tx COM OS RESULTADOS DOS TESTES ANTI-VHC ELISA DE SEGUNDA GERAÇÃO NOS RECEPTORES POSITIVOS E NEGATIVOS

| TESTES       | ANTI-VHC POSITIVOS |         |        | ANTI-VHC NEGATIVOS |         |        |
|--------------|--------------------|---------|--------|--------------------|---------|--------|
|              | PRÉ-Tx             | 6 MESES | 1 ANO  | PRÉ-Tx             | 6 MESES | 1 ANO  |
| ALT < 2 N*   |                    |         |        |                    |         |        |
| Nº pacientes | 14/15              | 13/15   | 13/15  | 29/33              | 32/33   | 30/33  |
| média u/l    | 21,93              | 21,92   | 22,08  | 18,28              | 21,50   | 17,40  |
| DP u/l       | ±8,91              | ±4,82   | ±7,01  | ±8,49              | ±6,42   | ±7,15  |
| ALT > 2 N    |                    |         |        |                    |         |        |
| Nº pacientes | 1/15               | 2/15    | 2/15   | 4/33               | 1/33    | 3/33   |
| média u/l    | 71,00              | 63,00   | 80,50  | 132,50             | 94,00   | 76,00  |
| DP u/l       | ±∞**               | ±14,14  | ±38,89 | ±76,44             | ±∞**    | ±14,42 |
| AST < 2 N    |                    |         |        |                    |         |        |
| Nº pacientes | 10/15              | 10/15   | 13/15  | 27/33              | 31/33   | 29/33  |
| média u/l    | 21,80              | 17,00   | 17,77  | 17,74              | 19,94   | 14,97  |
| DP u/l       | ±7,41              | ±6,43   | ±8,06  | ±8,30              | ±9,01   | ±6,13  |
| AST > 2 N    |                    |         |        |                    |         |        |
| Nº pacientes | 5/15               | 5/15    | 2/15   | 6/33               | 2/33    | 4/33   |
| média u/l    | 62,60              | 56,20   | 61,50  | 182,83             | 126,00  | 94,50  |
| DP u/l       | ±13,96             | ±25,87  | ±4,95  | ±141,59            | ±118,79 | ±47,05 |

t student: \* = 1,936

p > 0,05

\*\* DP não existente pois há só 1 elemento no grupo

**DISCUSSÃO**

---

## **DISCUSSÃO**

### 6.1 - Características dos Receptores e Prevalência do Anti-VHC

No presente estudo houve uma prevalência de 33,33% do anti-VHC, não tendo sido evidenciadas diferenças quanto a idade, sexo, cor, tipo de doador, tempo de HD e número de transfusões de sangue ou derivados entre os receptores renais anti-VHC positivos e negativos (Tabela 13).

Um grande número de autores registrou o mesmo achado em relação às variáveis idade, sexo e tipo de doador e poucos não encontraram significância estatística entre a positividade do anti-VHC e o tempo de HD e transfusões pré-Tx. Alivannis e colaboradores (4) verificaram uma positividade ao anti-VHC de 16,60% nos transplantados renais, sem correlação significativa entre idade, sexo, tipo de doador (DV ou DC), número de transfusões e duração da HD. Outro estudo realizado por Lin e colaboradores (74) observou 46,70% de positividade ao anti-VHC em 261 pacientes urêmicos crônicos, também sem relação com idade, sexo ou história de transfusão de sangue, embora a prevalência do anti-VHC tenha sido significativamente maior quanto maior o tempo em HD. Baur e colaboradores (11) avaliaram 272 receptores renais, encontrando 10% de positividade ao anti-VHC sem correlação significativa com idade ou sexo. A HD esteve implicada com a positividade ao anti-VHC e um número de transfusões maior do que 5 unidades aumentou o risco de infecção em três vezes e meio.

O tipo de doador (DC ou DV) não influenciou a positividade ao anti-VHC em um registro feito por Klauser e colaboradores (68), embora o tempo de duração de HD tenha sido significativamente maior nos anti-VHC positivos.

Fritsche e colaboradores (48) avaliaram 640 receptores renais encontrando o anti-VHC em 8,30% deles, com predomínio de pacientes de cor preta. Pacientes negros anti-VHC positivos tiveram uma sobrevida do enxerto em 5 anos significativamente menor do que a dos receptores de cor preta anti-VHC negativos. A sobrevida do enxerto de pacientes brancos anti-VHC positivos foi praticamente igual à dos receptores da cor branca anti-VHC negativos. Independentemente da cor, a sobrevida do enxerto renal foi similar nos pacientes anti-VHC negativos. A positividade ao anticorpo do VHC pode ter sido a única razão para os pacientes negros terem uma pior sobrevida do enxerto do que os brancos, sendo que essa diferença pode ter sido decorrente de fatores como hábitos sexuais, costumes sociais, interrupção do tratamento imunossupressivo ou aspectos imunológicos não detectados até o momento. Quanto à cor, apenas 3 de 16 pacientes anti-VHC positivos e 6 de 32 anti-VHC negativos dos aqui avaliados eram pretos, estando todos vivos e com enxerto funcionante no período de 1 ano pós-Tx.

Em relação ao tempo de permanência em HD e às transfusões, a maioria dos relatos, ao contrário deste, mostra correlação dessas variáveis com a positividade ao anti-VHC. Estudo realizado por Ihara e colaboradores (63) mostrou uma positividade maior para o anti-VHC nos pacientes que permaneceram mais tempo em HD e receberam um maior número de transfusões. Tal achado também é confirmado por Ponz e colaboradores (104) que encontraram uma prevalência do anti-VHC nos pacientes em hemodiálise significativamente maior naqueles politransfundidos e que permaneceram um tempo mais longo em diálise, considerando o VHC como a causa mais comum de doença hepática nesses pacientes.

Na presente pesquisa, observou-se um tempo médio de permanência em HD pré-Tx, 3,4 meses a mais nos pacientes anti-VHC positivos em relação aos negativos, mas não houve diferença estatisticamente significativa. Dos 48 receptores avaliados, apenas 1 deles, anti-VHC negativo, não havia sido submetido a HD. Todos os anti-VHC positivos fizeram HD pré-Tx por um tempo mínimo de 4 e máximo de 48 meses. Dez pacientes necessitaram HD no período pós-operatório imediato, sendo 5 deles anti-VHC positivos.

Uma avaliação realizada por Chan e colaboradores (22) relacionando a positividade ao anti-VHC com o tipo de tratamento dialítico, mostrou que de 8 pacientes anti-VHC positi-

vos, 6 (75%) estavam em HD pré-Tx e 2 (25%) em CAPD, encontrando-se 15,40% de positividade para os pacientes em HD e 2,20% para os em CAPD. A ausência de transfusões pós-Tx e o fato de a maioria dos receptores serem positivos pré-Tx sugerem que a hepatite C foi adquirida durante a HD (22). A HD convencional hospitalar foi o único tipo de diálise realizada, quando necessário, pelos pacientes deste estudo.

Conway e colaboradores (30) estudaram 343 pacientes em HD hospitalar encontrando 10,80% anti-VHC positivos. Essa positividade esteve significativamente associada com o tempo de HD e transfusões de sangue ou derivados, demonstrando que a diálise hospitalar é um fator de risco para a transmissão da hepatite C.

Na China os pacientes em HD parecem ter mais risco de infecção pelo VHC pela prática comum de compartilhar seringas, agulhas ou linhas de diálise que podem não ser adequadamente esterilizadas (27). Os pacientes aqui avaliados realizavam HD em sala comum, não isolada, mas com todos os cuidados de esterilização do material.

Como já citado anteriormente neste estudo, sabe-se que o VHC é responsável por cerca de 90% das HPT (28, 38, 70, 73). Um *screening* dos doadores de sangue com o teste anti-VHC ELISA pode prevenir o aparecimento da infecção na maioria das vezes. Dodd e colaboradores (36) relataram que a utilização do teste anti-VHC proporcionou uma redução da incidência de HPT em torno de 50% a 80% ou mais. No entanto somente 17% dos 25% pacientes com positividade ao anti-VHC por ELISA de primeira geração realmente transmitem o VHC através de transfusão (133).

Alter e colaboradores (5) pesquisaram a presença do anti-VHC por ELISA de primeira geração em pacientes receptores de sangue e observaram um aparecimento de positividade ao anti-VHC tardio, levando um tempo médio de 21,9 semanas após a transfusão, ou 15 semanas após o episódio agudo, sendo que 1 paciente positivou em 1 ano. Garson e colaboradores (52) avaliaram 1.100 doadores de sangue, encontrando 6 (0,55%) anti-VHC positivos por ELISA de primeira geração. Desses 6, apenas 1 (17%) transmitiu hepatite C para o respectivo receptor. Um outro registro feito por Feinman e colaboradores (43) mostrou que a maioria dos receptores que desenvolveram HPT recebeu sangue de doadores

anti-VHC positivos. Os achados demonstraram que doadores de sangue anti-VHC positivos podem transmitir hepatite C.

Lee e colaboradores (73) analisaram 288 pacientes transfundidos por ocasião de cirurgia cardiovascular na Tailândia, e encontraram uma incidência alta (86,50%) de positividade ao anti-VHC nos pacientes com HPT no período de 1 ano de seguimento pós-operatório. Um outro estudo constatou uma positividade ao anti-VHC de 20% nos receptores renais politransfundidos e em torno de 8% naqueles que receberam menos de 5 unidades de sangue (68).

No Brasil, a avaliação de 6.411 doadores de sangue na cidade do Rio de Janeiro demonstrou uma positividade ao anti-VHC por ELISA de segunda geração em 147 indivíduos (2,30%) (99).

No presente estudo, onze de 48 pacientes receberam sangue no período pré-Tx durante a HD, sendo 3 deles anti-VHC positivos. Treze de 48 foram transfundidos no transoperatório e 5 apresentaram positividade ao anti-VHC. Desses 5, 3 não haviam sido transfundidos pré-Tx, mas já eram anti-VHC positivos antes do Tx, assim como os outros 2. Dos 3 receptores sem transfusão pré-Tx, apenas 1 permaneceu sem ser transfundido no período de seguimento, no entanto necessitou de HD no pós-operatório imediato. Dos receptores anti-VHC positivos, o que mais foi transfundido recebeu 6 unidades de sangue durante o período de seguimento. Não foi verificada significância estatística entre o número de transfusões, independentemente do período de sua utilização, com a positividade ao anti-VHC. Do total de pacientes avaliados, apenas 1, anti-VHC negativo, não foi transfundido e não realizou HD em nenhum momento do período de avaliação, tendo sido transplantado com rim de doador anti-VHC negativo.

## 6.2 - Testes Sorológicos da Hepatite C e Transplante Renal

O anti-VHC desenvolve-se de forma lenta, provavelmente porque a quantidade do vírus no sangue é pequena. Além disso, a positividade do anticorpo não significa que o paciente tenha infecção replicativa e que seja infectante.

Tesi e colaboradores (128) observaram uma taxa de falso-negativos com o anti-VHC de 46%, podendo esse fato ser um reflexo da modificação da história natural da hepatite C no grupo de pacientes imunossuprimidos. Dois terços dos receptores apresentaram VHC circulando após o Tx, mas somente 32% tiveram persistência do mesmo, sugerindo que o vírus também pode desaparecer apesar da imunossupressão. O assunto é controverso na literatura e esse mesmos autores em um estudo mais recente, verificaram que a virulência da doença não foi afetada pelo uso de imunossupressores pós-Tx (129).

O efeito dos imunossupressores na seroconversão precisa ser melhor definido. Pode ocorrer uma diminuição dos títulos do anti-VHC, ficando abaixo da sensibilidade do teste ou, talvez, o desaparecimento do anticorpo seja causado por uma doença aguda auto-limitada. Postula-se, até mesmo, que o anti-VHC pode ser adquirido passivamente por transfusão de sangue em receptores renais que de fato não tenham sido infectados pelo vírus (110, 111, 112, 113).

Chan e colaboradores (22) encontraram uma prevalência de 6,20% do anti-VHC em 130 transplantados, podendo essa taxa baixa estar relacionada com a diminuição progressiva dos títulos de anti-VHC secundária à imunossupressão pós-Tx.

Uma avaliação de 67 receptores renais pelo teste anti-VHC ELISA confirmado com RIBA de primeira geração mostrou uma positividade de 42% ao anti-VHC no seguimento pós-operatório. Após o Tx, 9 de 32 pacientes anti-VHC positivos seroconverteram e 5, previamente negativos, positivaram. A perda da positividade ao anti-VHC pós-Tx pode ser devida à cura da hepatite C ou ao desaparecimento dos anticorpos por efeito da imunossupressão pós-Tx. A persistência de positividade ao anti-VHC pode caracterizar um

portador crônico da hepatite C e a conversão para positividade pós-Tx pode ser decorrente de transfusões, embora a possibilidade de outras vias de contaminação, como por exemplo, o enxerto renal, não possa ser descartada (103).

A pesquisa do anti-VHC é um exame relativamente simples e bem menos dispendioso do que a PCR para o VHC-RNA. No entanto, no transplantado renal, a detecção do VHC por PCR é um método mais sensível para diagnóstico de infecção pelo VHC do que o teste anti-VHC por ELISA. O achado de altas taxas de seropositividade ao VHC-RNA e negatividade ao anti-VHC em amostras no pré e pós-Tx é indicativo de que o uso de testes sorológicos anti-VHC isolados pode ser inadequado para o diagnóstico de infecção pelo VHC. É possível que o tratamento imunossupressivo aumente a replicação viral, tanto por um efeito supressivo direto quanto indireto no sistema imunitário do receptor ou, alternativamente, o aumento dos títulos do VHC pode representar uma evolução natural da infecção crônica por esse vírus. Entretanto resultados falso-positivos e negativos também podem ocorrer com a PCR (139).

Arita e colaboradores (9) analisaram 92 receptores renais pelos testes anti-VHC ELISA de primeira geração e VHC-RNA por PCR. Encontraram positividade para o VHC-RNA por PCR em 12 de 24 pacientes anti-VHC negativos, demonstrando uma alta taxa de falso-negativos pelo teste anti-VHC em relação a PCR nesses pacientes.

Um estudo de 185 receptores renais realizado por Cheng e colaboradores (27) encontrou 18 pacientes positivos tanto para o anti-VHC de segunda geração como para o VHC-RNA por PCR. Um transplantado foi positivo apenas para o anti-VHC e 4 para o VHC-RNA isolado. No seguimento médio de 48 meses pós-Tx de 151 pacientes, 3 positivaram o anti-VHC e o VHC-RNA, enquanto 2 positivaram apenas o VHC-RNA, sugerindo que a pesquisa do vírus por PCR é um teste adicional ao anti-VHC e deve ser indicado.

Goffin e colaboradores (55) avaliaram a incidência e evolução da infecção pelo VHC em 120 receptores renais usando ELISA de segunda geração e verificaram positividade ao anti-VHC em 17 pacientes. Após um período de 48,5 meses todos os pacientes permaneceram anti-VHC positivos e 5 receptores inicialmente negativos seroconverteram. Dos 22 pacientes anti-VHC positivos, 20 eram também VHC-RNA positivos, havendo uma correlação freqüente entre a positividade do anti-VHC e a presença do VHC-RNA, mostrando que a persistência da infecção pode ser detectada pelo anti-VHC.

Na pesquisa aqui levada a efeito, foram identificados, pré-Tx, 11 de 40 pacientes anti-VHC positivos pela UBI (peptídeos sintéticos) e 12 de 48 e 11 de 48 pelos testes anti-VHC ELISA de segunda geração dos laboratórios Abbott e Behring respectivamente. Aos 6 meses pós-Tx, 1 paciente positivou pelos testes UBI e Abbott. Em 1 ano, 1 paciente positivou pela Abbott e 3 pelo Behring. Nenhum paciente com positividade ao anti-VHC pré-Tx seroconverteu no período de seguimento de 1 ano pós-Tx, coincidindo com o achado do estudo mencionado acima. Tal fato demonstra que a pesquisa do anti-VHC pode ser um marcador fidedigno da infecção pós-Tx. No entanto dos 11 pacientes anti-VHC positivos pela UBI, foi identificada a presença do VHC-RNA em apenas 5 deles no pré-Tx, e dos 12 pacientes avaliados aos 6 meses e em 1 ano, 6 apresentaram positividade ao VHC-RNA por PCR nos dois períodos respectivos. Um dado muito importante foi a persistência da positividade tanto para o anti-VHC como para o VHC-RNA no período de seguimento pós-operatório desses receptores apesar do tratamento imunossupressivo (Tabelas 6 e 8).

A replicação ativa do VHC pode ser observada na ausência de positividade ao anti-VHC, assim como muitos pacientes com a presença desse anticorpo podem ser, também, positivos para o VHC-RNA. Além disso, como já foi referido, pacientes imunossuprimidos podem não apresentar quantidades de anticorpos suficientes para serem detectados por ensaios convencionais. Por isso, a pesquisa do VHC-RNA por PCR tem sido considerada, atualmente, o teste ideal para constatar viremia, desde que executada em amostras coletadas apropriadamente. As amostras de sangue devem, preferencialmente, ser colhidas e centrifugadas, sendo o soro congelado no mesmo dia, com intervalo de no máximo 6 horas. Alguns autores sugerem que o material deve ser armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$ , por um período máximo de 6

meses e que não seja descongelado antes da realização dos ensaios. Recentemente, no entanto, tem sido visto que mesmo essa forma de armazenamento não é inteiramente satisfatória, podendo resultar em perda da atividade do VHC-RNA em até 30% (72). Os vírus portadores de envelope como o VHC são muito sensíveis ao manuseio e armazenamento inadequados. As amostras armazenadas por um tempo mais longo têm uma probabilidade maior de perda de positividade do VHC-RNA pelos danos sofridos (41).

Busch e colaboradores (18) compararam a taxa de detecção do VHC-RNA em amostras congeladas e degeladas, e em soro fresco, sendo que 27 delas tinham positividade ao anti-VHC por ELISA de segunda geração. A presença do VHC-RNA foi observada em apenas 10 das amostras congeladas e em 16 das de soro fresco. O armazenamento das amostras foi a - 80 °C, com três ciclos de congelamento e degelo, o que pode causar redução da capacidade de detecção do VHC-RNA na metade dos casos.

Neste estudo, para a pesquisa do VHC-RNA, as amostras foram enviadas para Londres, sendo mantidas refrigeradas em gelo seco por um período aproximado de 12 horas durante o transporte. Ocorreu degelo parcial de 132 amostras, 40 de pacientes doadores e 92 de receptores, correspondentes ao período pré-Tx (40 amostras), 6 meses pós-Tx (40 amostras) e 1 ano pós-Tx (12 amostras). Tal fato poderia, eventualmente, explicar a menor positividade do VHC-RNA encontrada nos receptores (45,45% pré-Tx e 50,00% aos 6 meses e em 1 ano) e doadores renais (66,66%) anti-VHC positivos pela UBI (Tabela 8) em relação à observada por outros autores.

### 6.3 - Transmissão do VHC-RNA pelo Enxerto Renal

Uma questão importante envolve a utilização de rins de doadores anti-VHC positivos, visto que a presença de anticorpos pode estar associada a viremia, com possibilidade de transmissão do VHC para o receptor através do enxerto contaminado.

A recomendação do Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos é de que todo o esforço seja feito no sentido de utilizar apenas doador anti-VHC negativo. O uso de rins de doadores anti-VHC positivos para receptores também positivos não parece diminuir o risco de infecção. Pereira e colaboradores (94, 95, 96) não atestam segurança na utilização dos órgãos de doadores anti-VHC positivos para receptores com presença do anticorpo, uma vez que existem diferentes genótipos virais e a positividade ao anti-VHC não significa necessariamente proteção contra a infecção.

Atualmente um grande número dos centros norte-americanos contra-indica a utilização de rins de doadores anti-VHC positivos (117). A constatação da existência de uma prevalência alta de doença hepática nos receptores dos doadores VHC-RNA positivos, fez com que o Banco de Órgãos da Nova Inglaterra adotasse a política de limitar o uso desses doadores apenas para Tx de órgãos que impliquem risco de vida, tais como coração, fígado ou pulmão.

A utilização de testes anti-VHC ELISA de primeira geração como *screening* pode determinar 80% de falso-positivos e, se nenhum órgão de doador anti-VHC positivo for transplantado, cerca de 10.000 DC poderão ser perdidos por ano, resultando em uma redução do número de DC equivalente à prevalência do anti-VHC na população de doadores que varia de 1% a 14%. Com a utilização de testes ELISA de segunda geração foi detectada uma prevalência de anti-VHC 30% menor quando comparada com a apontada pelos testes de primeira geração, diminuindo os falso-positivos e conseqüentes perdas de enxerto (96). Considerando que freqüentemente as doações ocorrem em horários adiantados da noite e, principalmente, pelo tempo limitado para realizar testes confirmatórios, como RIBA ou PCR, recomenda-se o emprego do teste anti-VHC ELISA de segunda geração como *screening* da hepatite C nos doadores de órgãos. Estudo recente demonstrou que essa medida causou, na Inglaterra, uma perda aproximada de 1% dos órgãos transplantáveis devido a resultados falso-positivos (139).

Até o momento permanece controverso na literatura a utilização de rins de doadores anti-VHC positivos. Ainda que vários autores concordem com a possibilidade de transmissão da hepatite C através do enxerto renal, alguns como Szmalc e colaboradores

(126) estudando doadores renais de 122 receptores, não observaram transmissão do anti-VHC pelo enxerto renal no seguimento de 6 meses pós-Tx. Uma análise de 143 doadores renais realizada por Vincenti e colaboradores (134) mostrou que embora 4 de 143 (2,80%) fossem anti-VHC positivos e todos apresentassem o VHC-RNA por PCR, nenhum deles desenvolveu hepatite no período de seguimento de 40 meses. A ausência de transmissão da hepatite C através do enxerto renal foi determinada tanto pela negatividade do anti-VHC como do VHC-RNA, sugerindo que não sejam excluídos, rotineiramente, doadores anti-VHC positivos.

No presente estudo, foi evidenciada uma prevalência do anti-VHC em 4 de 48 doadores (8,33%), sendo que 2 de 3 apresentaram o VHC-RNA por PCR. Nenhum paciente que recebeu rim desses doadores era anti-VHC positivo pré-Tx, e no tempo de seguimento de 1 ano pós-Tx não houve seroconversão, não sendo evidenciada transmissão da hepatite C pelo enxerto renal (Tabela 10). De qualquer maneira, é importante destacar que o tempo de acompanhamento destes pacientes foi curto (1 ano) e existe a possibilidade de que, com o passar dos anos, os testes venham a positivar.

Outros autores como Candinas e colaboradores (20) acreditam que a infecção pelo VHC é transmitida pelo Tx renal e que os testes ELISA de segunda geração estimam adequadamente a prevalência do VHC-RNA. Mendez e colaboradores (76), analisando 377 Tx renais, encontraram transmissão do anti-VHC pelo enxerto renal em 2 pacientes que serocoverteram para positivo aos 4 e 11 meses pós-Tx. Os autores consideram que a positividade ao anti-VHC na população de doadores de órgãos pode representar uma diminuição significativa do *pool* de doadores se os anti-VHC positivos não forem utilizados e não contra-indicam o Tx nesses casos. Já, Prados e colaboradores (105) estudaram 77 doadores de órgãos verificaram que embora seja possível a transmissão do VHC-RNA pelo enxerto contaminado, não são todos os doadores infectantes, mesmo aqueles com PCR positivos. Esse fato também é descrito em um outro registro feito por Otero e colaboradores (89) que avaliaram 45 doadores e os receptores correspondentes, aos 7 e 27 meses pós-Tx, constatando transmissão do anti-VHC pelo Tx renal, embora nem todos os receptores tenham positivado no período de 27 meses de seguimento.

Wreghitt e colaboradores (139) investigando a prevalência do anti-VHC em 554 doadores de órgãos, encontraram 6 (1,08%) positivos para anti-VHC ELISA de segunda geração e dos 15 pacientes que receberam órgãos desses doadores positivos, 14 adquiriram infecção pelo VHC. Com esses resultados, os autores sugerem que órgãos de doadores anti-VHC positivos não devem ser utilizados para Tx a menos que o receptor tenha uma doença ameaçadora da vida e exista escassez importante de doadores.

Foram avaliados por Roth e colaboradores (110,11, 112, 113), em uma série de estudos, 621 receptores renais e 484 DC com os testes anti-VHC ELISA de primeira e segunda geração e RIBA 4, encontrando-se uma baixa taxa de transmissão da hepatite C pelo Tx. Por isso, os autores sugerem que, quando a condição clínica do receptor é grave e não existem opções de melhora, o uso de órgãos de doadores anti-VHC positivos deve ser considerado. Miller e colaboradores (77) justificam o uso de doadores anti-VHC positivos devido à baixa incidência de doença hepática encontrada por eles nos receptores após o seguimento de 5 anos pós-Tx.

Aswad e colaboradores (10) ponderam que, devido à escassez de doadores de órgãos, o maior número deles deve ser utilizado, desde que isso não implique aumento de risco para os receptores. Os autores aceitam doadores anti-VHC positivos, mas aconselham sua utilização para pacientes anti-VHC positivos, em lista de espera um tempo prolongado e com dificuldades de acesso venoso ou instabilidade no tratamento dialítico. Esse mesmo grupo, em um outro registro, identificou 45 de 377 doadores anti-VHC positivos, sendo os rins transplantados em 33 receptores negativos e 16 positivos. Dois pacientes negativos pré-Tx positivaram o anti-VHC por ELISA de segunda geração aos 4 e 11 meses pós-Tx por provável contaminação pelo enxerto renal.

Uma análise dos receptores de 716 doadores cadavéricos, realizada por Pereira e colaboradores (96) mostrou uma prevalência alta de doença hepática nos receptores de órgãos de doadores anti-VHC positivos, sugerindo a possibilidade de transmissão do VHC através do enxerto renal. Praticamente todos receptores de doadores anti-VHC positivos tornaram-se

infectados com o VHC, no entanto nenhum receptor VHC-RNA negativo que recebeu rim de doador também negativo apresentou doença hepática ou positividade ao VHC-RNA pós-Tx. Esses dados confirmam que o VHC pode ser transmitido pelo Tx de órgãos. Tesi e colaboradores (128) encontraram o VHC-RNA 64% das vezes nos receptores de doadores anti-VHC positivos em algum período do pós-Tx, ficando evidente que pode ocorrer transmissão do VHC nesses receptores.

A segurança na utilização de doadores anti-VHC positivos no Tx renal, até o momento, permanece incerta, principalmente pela inabilidade dos testes anti-VHC em detectar viremia. No entanto a possibilidade de contaminação pelo VHC, mesmo nos países desenvolvidos, é maior quanto mais longo o período de permanência em HD e dependente da quantidade de transfusões realizadas. Por isso, pode-se inferir que o risco de transmissão da hepatite C pós-Tx diminui, independentemente do estado sorológico anti-VHC do doador, uma vez que são menores as necessidades de HD e transfusões nos transplantados. Em um país com escassez de DC como o nosso e alta prevalência do anti-VHC nos pacientes em HD, sugere-se que sejam aproveitados os órgãos de DC anti-VHC positivos desde que imunologicamente compatíveis.

#### 6.4 - Positividade ao Anti-VHC e HBsAg nos Receptores e Doadores Renais

Percentuais elevados de positividade ao anti-VHC são descritos em portadores do VHB. A eventual falta de especificidade dos métodos diagnósticos ou uma verdadeira superinfecção pelo VHC nos casos de pacientes com hepatite poderiam explicar esse achado.

Um estudo realizado por Baur e colaboradores (11) encontrou 27 pacientes anti-VHC positivos, dos quais 48% eram HBsAg e anti-HBc negativos e 52% eram anti-HBc positivos. Outros autores testaram os marcadores da hepatite B (HBsAg, anti-HBs e anti-HBc) nos re-

ceptores anti-VHC positivos e não encontraram correlação entre as duas infecções. A hepatite C, por si, não implicou em risco simultâneo para a B (43).

Pattovich e colaboradores (93) estudaram 109 pacientes HBsAg e HBV-DNA positivos com hepatite crônica, observando que 9 deles (8,30%) eram também anti-VHC positivos. Um outro estudo, realizado por Chan e colaboradores (23), identificou 18 receptores renais HBsAg positivos, sendo que 2 deles apresentavam, também, positividade ao anti-VHC.

Um registro feito por Vafialdis e colaboradores (131) incluindo 156 pacientes transplantados renais analisados pelos testes ELISA anti-VHC de segunda geração, HBsAg, anti-HBc e anti-HBs mostrou que 41 pacientes foram anti-VHC positivos e infecção prévia pelo VHB ficou evidente em 70,70% desses pacientes.

Cenderoglo e colaboradores (21) testaram 70 soros de 384 pacientes transplantados renais e encontraram uma positividade ao anti-VHC de 40% e ao HBsAg de 27%. O total de positividade para qualquer marcador da HVB (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc) foi de 79% e não houve correlação significativa entre a prevalência dos marcadores da HVB e o anti-VHC.

Uma outra análise mostrou positividade ao anti-VHC de 73,70% nos receptores renais HBsAg positivos e de 62,20% nos negativos. Os pacientes positivos tanto para o anti-VHC quanto para o HBsAg apresentaram uma incidência maior de hepatite crônica e cirrose hepática. Entre os receptores HBsAg negativos, a prevalência do anti-VHC foi maior naqueles com hepatite crônica do que nos sem. Tais achados demonstram que a co-infecção do VHC e VHB pode causar um curso mais agressivo da doença hepática com evolução para cirrose (60).

Cheng e colaboradores (27) pesquisaram o HBsAg, o anti-HBs, o HBeAg e o anti-HBe (Abbott), além do anti-VHC nos transplantados renais, encontrando hepatite crônica aproximadamente na metade dos casos, com aparecimento similar nos pacientes HBsAg e anti-VHC positivos. Durante 2 anos de seguimento, foram ao óbito 3 de 22 pacientes HBsAg positivos, sendo que 1 morreu por CHC, e os outros 2, por hepatite fulminante. Nenhum dos 19 pacientes anti-VHC positivos morreram durante 2 anos de seguimento, sugerindo que o curso da hepatite C pode ser mais favorável do que o da B.

Uma avaliação de 140 receptores renais realizada por Pol e colaboradores (102) identificou uma positividade de 23,60% ao anti-VHC, sendo esse achado mais freqüente nos pacientes HBsAg negativos com HCA (60,60%) do que naqueles com fígado normal (8,20%) ou mínimas alterações hepáticas (33,30%), ou com HBsAg negativo e/ou cirrose (0). O anti-VHC foi mais freqüentemente positivo nos pacientes com o VHB do que os sem o vírus, havendo uma associação significativa entre a positividade ao anti-VHC e o VHB.

No presente estudo, dos 48 receptores, 6 apresentaram positividade para o anti-VHC e o HBsAg (Abbott) pré-Tx, 10 aos 6 meses e 8 em 1 ano pós-Tx. Cinco dos 48 no período pré-Tx, 9 aos 6 meses e 11 em 1 ano foram positivos pelos testes anti-VHC e HBsAg (Behring). No período pré-Tx, 3 de 27 pacientes apresentaram positividade ao anti-HBe, aos 6 meses, 1 de 32 e em 1 ano, 1 de 26. A presença do HBeAg foi detectada em apenas 1 de 26 receptores HBsAg positivo, com co-infecção pelo VHC (Tabela 11). Os doadores renais apresentaram uma positividade ao HBsAg de 9 em 48 pelo teste da Abbott e em 2 de 48 pelo do Behring, não tendo ocorrido co-infecção com o anti-VHC em nenhum dos casos (Tabela 12).

#### 6.5 - Concentrações Séricas de AST e ALT e Estado Anti-VHC do Receptor

Uma proporção substancial dos transplantados com infecção pelo VHC tem níveis normais de ALT, embora a infecção por esse vírus seja uma das principais causas de disfunção hepática pós-Tx renal (55).

As PFH, embora necessárias para detecção da doença, nem sempre refletem a intensidade da mesma. As enzimas hepáticas podem estar pouco ou moderadamente elevadas (64). Sabe-se que a AST é uma enzima mitocondrial presente em grande quantidade no coração, fígado, músculo esquelético e rim, e que o nível sérico dessa enzima aumenta quando esses tecidos são agudamente destruídos. Já a ALT é uma enzima citosólica, também presente no fígado em uma proporção superior a no coração e no músculo esquelético. Seu aumento sérico é mais específico de lesão hepática do que a AST (122).

Apesar de o aparecimento de alterações da ALT ser comum nos pacientes com positividade ao VHC, esse teste não se mostra um marcador fidedigno de infecção. Chan e colaboradores (22) encontraram 1 paciente em cada 4 infectados pelo VHC com valores de ALT persistentemente normais, enquanto que os outros tiveram níveis apenas transitoriamente elevados (22).

Outros registros também demonstraram valores de AST e ALT dentro dos limites normais nos pacientes anti-VHC positivos, não se caracterizando como bons parâmetros diagnósticos de infecção pelo VHC (43). Ponz e colaboradores (103) verificaram prevalência elevada do anti-VHC nos pacientes transplantados sem evidência de alterações das PFH. Em outro estudo não foi encontrada correlação da positividade do VHC-RNA com as alterações das transaminases, sugerindo que a replicação viral pode ocorrer sem evidência de lesão hepática séria (95). Esses dados demonstram que pacientes anti-VHC positivos e valores normais de ALT também podem ser fontes de infecção do VHC (74).

Fernandez e colaboradores (44) analisaram 234 transplantados anti-VHC positivos e, encontraram alterações da ALT em 52 (22%), com um intervalo médio para o aparecimento de 4,5 meses, ocorrendo o primeiro aumento significativo 10,2 meses após o Tx. Outros autores como Nielsen e colaboradores (85), investigando urêmicos crônicos, em HD e transplantados, encontraram elevação das transaminases em 50% dos pacientes em diálise crônica e 50% dos receptores. Doze de 37 pacientes apresentavam alterações das PFH no momento do Tx, e mortalidade secundária à hepatite ocorreu em 13% dos casos.

Tesi e colaboradores (129) detectaram aumento dos valores da ALT nos transplantados anti-VHC positivos, mas sem significância estatística. Pacientes com PFH alteradas no Tx tenderam a permanecer com essas anormalidades pós-Tx (140). Aswad e colaboradores (10) avaliando 71 pacientes que receberam rim de doador anti-VHC positivo, encontraram alterações da ALT em 13. Desses, 4 permaneceram com disfunção (aumento da ALT mais que 2 vezes o normal em duas ou mais ocasiões) sem sintomas.

Um relato feito por Goffin e colaboradores (55) encontrou positividade para o anti-VHC em 10 de 13 pacientes HBsAg negativos com ALT elevada. De 19 pacientes anti-

VHC positivo e HBsAg negativo, 10 deles tinham níveis de ALT elevados. Fabrizzi e colaboradores (40) avaliaram 64 receptores renais, sendo que 8 deles eram infectados pelo VHB e VHC e 4 apresentavam aumento das transaminases. Chan e colaboradores (23) verificaram alterações dos níveis de ALT em 43 receptores renais. Desses, 4 eram anti-VHC positivos, 11 HBsAg positivos e 2 anti-VHC e HBsAg positivos, simultaneamente.

Um registro de Klauser e colaboradores (68) mostrou que de 324 receptores renais avaliados, apenas 4 de 43 anti-VHC positivos apresentaram PFH alteradas. Bilgin e colaboradores (13) estudaram 3 grupos de pacientes (normais, em HD e transplantados). Dos indivíduos considerados normais, nenhum deles com anti-VHC positivo teve PFH alteradas. Entretanto 4 do grupo em HD e 9 dos transplantados anti-VHC positivos apresentaram níveis de ALT elevados.

Na presente pesquisa, a análise das enzimas AST e ALT mostrou que a média dos valores da ALT menor que duas vezes o valor normal ( $< 2 N$ ), no grupo anti-VHC positivo, foi superior à do negativo. Um em 15 paciente pré-Tx e 2 em 15 aos 6 meses e 2 em 15 em 1 ano apresentaram níveis séricos de ALT maior do que duas vezes o valor normal concomitantemente com a positividade ao anti-VHC. Cinco em 15 pacientes pré-Tx, 5 em 15 aos 6 meses e 2 em 15 em 1 ano apresentaram positividade ao anti-VHC e valores de AST superiores a duas vezes o valor normal. Finalizando, o estudo aqui descrito não demonstrou significância do ponto de vista estatístico na comparação dos níveis sérico da ALT e AST com a positividade ao anti-VHC nos receptores renais nos períodos pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx, (Tabela 14).

**CONCLUSÕES**

---

## CONCLUSÕES

A avaliação prospectiva de 48 pacientes transplantados renais e seus respectivos doadores permitiu concluir o seguinte:

- 1 - A positividade ao anti-VHC nos receptores renais foi de 33,33%, e nos doadores de 8,33%.
- 2 - A prevalência do anti-VHC pré-Tx foi alta, ocorrendo em 27,50% dos pacientes pelo teste da UBI (peptídeos sintéticos) e em 25,00% e 22,92% pelos testes anti -VHC ELISA de segunda geração dos laboratórios Abbott e Behring.
- 3 - Nenhum paciente anti-VHC positivo pré-Tx seroconverteu no período de 1 ano de acompanhamento.
- 4 - Um paciente positivou pelo teste da UBI aos 6 meses, permanecendo anti-VHC positivo em 1 ano, 1 receptor positivou aos 6 meses e outro em 1 ano e 3 seroconverteram em 1 ano pós-Tx pelos testes anti-VHC ELISA da Abbott e Behring respectivamente. O total de seroconversão para anti-VHC positivo nos 3 testes foi de 2 em 48 pacientes (4,16%).
- 5 - A prevalência do VHC-RNA nos receptores com positividade ao anti-VHC pelo teste da UBI ocorreu 45,45% pré-Tx e 50,00% aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx, constatando-se persistência da replicação viral apesar da imunossupressão. De 3 doadores positivos pelo teste da UBI, foi encontrado o VHC-RNA em 2 deles (66,66%).

- 6 - Os 4 doadores anti-VHC positivos, incluído-se 2 com a presença do VHC-RNA, não transmitiram a infecção através do enxerto no período de seguimento de 1 ano.
- 7 - Não houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre a positividade ao anti-VHC e o tempo de HD pré-Tx, necessidade de HD pós-Tx e transfusões de sangue e/ou derivados na série apresentada.
- 8 - Não houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre a média dos valores séricos de AST e ALT pré-Tx, aos 6 meses e em 1 ano pós-Tx nos receptores anti-VHC positivos e negativos nos mesmos períodos.
- 9 - Dos 48 receptores renais, 6 eram anti-VHC e HBsAg (Abbott) positivos pré-Tx, 10 aos 6 meses e 8 em 1 ano. Cinco pré-Tx, 9 aos 6 meses e 8 em 1 ano apresentaram positividade tanto para o anti-VHC quanto para o HBsAg (Behring).
- 10 - A positividade para o HBeAg foi detectada em 2 receptores em 1 ano pós-Tx e para o anti-HBe em 3 pré-Tx, em 1 aos 6 meses e em 1 no período de 1 ano pós-Tx.
- 11 - Nenhum doador renal apresentou HBsAg e anti-VHC positivos simultaneamente.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - ABILDGAARD, N.; PETERSLUND, N. A. Hepatitis C Virus Transmitted by Tattooing Needle (Letter). **Lancet**, 1991; 338:460.
- 2 - AEDER, M. I.; SHIELD, C. F.; TEGTMEIER, G. E.; et al. Incidence and Clinical Impact of Hepatitis C Virus-Positive Donors in Cadaveric Transplantation. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1469-1471.
- 3 - ALBERTI, A. Diagnosis of Hepatitis C Facts and Perspectives. **J Hepatol**, 1991; 12:279-282.
- 4 - ALIVANIS, P.; DERVENIOTIS, C.; DIOUDIS, C. Hepatitis C Virus Antibodies in Hemodialysed and in Renal Transplant Patients: Correlation And Chronic Liver Disease. **Transplant Proc**, 1991; 23(5):2662-2663.
- 5 - ALTER, H.J.; PURCELL, R.H.; SHIH J.W.; et al. Detection of Antibody to Hepatitis Virus in Prospectively Followed Transfusion Recipients And Acute and Chronic NANB Hepatitis. **N Engl J Med**, 1989; 321:1494-1500.
- 6 - ALTER, M.J.; COLMAN, P.J.; ALEXANDER, W.J.; et al. Importance of Heterosexual Activity in the Transmission of Hepatitis B and Non-A, Non-B Hepatitis. **JAMA**, 1989; 1201-1205.
- 7 - ALTER, M.J.; SAMPLINER, R.E. Hepatitis C and Miles to Go Before We Sleep. **N Engl J Med**, 1989; 1538-1540.
- 8 - ANURAS, S.; PIROS, J.; BONEY, W.W.; et al. Liver Disease in Renal Transplantation Recipients. **Arch Intern Med**, 1977; 137:42-48.

- 9 - ARITA, S.; ASANO, T.; SUZUKI, T.; et al. Clinical Study of Hepatic Disorders in Renal Transplant Recipients with Special Reference to Hepatitis C. **Transplant Proc**, 1992; 24(4):1538-1540.
- 10 - ASWAD, S.; MENDEZ, R.; WEINGART, R.G.; et al. Expanding Organ Availability by Using Hepatitis C Antibody Positive Donors. **Transplant Proc**, 1993; 25:(3) 2270-2271.
- 11 - BAUR, P.; DANIEL, V.; POMER, S.; et al. Hepatitis C Virus (HCV) Antibodies in Patients After Kidney Transplantation. **Hematology**, 1991; 62:(28)68-73.
- 12 - BEDROSSIAN, J.; AKPOSSO, K.; METIVIER, F.; et al. Kidney Transplantation with HBsAg positive Donors. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1481-1482.
- 13 - BILGIN, N.; SIMSEK, H.; HABERAL, M. Prevalence of Anti-HCV Positivity in Hemodialysis and Renal Transplant Patients at our Center. **Transplant Proc**, 1993; 25(6):3161-3162.
- 14 - BITTENCOURT, Z.Z.C.; ALVES FILHO, G.; ALVES, M.A.R. Transplante Renal e Reabilitação Sócio-Profissional. Abstr. Sexto Congresso Latino-Americano de Transplantes - II Fórum Internacional de Procura de Órgãos - III Jornada Brasileira de Histocompatibilidade, 18 a 21 de setembro de 1991, Porto Alegre, RS, Brasil. nº 106.
- 15 - BRAYMAN, K.L.; STEPHANIAN, E.; MATAS, A.J. et al. Analysis of Infectious Complications Occuring after Solid-Organ Transplantation. **Arch Surg**, 1992; 127:38-48.
- 16 - BRIGGS, J.D. The Recipient of a Renal Transplant. In: Morris, P.J., ed. *Kidney Transplantation: Principles And Practice*. Philadelphia W.B. Saunders, 1988:71-92.

- 17 - BRILLANTI, S.; MASCI, C.; RICCI, P.; et al. Significance of IgM Antibody to Hepatitis C Virus in Patients with Chronic Hepatitis C. **Hepatology**, 1992;15:998-1001.
- 18 - BUSCH, M.P.; WILBER, J.C. Hepatitis C Virus Replication. **N Engl J Med**, 1992; 326(1):64-64.
- 19 - CALNE, R.Y.; WHITE, D.J.; THIRU, S.; et al. Cyclosporin A in Patients Receiving Renal Allografts from Cadaver Donors. **Lancet**, 1978; 2:1323-7.
- 20 - CANDINAS, D.; JOLLER-JEMELKA, H.I.; LARGIADER, F. Hepatitis C Virus and Organ Transplantation. **N Engl J Med**, 1993; 328(7):512.
- 21 - CENDEROGLO NETO, M.; TEDESCO JR, H.S.; PACHECO SILVA JR, A.; et al. Viral Hepatitis B and HCV Infection among Renal Transplant Patients in Brazil. **Transplant Proc**, 1992; 24(6)3087-3088.
- 22 - CHAN, T. M.; LOK, A. S. F., CHENG, I. K. P. Hepatitis C in Renal Transplant Recipients. **Transplantation**, 1991; 52:810-813.
- 23 - CHAN, P. C. K.; LOK, A. S. F.; CHENG, I. K. P.; et al. The Impact of Donor and Recipient Hepatitis B Surface Antigen Status on Liver Disease and Survival in Renal Transplant Recipients. **Transplantation**, 1992; 53(1):128-131.
- 24 - CHAPMAN, J.R.; ALLEN, R.D. Dialysis and Transplantation. In: Morris, P.J., ed. **Kidney Transplantation: Principles and Practice (Third Edition)**. Philadelphia: **W.B.Saunders**, 1988;37-69.
- 25 - CHATTERJEE, S. N.; PAYNE, J. E.; REDEKER, A. G.; et al. Successful Renal Transplantation in Patients Positive for Hepatitis B Antigen. **N Engl J Med**, 1974; 11:62-65.
- 26 - CHECK, JR. F. E.; RAVITZ, B. H.; ALEXANDER, L. C. Kidney Transplantation: Infections Complications. In: Toledo-Pereyra, L.H., ed. **Complications of Organ Transplantation**. Marcel Dekker, 1987:101-118.

- 27 - CHENG, I.K.P.; CHAN, D.T.M.; LOK, A.S.F. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1460-1462.
- 28 - CHOO, Q.L.; KUO, G.; WERNER, A.J.; et al. Isolation of a cDNA Clone Derived from a Blood-Borne Non-A, Non-B Viral Hepatitis Genome. **Science**, 1989; 359-362.
- 29 - CONLON, P.; MCNAMARA, E; SMYTH, E.; et al. Prevalence of Hepatitis C in Renal Transplant Patients. The British transplantation Society. Queens College - Cambridge -UK. 26th and 27th march, 1991. Paper 16:29.
- 30 - CONWAY, M.; CATERRAL, A.P.; BROWN, E.A.; et al. Prevalence of Antibodies to Hepatitis C in Dialysis Patients and Transplant Recipients And Possible Routes of Transmission. **Nephrol Dial Transplant**, 1992; 7:1226-1229.
- 31 - CUYPERS, H.T.M.; WINKEL, C.L.; VAN DER POEL, C.L. et al. Analysis of Genomic Variability of Hepatitis C Virus. **Journal of Hepatology**, 1991; 13(4): S15-S19.
- 32 - DANTAS, W.; DANTAS, E.B. Os Vírus da Hepatite e seus Marcadores: A Ótica do Clínico. In: Figueiredo Mendes, t.; Pitella, A.M. Ed. Recentes Avanços em Hepatologia. **Fundo Editorial Byk**, 1993:11-18.
- 33 - DEBURE, A.; DEGOS, F.; POL, S.; et al. Liver Diseases and hepatic Complications in Renal Transplant Patients. **Nephrol** 1988; 17:375-400.
- 34 - DEGOS, F.; DEGOTT,C.; BEDROSSIAN,J.; et al. Is Renal Transplantation Involved in Post-Transplantation Liver Disease? A Prospective Study. **Transplantation**, 1980; 29:100-102.
- 35 - DEGOS, F.; LUGASCY,C.; DEGOTT, C.; et al. Hepatitis B Virus in Renal Transplant Recipients. A Prospective Study of 90 Patients. **Gastroenterol**, 1988; 94(1):151-156.

- 36 - DODD, R.Y. Hepatitis C Virus, Antibodies, and Infectivity. Paradox, Pragmatism, and Policy. **Am J Clin Pathol**, 1992; 97:4-6.
- 37 - DUSHEIKO, G.M.; RIZZETO, M. **The Management of Chronic Hepatitis C.** Synopses in Viral Hepatitis. Adelphi Communications Ltd, 1992;2-15
- 38 - ESTEBAN, J.I.; ESTEBAN,R.; VILADOMIU, L.; et al. Hepatitis C Virus Antibodies among Risk Groups in Spain. **Lancet**, 1989; 294-297.
- 39 - EVANS, R.W.; MANNINEN, D.L.; GARRISON, L.P.; et al. The Quality of Life of Patients with End Stage Renal Disease. **N Engl J Med**, 1985;312:553-9.
- 40 - FABRIZI, F.; MARAI,P.; DI FILIPO,Š.; et al. Hepatitis C Virus Infection in Kidney Graft Recipients. **Nephrol Dial Transplant**, 1992; Letters:1164-1165.
- 41 - FARCI, P.; ALTER, H.J.; WONG, D.; et al. Hepatitis C Virus Replication. **N Engl J Med**, 1992;326(1):65-66.
- 42 - FARES, J.A.; PANNUTTI, C.; MACHADO, C.M.; et al. Estudo Prospectivo de Infecção por Citomegalovírus em Transplante Renal. III Congresso Brasileiro da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos e II Encontro de Enfermagem para Transplantes. 03 a 06 de dezembro de 1992; São Paulo. Abstr. N°08.
- 43 - FEINMAN, S.V.; BERRIS, B.; HERST, R. Anti-HCV in Post-Transfusion Hepatitis: Deductions from a Prospective Study. **Journal of Hepatol**, 1991; 12:377-381.
- 44 - FERNANDEZ, J.A.; ROTH, D.; BURKE, G.; et al. Detection of Antibody to Hepatitis C Virus in Renal Transplant Recipient. **Transplant Proc**, 1991; 23:444-445.
- 45 - FIGUEIREDO MENDES, T. Cinco Anos do Vírus C. Moderna Hepatologia. Boletim do Serviço de Hepatologia da Santa Casa do RJ, 1994; 21(1):1-4.
- 46 - FIGUEIREDO MENDES, T.; PITELLA, A.M.; MÉXAS, P.P.F. Hepatite Crônica. Ed Figueiredo Mendes, T; Pitella, A.M. Recentes Avanços em Hepatologia. **Fundo Editorial Byk**, 1993:131-158.

- 47 - FONSECA, J.A.; IANHEZ, L.E.; SALDANHA, L.B. et al. Análise de 103 Óbitos de Pacientes Transplantados de Rim com Dados de Necrópsia. III Congresso da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos e II Encontro de Enfermagem para Transplante. 03 a 06 de dezembro de 1992, São Paulo. Abstr. Nº 045.
- 48 - FRITSCHÉ, C.; BRANDES, J.C.; DELANEY, S.R.; et al. Hepatitis C is a Poor Prognostic Indicator in Black Kidney Transplant Recipients. **Transplantation**, 1993; 55(6):1283-1287.
- 49 - GAGNADOUX, M.F.; GUEST, G.; RONSSE-NUSSENZVEIG, P.; et al. Long-Term Outcome of Hepatitis B after Renal Transplantation during Childhood. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1454-1455.
- 50 - GALIZZI Fº, j.; ANDRADE, M.O. Hepatite Viral Aguda. In: Figueiredo Mendes, T.; Pitello, A.M. Ed. Recentes Avanços em Hepatologia. **Fundo Editorial Byk**, 1993:31-53.
- 51 - GARCIA, V.D.; BITTAR, A.E.; GOLDANI, J.C. Transplante Renal: Seleção do Receptor e do Doador. **Revista Médica da Santa Casa**, 1990;1(2):164-169.
- 52 - GARSON, J.A.; TEDDER, R.S.; BRIGGS, M.; et al. Detection of Hepatitis C Virus Sequences in Blood Donation by "Nested" Polymerase Chain Reaction and Prediction of Infectivity. **Lancet**, 1990, 335:1-3.
- 53 - GERDES, J.C.; SPEES, E.K.; FITTING, K; et al. Prospective Study Utilizing a Quantitative Polymerase Chain reaction for detection of Cytomegalovirus DNA in the Blood of Renal Transplant Patients. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1411-13.
- 54 - GIBSON, T.; MEDAWER, P.B. The Fate of Skin Homografts in Man. **J Anat** 1943; 77:299-309.
- 55 - GOFFIN, E.; PIRSON, Y.; CORNU, C. et al. Outcome of HCV Infection after Renal Transplantation. **Kidney Int**, 1994; 45:551-55.

- 56 - GRUPO DE ESTUDO DO REGISTRO BRASILEIRO DE TRANSPLANTE RENAL DO SIPAC-RIM. Sobrevida de Cinco Anos de 5.504 Receptores de Transplante Renal no Brasil: Dados do SIIPAC-RIM. **J. Bras. Nefrol.** 1994;16(1):30-36.
- 57 - GUIDELINES AND INFORMATION FOR ORGAN DONATION. Addenbrookes and Papworth Hospital, Cambridge - UK; 1989.
- 58 - GUTMAN, R.A.; DAVISON, N.W.; Rehabilitation of Patients And Renal Failure - Problems and Possibilities. In: Nissenson, A.R.; Fine, r.n.; Gentile, D.E. ed. **Clinical Dialysis.** Norwalk: Appleton-Century-Crofts, 1984;705-14.
- 59 - HAYASHI, J.; NAKASHIMA, K; KAJIYAMA, W.; et al. Prevalence of Antibody to Hepatitis C Virus in Hemodialysis Patients. **Am. J. Epidem.**, 1991; 134:651-657.
- 60 - HUANG, C-C.; LIAW, Y-F.; LAI, M-K.; et al. The Clinical Outcome of Hepatitis C Virus Antibody-Positive Renal Allograft Recipients. **Transplantation**, 1992; 53(4):763-765.
- 61 - HUANG, C.-C.; LAI, M.-K.; LIN, M.-W.; et al. Transmission of Hepatitis C Virus by Renal Transplantation. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1474-1475.
- 62 - IANHEZ, L.E. Transplante Renal no Brasil: História, Evolução e Problemas Atuais. **J Brasil Nefrol**, 1994;16(1):5-16.
- 63 - IHARA, H.; IKOMA, F. Influence of Anti-Hepatitis C Virus Antibody on Kidney Transplant Survival in a Single Japanese center. **Lancet.** Letters to Editor, 1994; 3:781.
- 64 - IRELAND, P.; RASHID, A.; LICHTENBERG, F.V.; et al. Liver Disease in Kidney Transplant Patients Receiving Azathioprine. **Arch. Intern. Med.**, 1973; 132:29-37.
- 65 - JABUR, A.; CARRILHO, F.J.; BALDY, J.L.; et al. **Prevalence of Anti-HCV in Patients with Chronic Renal Failure Submitted to Dialysis (CRF-D) in Londrina - Paraná.** XI Congresso Nacional de Hepatologia, na cidade de Foz do Iguaçu, Paraná, em 1991.

- 66 - KEOWN, P.A.; STILLER, C.R. Renal Transplantation. In: **Surgical Clinics of North America: Organ Transplantation**. W.B. Saunders Company, 1986:3-531-554.
- 67 - KIM, Y.S.; KIM, S.I.; SUH, J.S.; et al. Renal Transplantation is not Contraindicated in Hepatitis B Surface Antigen Positive Patients. **Transplant Proc**, 1992; 24(4):1541-1542.
- 68 - KLAUSER, R.; FRANZ, M.; TRAINDL, O.; et al. Hepatitis C Antibody in Renal Transplant Patients. **Transplant Proc**, 1992; 24(1):286-288.
- 69 - KOFF, R.S.; GALAMBOS, J.T. Viral Hepatitis. In: Schiff, L.; Schiff, E.R. Ed. **Diseases of the Liver**. Sixth Edition. Philadelphia. J.B. Lippincott Company, 1987; 457-582.
- 70 - KUO, G.; CHOO, Q.L.; ALTER, H.J.; et al. An Assay for Circulating Antibodies to a Major Etiologic Virus of Human Non-A, Non-B Hepatitis. **Science**, 1989; 362-364.
- 71 - LANDRENEAU, M.D.; DEVAULT, G.A.; ROHR, M.S.; et al. Transmission of Hepatitis B by Renal Transplantation Despite Active Immunization with Hepatitis B Vaccine. **Clin Transplantation**, 1988; 2:265-269.
- 72 - LAU J.Y.N.; DAVIS, G.L.; BRUNSON, M.E.; et al. Hepatitis C Virus Infection in Kidney Transplant Recipients. **Hepatology**, 1993;18:1027-1031.
- 73 - LEE, S.D.; TSAI, J.T.; HWANG, S.J.; et al. A Prospective Study of Post-Transfusion non-A non-B (Type C) Hepatitis Following Cardiovascular Surgery in Taiwan. **J Med Virol**, 1991; 33:188-192.
- 74 - LIN, H-H.; HUANG, C-C.; SHEEN, I-S.; et al. Prevalence of Antibodies to Hepatitis C Virus in the Hemodialysis Unit. **Am J Nephrol**, 1991; 11:192-194.
- 75 - MAGRIN, S.; CRAXI, A.; FABIANO, C.; et al. Hepatitis C Viremia in Chronic Liver Disease. Relationship to Interferon - Alfa or Corticosteroid Treatment. **Hepatology** 19:273-279, 1994.

- 76 - MENDEZ, R.; ASWAD, S.; BOGAARD, T.; et al. Donor Hepatitis C Antibody Virus Testing In Renal Transplantation. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1487-1490.
- 77 - MILLER, J.; ROTH, D.; SCHIFF, E.R. Hepatitis C Virus and Organ Transplantation. **N Engl J Med**, 1993;328(&):512.
- 78 - MORALES, J.M.; MUNOZ, M.A.; CASTELLANO,G.; et al. Impact of Hepatitis C in Long-Functioning Renal Transplants: A Clinicopathological Follow-Up. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1450-1453.
- 79 - MORALES, J.M.; ANDRÉS, A. Hepatitis C Virus and Organ Transplantation. **N Engl J Med**, 1993; 328(7):511.
- 80 - MORRIS, P.J. Cyclosporine. In:Morris,P.J., ed. **Kidney Transplantation: Principles And Practice. Philadelphia W.B. Saunders**, 1988;285-317.
- 81 - MORRIS, P. J. Results of Renal Transplantation. In: Morris, P. J., ed. **Kidney Transplantation: Principles and Practice. Philadelphia W.B. Saunders**, 1988;737-58.
- 82 - MOZES, M. F.; ASCHER, N. L.; BALFOUR, J. R.; et al. Jaundice after Renal Allotransplantation. **Ann Surg**, 1978; 188, 6:783-790.
- 83 - MURRAY, J.E.; MERRIL, J.P.; HARRISON, J.H. Renal Homotransplantation in Identical Twins. **Surgery Forum**, 1955; 6:432-6.
- 84 - MURRAY, J.E.; TILNEY, N.L.; WILSON, R.E. Renal Transplantation: a Twenty-Five Year Experience. **Ann Surg**, 1976; 184:565-73.
- 85 - NIELSEN, V.; CLAUSEN, E.; RANEK, L. Liver Impairment During Chronic Hemodialysis and after Renal Transplantation. **Acta Med. Scand.**, 1975; 197:229-234.

- 86 - NISHIGUCHI, S.; KURUKI, T.; FUKUDA, K. Vertical Transmission of Hepatitis C Virus (HCV) Confirming by Partial Sequencing of the HCV Genome in Mothers and Children (Abst). **Hepatology**, 1992;16:577.
- 87 - OLIVERAS, A.; LIOVERAS, J.; PUIG, J.M.; et al. Hepatitis C Virus in Renal Transplantation. **Transplant Proc**, 1991; 23(5):2636-2637.
- 88 - OSHITA, M.; HAYASHI, N.; KASAHARA, A.; et al. Intrafamilial Transmission of Hepatitis C Virus (Abst.) **Hepatology**, 1992;16:581.
- 89 - OTERO, J.; RODRIGUEZ, M.; ESCUDERO, D.; et al. Kidney Transplant with Positive Anti-Hepatitis C Virus Donors. **Transplantation**, 1990; 50(6):1086-1087.
- 90 - OVERBY, L.R. Hepatitis C: Looking at a Virus that hasn't been seen. **Gut**, 1993; supplement: S6-S9.
- 91 - PANAJOTOPOULOS, N.; IANHEZ, L.E.; MARIN, N.; et al. O Doador de Rim Vivo Não Parente. III Congresso da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos e II Encontro de Enfermagem Para Transplantes; 03 a 06 de dezembro de 1992, São Paulo. Abstr. nº 062.
- 92 - PARANÁ, R.; SILVA, L.; MOTA, E.; et al. Prevalência de Anti-VHC na Bahia: População Urbana X Rural. 12º Congresso Brasileiro de Hepatologia, Salvador-BA, 22 a 25 de setembro de 1993. Abstr. nº 105.
- 93 - PATTOVICH; JAGGER; BROLLO; et al. Liver Disease in Anti-Hbe Positive Chronic HbsAg Carriers and Hepatitis C Virus. **Lancet**, 1989; 787-796.
- 94 - PEREIRA, B.J.G.; MILFORD, E.L.; KIRKMAN, R.L.; et al. Transmission of Hepatitis C Virus by Organ Transplantation. **N Engl J Med**, 1991; 325, 7:454-460.
- 95 - PEREIRA, B.J.G.; MILFORD, E.L.; KIRKMAN, R. L.; et al. Prevalence of Hepatitis C Virus RNA in Organ Donors Positive for Hepatitis C Antibody and in the Recipients of Their Organs. **N Engl J Med**, 1992; 327(13):910-915.

- 96 - PEREIRA, B.J.G.; MILFORD, E.L.; KIRKMAN, R.L.; et al. Liver Disease and HCV Infection after Transplantation of Organs from Hepatitis C Antibody Positive Donors. **Transpl Proc**, 1993; 25(1):1458-1459.
- 97 - PEREIRA JR, V.G.; SANTOS,R.D.; IANHEZ, L.E.; et al. Prevalência da Hepatite C em Pacientes Portadores de Hepatopatia Pós-Transplante Renal. Sexto Congresso Latino-Americano de Transplantes - II Fórum Internacional de Procura de Órgãos - II Jornada Brasileira de Histocompatibilidade. 18 a 21 de setembro de 1991, Porto Alegre - RS - Brasil. Abstr. nº 099.
- 98 - PEREIRA, L.M.M.B.; SALEH, M.G.; TIBBS, C.J.; et al. Genotipo do Vírus da Hepatite C no Brasil. 12º Congresso Brasileiro de Hepatologia, Salvador-BA, 22 a 25 de setembro de 1993. Abstr. nº 09.
- 99 - PEREZ, R.M.; NOGUEIRA, M.; SOARES, J.A.S.; et al. Perfil dos Doadores de Sangue com Anticorpo Contra o Vírus C da Hepatite. 12º Congresso Brasileiro de Hepatologia, Salvador-BA, 22 a 25 de setembro de 1993. Abstr. nº 83.
- 100 - PIEN, F.D.; SMITH, T.F.; ANDERSON, C.F.; et al. Herpes Viruses in Renal Transplant Patients. **Transplantation**, 1973; 16:489-495.
- 101 - POL, S.; LEGENDRE, C.; SALTIEL,C.; et al. Hepatitis C Virus in Kidney Recipients. Epidemiology and Impact on Renal Transplantation. **J Hepatol**, 1992; 15:202-206.
- 102 - POL, S.; SALTIEL, C.; LEGENDRE, C.; et al. Efficacy of Adenine arabinoside 5"-Monophosphate in Kidney Recipient with Chronic Active Hepatitis B: A Pilot Study. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1446-49.
- 103 - PONZ, E.; CAMPISTOL, J.M.; BRUGUERA, M.; et al. Hepatitis C Virus Infection among Kidney Transplant Recipients. **Kidney Int**, 1991; 40:748-151.

- 104 - PONZ, E.; CAMPISTOL, J.M.; BARRERA, J.M.; et al. Hepatitis C Virus Antibodies in Patients on Hemodialysis and after Kidney Transplantation. **Transplant Proc**, 1991, 23:1371-1372.
- 105 - PRADOS, M.C.; FRANCO, A.; PERDIGUERO, M.; et al. Transmission And Hepatitis C Virus By Kidney Transplantation. **Transplant Proc**, 1992; 24(6):2650-2651.
- 106 - RANJAN, D.; BURKE, G.; ESQUENAZI, V.; et al. Factors Affecting the Ten-Year Outcome of Human Renal Allografts. **Transplantation**, 1991;
- 107 - RAO, K.V.; KASISKE, B.L. Variability in the Morphological Spectrum and Clinical Outcome of Chronic Liver Disease in Hepatitis B Positive and B Negative Renal Transplant Recipients. **Transplantation**, 1991; 51:391-96.
- 108 - REIS, M.A.; COSTA, R.S.; FERRAZ, A.S. Causas de Morte em Transplantado Renal: Análise de 102 Necrópsias no Período de 1968 a 1991. II Congresso da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos e II Encontro de Enfermagem Para Transplantes. 03 a 06 de dezembro de 1992, São Paulo. Abstr. nº 046.
- 109 - ROCK, R.C.; WALKER, W.G.; JENNINGS, C.D. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: Tietz N, ed. **Textbook of Clinical Chemistry**. Philadelphia: W.B.Saunders 1986; 1254-1316.
- 110 - ROTH, D.; FERNANDEZ, J.A.; BURKE, G.W; et al. Detection of Antibody to Hepatitis C Virus in Renal Transplant Recipients. **Transplantation**, 1991; 51:396-400.
- 111 - ROTH, D.; FERNANDEZ, J.A.; BABISCHKIN, S.; et al. Detection of Hepatitis C Virus Infection Among Cadaver Organ Donors: Evidence For Low Transmission of Disease. **Ann Int Med**, 1992; 11(6):470-475.

- 112 - ROTH, D.; FERNANDEZ, J.A.; BABISCHKIN, S.; et al. Transmission of Hepatitis C Virus with Solid Organ Transplantation: Incidence and Clinical Significance. **Transplant Proc**, 1993;25(1):1476-1477.
- 113 - ROTH,D.; ZUCKER, K.; CIROCCO, R. et al. The Impact of Hepatitis C Virus Infection on Renal Allograft Recipients. **Kidney Int**, 1994, 45:238-244.
- 114 - RUBIN, H.R. Infections Disease Problems. In: Transplantation of the Liver. Ed by Maddrey, W.C. **Elsevier**, 1989:279-308.
- 115 - SANTANA, G.; COTRIM, H.; PARANÁ, R. et al. Vírus da Hepatite C em Unidades de Hemodiálise em Salvador-BA. 12º congresso Brasileiro de Hepatologia, Salvador-BA, 22 a 25 de setembro, 1993. Abstr. nº 89.
- 116 - SANTIAGO-DELPIN, E.A. Transplantation in Latin America. **Transplant Proc**, 1991; 2(23):1855-1860.
- 117 - SCHWEITZER, E.J.; BARLETT, S.T.; KEAY, S.; et al. Impact of Hepatitis B or C Infection on the Practice of Kidney Transplantation in the United States. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1456-1457.
- 118 - SESSO, R.; ANCAO, M.; MELARAGNO, C.; et al. Transplantes Renais no Brasil: Melhora a Sobrevida? Abstr. III Congresso da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos e II Encontro de Enfermagem para Transplantes, 3 a 6 de dezembro de 1992; nº 039.
- 119 - SETTE JR, H. **Hepatite Aguda**. Suplemento do XVIII Curso Anual sobre Hepatite. Moderna Hepatologia. Boletim do Serviço de Hepatologia da Santa Casa do RJ, 1993; 21(2):14-15.
- 120 - SHERLOCK, S.; DUSCHEIKOG. Hepatitis C Virus Update. **Gut**, 1991; 32:965-67.
- 121 - SHERLOCK, S. Viral Hepatitis. **Lancet**, 1992;339:802.

- 122 - SHERLOCK, S.; DOOLEY, J. Viral Hepatitis. Ed Disease of the Liver and Biliary Sistem. Ninth Edition. **Blackwell Scientific Publications**, 1993:260-292.
- 123 - SHONS, A.R.; SIMMONS, R.L.; KJEILSTRAND, C.M.; et al. Renal Transplantation in Patients with Australia Antigenemia. **Am J Surg**, 1974; 128:699-701.
- 124 - SOIFER, B. E.; GELB, A. W. The Multiple Organ Donor: Identification and Management. **Ann Int Med**, 1989; 10(110):814-823.
- 125 - SOPKO, J.; ANURAS, S. Liver Disease in Renal Transplant Recipients. **Am J Med**, 1978; 64:139-146.
- 126 - SZMALC, F. S.; HUBBELL, C.; TICE, D. G. Incidence of Hepatitis C in Organ Donors and Renal Transplant Recipients. **Transplant Proc**, 1993; 25(4):2677.
- 127 - TAKADA, N.; TAKASE, S.; TAKADA, A.; HCV Genotypes in Different Countries (Letter). **Lancet**, 1992; 339:808.
- 128 - TESI, R.J.; WALLER, M.K.; MORGAN, C.J.; et al. Use of Low-Risk HCV-Positive Donors for Kidney Transplantation. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1472-1473.
- 129 - TESI, R.J.; WALLER, K.; MORGAN, C.J.; et al. Transmission of Hepatitis C by Kidney Transplantation - The Risks. **Transplantation**, 1994; 57(6):826-831.
- 130 - TIBBS, C.J.; PALMER, S.J.; COKER, R.; et al. Prevalence of Hepatitis C in a Tropical Communities: Importance of confirmatory assays. **J Med Virol**, 1991; 34:143-147.
- 131 - VAFIADIS, I.; BOLETIS, J.; PAPASTATHI, H.; et al. Hepatitis C Virus Infection among Greek Renal Transplant Patients. **Gut**, 1993; supplement:S57-S58.
- 132 - VALERI, M.; PISANI, F.; DE PAOLIS, P.; et al. Hepatitis C Virus Infection in Kidney Transplant Recipients. **Transplant Proc**, 1993; 25:(3)2284-2285.
- 133 - VAN DER POEL, C.L.; REESINK, H.W.; LELIE, P.N.; et al. Anti-Hepatitis C Antibodies and Non-A, Non-B Post-Transfusion Hepatitis in the Netherlands. **Lancet**, 1989; 297-298.

- 134 - VICENTI, F.; LAKE, J.; WRIGHT, T.; et al. Nontransmission of Hepatitis C Form Cadaver Kidney Donors to Transplant Recipients. **Transplantation**, 1993; 55:(3) 674-675.
- 135 - WENDEL, S.; LUZZI, J.R.; RUSSO, C. Pesquisa de Anti-HBc em Doadores de Sangue em São Paulo: Deverá este Teste ser Adotado pelo Brasil? **Rev Paul Med**, 1991; 109(2):77-83.
- 136 - WOOD, R. Pre-Transplant Assessment. In: Wood, R., ed. Renal Transplantation. **Bailliere Tindall**, 1983; 66-72.
- 137 - \_\_\_\_\_. Live-Donor Transplantation. In: Wood, R. ed. Renal Transplantation. **Bailliere Tindall**, 1983;73-76.
- 138 - \_\_\_\_\_. Complications of Transplantation. In: Wood, R. ed. Renal Transplantation. **Bailliere Tindall**, 1983:114-143.
- 139 - WREGHITT, T.G.; GRAY, J.J.; ALLAIN, J.P.; et al. Transmission of Hepatitis C Virus by Organ Transplantation in The United Kingdom. **J Hepatol**, 1994, 20: 768-772.
- 140 - YNARES, C.; JOHNSON, H.K.; KERLIN, T.; et al. Impact of Pretransplant Hepatitis C Antibody Status upon Long-Term Patient and Renal Allograft Survival - A 5 - and 10 - Year Follow-Up. **Transplant Proc**, 1993; 25(1):1466-68.
- 141 - YOSHIDA, C. F. T.; TAKAHASHI, Y.; VANDERBORGHT, B. O. M.; et al. Antibodies Against Non-Structural C 100-3 and Structural Core Antigen of Hepatitis C Virus in Hemodialysis Patients. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, 35(4):315-321, 1993.
- 142 - YOSHIKA, K.; KAKUMU, S.; WAKITA, T.; et al. Detection of Hepatitis C Virus by Polimerase Chain Reaction and Response to Interferon-alfa Therapy: Relationship to Genotypes of Hepatitis C Virus. **Hepatology**, 1992; 16:293-299.

**ANEXOS**

---

**FACULDADE DE MEDICINA**  
UFRGS HCPA  
**BIBLIOTECA**

## ANEXO 1

### TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PACIENTES

A Hepatite C é uma doença grave que pode evoluir para cirrose. Ao ser submetido ao transplante renal o Sr. ou a Sra. está sujeito ao risco de ser contaminado pelo vírus C. Um grande número de pacientes já é portador da doença antes de ser transplantado, geralmente por contaminação na hemodiálise. Através de um exame de sangue pode-se saber se o Sr. ou a Sra. está contaminado ou não. Para isto será necessário retirar 5ml de sangue para exame no período transoperatório, aos 6m e em 1 ano pós-operatório.

A sua participação neste estudo poderá beneficiar a si ou a outras pessoas, possibilitando-nos descobrir mais a respeito desta doença. Eu, \_\_\_\_\_, fui informado (a) dos objetivos especificados acima e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento, no qual estarei envolvido (a), dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que novas informações, obtidas durante o estudo, me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa, face a estas informações.

A profissional \_\_\_\_\_ certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Fui informado (a) que caso existam danos à minha saúde, causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que, caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Assinatura do paciente: \_\_\_\_\_

Assinatura do investigador: \_\_\_\_\_

Assinatura do Orientador: \_\_\_\_\_

**AVALIAÇÃO SOROLÓGICA - ANTI-VHC**

1 - UBI HCV EIA - UNITED BIOMEDICAL INCORPORATION - NEW YORK, USA

a) Procedimento para realização do teste:

- Foram adicionados 200 µl de componente branco (fosfato com solução salina contendo surfactante, soro de ovino tratado e preservativos), de controles e de diluente, em cada cavidade na placa de reação;

- O componente branco (220 µl em duplicata) e controles, também em duplicata, não reagente, fracamente reagente e fortemente reagente (220 µl de cada), foram colocados diretamente na placa de diluição.

- 15 µl da amostra e 300 µl de diluente foram adicionados na placa de diluição;

- 200 µl de componente branco, controles e amostras foram diluídos em cada cavidade da placa de diluição e transferidos à cavidade correspondente na placa de reação, cobrindo-se as amostras com adesivo e incubando-as durante  $15 \pm 1$  min na temperatura de  $37 \pm 2$  °C;

- As placas de reação foram lavadas com diluente, secando-as com papel absorvente ;

- 100 µl de solução conjugada (1:101) foram colocadas em cada cavidade da placa de reação, cobrindo a mesma com selo e incubando-a à  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante  $15 \pm 1$  min;

- As placas de reação eram lavadas e secas novamente, adicionando-se 100 µl de solução de substrato em cada amostra, as quais eram tapadas e incubadas durante 15 minutos a  $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ;

- 100 µl de solução de ácido sulfúrico diluído (*stop solution*) eram adicionadas em cada amostra, misturando suavemente e aguardando em torno de 1 hora para a leitura da absorção no espectrofotômetro a  $492 \pm 2$  nanômetros (nm).

Todos os valores de absorção para os controles positivos e negativos bem como o soro do paciente a ser testado eram subtraídos por um valor baixo de absorção de dois componentes brancos antes da interpretação dos resultados. A presença ou ausência de anticorpos específicos para o VHC foi determinada pela absorção do soro relacionada ao valor de *cut-off*. Para que o resultado do teste tivesse validade, a diferença de absorção entre a média dos controles fortemente reagentes (CFR) e a dos controles não reagentes (CNR) deveria ser maior ou igual a 0,400.

#### b) Cálculo dos resultados:

- Determinou-se valor da média dos controles não reagentes. Um valor individual de um CNR deveria ser menor ou igual 0,100 unidades de absorção e estar dentro de uma faixa 0,5 à 1,5 vez o valor da média dos CNR;

- O valor da média dos CFR também foi calculado, sendo que o valor de absorção individual deveria ser maior que 0,40 e menor do que 2.00 unidades, ficando dentro de uma faixa de 0,5 à 1,5 vez o valor da média do CFR;

- Com os resultados dos cálculos acima era obtida a diferença entre os CFR e CNR (CFR - CNR). Esse valor deveria ser maior ou igual a 0,400 para não haver suspeita da validade do teste, seja por erro técnico ou deterioração dos reagentes. Nesses casos foi necessário repetir o teste;

- O valor da média dos controles fracamente reagentes era calculado, determinando um aumento do nível de confiança para a positividade do teste.

- O valor do *cut-off* era calculado como:  $cut-off = 0.15 \times CFR$ .

Pelos critérios da UBI HCV EIA, as amostras de soro com valor de absorção menor do que o *cut-off* foram consideradas não reagentes ou negativas quanto à presença do anti-VHC.

Quando os valores de absorção eram maior ou igual aos do *cut-off*, as amostras eram consideradas inicialmente reagentes. Nesse caso, os soros em duplicata antes do resultado definitivo eram testados. Amostras não reagentes no reteste foram consideradas como negativas para o anti-VHC. Aquelas com resultados reagentes, em ambos os testes, foram consideradas positivas (Anexo 5 e 8).

## 2 - ABBOTT HCV EIA SEGUNDA GERAÇÃO:

### a) Princípio do procedimento:

O soro de cada paciente era diluído e incubado em uma pérola de poliestireno recoberta com antígeno recombinante do VHC. Quando na amostra existia anticorpo, as imunoglobulinas ligaram-se à pérola. Depois de serem eliminadas as proteínas que não se ligaram às pérolas, eram detectadas as imunoglobulinas humanas ligadas na fase sólida, incubando o complexo pérola-antígeno-anticorpo com uma solução que continha anticorpo de cabra direcionado contra as imunoglobulinas humanas marcadas com peroxidase. Após era eliminado o conjugado enzimático não ligado, através da lavagem das pérolas. Uma solução de ortofenilenediamina (OPD) que contém peróxido de hidrogênio era adicionada e incubada. Com isto, ocorria o aparecimento de uma cor amarelo-alaranjada quando o anticorpo estava presente na amostra, sendo a intensidade da cor diretamente proporcional à quantidade de anti-VHC unido à pérola.

Foram dosadas 144 amostras de pacientes receptores renais e 48 de seus respectivos doadores, num total de 192 testes, sendo todos confirmados com retestes, procedendo-se da seguinte forma:

a - Primeira incubação:

- Eram retirados do *freezer* o soro dos pacientes em estudo, para descongelar e, após a diluição dos soros e dos controles, 10 µl de cada amostra (soro) e controles eram colocados em tubo de ensaio individual;

- 400 µl de diluente (tampão TRIS, Triton X-100 a 0,2%, lisado de *E. coli*/CKS, extrato de levedura/SOD, soro bovino e de cabra com concentração mínima de 1%) eram adicionados às amostras, misturando-os, suavemente, por agitação;

- 200 µl de cada amostra ou controle diluído (3 negativos e 3 positivos) eram transferidos para a cavidade correspondente da placa de reação. Era colocada uma pérola em cada cavidade com a amostra ou controles e coberta com fita adesiva. A placa era agitada suavemente para que o líquido cobrisse as pérolas e fossem eliminadas as bolhas de ar;

- As amostras eram incubadas, em banho-maria, a  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 1 hora  $\pm$  5 min e removidos os selos de cobertura, aspirando-se todo o líquido do tubo e lavando-se cada pérola com um volume de 11 a 18 ml de água destilada ou deionizada.

b - Segunda incubação:

- 200 µl de conjugado diluído a 5% eram pipetados em cada cavidade da placa que continha uma pérola;

- Uma fita adesiva nova era colocada, agitando-se suavemente a placa e incubando-a novamente, em banho-maria, a  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  durante  $30 \pm 2$  min;

- Retirava-se cuidadosamente a fita adesiva e aspirava-se o líquido, lavando-se cada pérola como na primeira incubação.

c - Coloração:

- Procedia-se a reação da cor, transferindo-se as pérolas para tubos de ensaio devidamente identificados;

- 300  $\mu$ l de solução de substrato OPD, preparados na hora, eram pipetados em dois tubos vazios e em cada tubo contendo a pérola;

- Colocava-se nova fita adesiva, e incubava-se as amostras à temperatura ambiente durante  $30 \pm 2$  min;

- Adicionava-se 1ml de ácido sulfúrico 1N em cada tubo para suspender a reação;

- A leitura era realizada em um aparelho Abbott Quantum II que faz automaticamente todos os cálculos de *cutt-off* e densidade óptica (comprimento de onda = 492nm).

b) Cálculo dos resultados:

A presença ou ausência de anticorpos contra o VHC era determinada comparando-se a absorção da amostra com um valor *cutt-off* limite (valor limite =  $NCx + (0.25)PCx$ ). Esse cálculo era realizado de acordo com a absorção da média dos controles negativos (NCx) mais 0.25 vezes a média da absorção do controle positivo (PCx).

O ensaio foi considerado válido quando a diferença entre a PCx e NCx foi igual ou maior que 0,400, caso contrário, suspeitava-se de falha técnica ou decomposição dos reativos e repetia-se o ensaio.

As amostras com valores de absorção iguais ou maiores que 0,005 mas inferiores ao valor limite determinado (*cutt-off*) foram consideradas negativas ou não reagentes.

As amostras com valores de absorção iguais ou superiores ao *cutt-off* foram consideradas positivas ou reagentes (Anexos 6 e 8).

a) Princípio do procedimento:

- Os reagentes e amostras eram deixados em uma temperatura de 18 °C a 25 °C antes do início das dosagens;

- As placas de testes eram lavadas duas vezes com aproximadamente 0,3ml de solução de lavagem (20 ml de solução de peroxidase - POD com 400 ml de água destilada ou desmineralizada) e 50 µl de amostra de tampão (Tris - 97 g/l e cloreto de sódio - 67 g/l) eram colocadas dentro de cada cavidade da placa;

- 50 µl de amostras de controle negativo eram pipetados em 4 cavidades, e 50 µl de controle positivo, em 2, preenchendo-se as demais com 50 µl de amostras não diluídas. A placa era coberta com fita adesiva e colocada na incubadora a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $30 \pm 2$  min. Imediatamente após, era lavada cinco vezes com aproximadamente 0,3 ml de solução de lavagem;

- Cada cavidade da placa com amostra era preenchida com 100 µl de solução de conjugado (anti-IGg humano/POD (anti-VHC), fragmento Fab (específico da cadeia Y) de um anticorpo de coelho conjugado com peroxidase e cloreto de sódio (67 g/l), sendo coberta com novo adesivo e colocada novamente para incubação;

- As amostras eram incubadas à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $30 \pm 2$  min, lavando-as, após, como descrito acima;

- 100 µl de solução de cromogênio (1 ml de cromogênio TMB - di-hidrocloridrato de tetrametilbenzidina (5g/l), 10 ml de tampão/substrato TMB, peróxido de hidrogênio (0,1 g/l) em solução tampão de acetato (25 mmol/l) - conservante N-butanol (5g/l) eram colocados em cada cavidade. A placa era coberta e incubada durante 1 hora, entre 18 °C e 25 °C durante  $30 \pm 2$  min, protegida da luz;

- Os adesivos de cobertura eram retirados e adicionavam-se 100  $\mu$ l de solução *stopping* POD com ácido sulfúrico 0,5 N;

- A leitura fotométrica era realizada a 450 nm após 1 hora, no máximo, obtendo-se o resultado do teste.

b) Cálculo dos resultados:

Os valores limites do *cutt-off* eram obtidos mediante a soma da média dos negativos com 0,250 ( $cutt-off = E \text{ neg} + 0.250$ ).

As amostras com valores inferiores ao valor limite foram consideradas anti-VHC negativas ou não reagentes.

As amostras com valores iguais ou superiores ao valor limite foram consideradas positivas (Anexos 7 e 8).

Todos os pacientes foram testados também em relação à presença do HbsAg. Aqueles que tiveram positividade ao HbsAg foram testados em relação a presença do HbeAg e Anti-Hbe. Os testes foram realizados conforme descrito no Anexo 3.

**REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE**

Nos pacientes com positividade ao teste da UBI foi pesquisada a presença do VHC-RNA por PCR, utilizando-se a técnica de transcrição reversa *double nested* (duas ampliações). O teste envolve o uso da enzima transcriptase reversa que cataliza a síntese de DNA a partir da região 5' não traduzida do RNA viral. Após, a PCR padrão *double nested* é utilizada para amplificar o DNA produzido gerando quantidades suficientes para serem detectadas em gel de agarose corado com brometo de etídio.

A extração do RNA e a transferência das amostras do primeiro para a segundo tubo de reação da PCR foram executadas em condições e com reagentes estéreis. Esse procedimento bem como a eletroforese dos produtos finais da PCR eram realizados em separado, sem exposição ao VHC DNA recombinante. As soluções eram pipetadas com pipetas contendo barreira de aerosol nas pontas. As luvas eram trocadas após cada contato com o material em estudo. Um controle negativo era incluído para cada amostra testada para monitorizar a contaminação como fonte de resultado falso-positivo.

a) Procedimento para realização do teste:

1 - Extração do RNA:

100 µl de soro eram misturados com 400 µl de solução A (contendo isotiocianato guanadina, ácido clorídrico e etanol) e 50 µl de solução B (contendo ácido clorídrico, EDTA e sulfato de sódio), seguindo-se a extração com volume igual de clorofórmio/fenol saturados com água, no volume 1:1 a 65 °C durante 30 minutos. A fase aquosa era removida e salva. A fase orgânica era extraída com 300 µl de solução A a 65 °C durante 5 minutos. As duas fases aquosas foram misturadas à temperatura ambiente. O RNA foi precipitado pela adição de 400 µl de acetato de amônia e isopropanolol incubados a - 20 °C durante pelo menos 16 horas. Após centrifugação, as partículas de RNA eram lavadas uma vez com 70% de etanol, secas a 37 °C e suspensas, novamente, em 100 µl de água contendo 10 mM de ditiotreitól e

200 unidades de inibidor da ribonuclease placentária humana (RNasin). Essa solução de RNA era alíquotada em amostras de 10 µl e conservada a - 80 °C.

## 2 - Criação de um DNA complementar (DNAc) por transcrição reversa e incubação dos *primers* e genes:

A síntese de nucleotídeos foi realizada pelo sintetizador de DNA *Applied Biosystems* modelo 391. Antes da síntese de DNAc, uma alíquota de 10 µl de solução de RNA era degelada à temperatura ambiente, aquecida a 65 °C durante 2 minutos, resfriada em gelo e usada imediatamente. A síntese de DNAc era realizada em 20 µl de uma mistura de reação contendo 10 mM de ácido clorídrico, 50 mM de cloreto de potássio, 2,5 mM de cloreto de magnésio, 40 unidades de inibidor da ribonuclease, *primer* de regiões conservadas do genoma do VHC e 8 unidades de vírus de ave transcriptase reversa, incubados a 43 °C durante 60 minutos. O DNAc era desnaturado pela adição de 61,5 µl de água e aquecimento dessa mistura a 95 °C durante 5 minutos, tornando-se uma fita simples.

## 3 - Eletroforese:

O primeiro ciclo de amplificação da PCR foi realizado. Adicionava-se a enzima taq polimerase DNA (Amplitaq, Perkin-Elmer/Cetus) nos tubos dos reagentes, colocando-os no termociclador. A amplificação era realizada durante 35 ciclos no termociclador automático (Perkin-Elmer/Cetus) com desnaturação a 94 °C durante 1 minuto, *primer* a 45°C durante 2 minutos e amplificação a 72 °C durante 3 minutos. Para o segundo ciclo de amplificação da PCR, eram utilizados 10 µl da alíquota da primeira amplificação. Finalmente, analisou-se o produto do segundo ciclo de amplificação da PCR por eletroforese com gel de agarose a 2% tinto com brometo de etídio, o qual é fosforescente e intercalou-se nas bases do DNA, podendo ser visualizado na luz ultravioleta.

## ANEXO 4

### PESQUISA DO HBsAg, HBeAg E ANTI-HBe

#### 1 - AUSZYME MONOCLONAL - ABBOTT

##### a) Princípio do procedimento:

As pérolas de poliestireno revestidas com anticorpo monoclonal de camundongo contra HBsAg eram incubadas com amostras de soro e controles apropriados. A presença de HBsAg na amostra foi confirmada pela união do mesmo ao anticorpo na fase sólida (pérola). O material não ligado era aspirado e as pérolas lavadas, adicionando-se o conjugado anti-HBs monoclonal de camundongo com peroxidase para reagir com o complexo antígeno-anticorpo da pérola. Novamente era aspirado o material não ligado e lavadas as pérolas. Era adicionada, a cada pérola, solução de OPD contendo peróxido de hidrogênio, sendo as mesmas incubadas. Observou-se o desenvolvimento da coloração amarelo-alaranjada proporcional à quantidade de HBsAg ligado à pérola, sendo a reação finalizada pela adição de ácido sulfúrico 1N.

Os reagentes do *kit* eram armazenados entre 2 e 8 °C. As placas e o ácido sulfúrico 1 N eram conservados entre 2 e 30 °C. Todos os reagentes eram trazidos à temperatura ambiente antes de sua utilização.

A solução de substrato de OPD (OPD mais diluente para OPD) obteve a coloração amarelo pálido. Uma tonalidade alaranjada da solução indicava que o reagente era de alguma forma contaminado e deveria ser desprezado. Assim como um valor de absorção menor do que 0,400 unidades para a diferença entre a média dos controles positivos e negativos era indicativo de deterioração do *kit* ou do reagente OPD.

## b) Cálculo dos resultados:

A leitura dos resultados era realizada em um aparelho Abbott Quantum II, sendo todos os cálculos feitos de forma automática dentro de um período máximo de até 2 horas após a adição do ácido.

O resultado era considerado válido quando a diferença entre a média dos controles positivos e negativos (P-N) mostrava-se igual ou maior que 0,400. Caso contrário, a técnica era considerada suspeita e o repetia-se o teste. Com um valor de P-N insistentemente baixo, suspeitava-se de deterioração dos reagentes ou erro técnico e também se repetia o teste.

A presença ou ausência do HBsAg era determinada pela relação da absorção do valor do *cut-off* de uma amostra desconhecida. O valor do *cut-off* era calculado pela média da absorção dos controles negativos mais o fator 0,050. Amostras com valores de absorção maior ou igual aos do *cut-off* estabelecido eram consideradas reagentes para o HBsAg. Todas as amostras inicialmente reagentes eram retestadas. Considerou-se como positivas aquelas reagentes para ambos os testes.

Os soros não reagentes ao teste e ao reteste foram considerados negativos quanto à presença do HbsAg.

## 2 - ENZYGNOST HBsAg MONOCLONAL - BEHRING

### a) Princípio do procedimento:

- 25 µl de conjugado diluído (Anti-Hbs monoclonal, peroxidase-OPD-conjugada) eram pipetados em cada cavidade na placa de reação, adicionando-se 100 µl de controles negativos em 4 cavidades (A1 a D1) e 100 µl de controles positivos em outras 2 cavidades (E1 a F1); as cavidades restantes da placa de reação eram preenchidas por amostras não diluídas. Cobriu-se com selo adesivo todas as cavidades e incubou-se a placa de reação a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $90 \pm 5$  min;

- Após, eram removidos os selos adesivos, aspiradas as cavidades e lavadas quatro a seis vezes com aproximadamente 0,3 ml de solução de OPD;

- 100 µl de solução de cromogênio (1 ml de cromogênio tetrametil-benzidine-dihidroclorido - TMB - com 10 ml de peróxido de hidrogênio em solução de acetato) eram colocados dentro de cada amostra, tapando-as com selo adesivo e incubando-as, protegidas da luz, em uma temperatura de 18 a 25 °C durante  $30 \pm 2$  minutos;

- Eram removidos os selos e adicionados 100 µl de ácido sulfúrico 0,5 N (*stopping solution* POD) em cada cavidade, aguardando-se um período máximo de 1 hora para ler a absorção no espectrofotômetro a 450 nm.

Todos os reagentes eram armazenados entre 2 a 8 °C até a sua utilização.

#### b) Cálculo dos resultados:

O teste era considerado correto quando os valores individuais dos controles negativos estavam em uma faixa igual ou maior do que - 0,010, igual ou menor do que 0,120, e os controles positivos iguais ou superiores a 0,700. Quando isso não acontecia era repetido o teste.

O cálculo da média de absorção dos controles negativos ( $A_{neg}$ ) era feito pela soma dos mesmos dividido por três. Adicionando-se 0,050 obtinha-se o valor do *cut-off* ( $cut-off = A_{neg} + 0.050$ ). Com base nos critérios do teste, as amostras eram consideradas negativas quando o resultado era menor do que o valor do *cut-off*; e positivas quando maior ou igual ao valor do *cut-off*. No último caso, testava-se a amostra em duplicata. Se, no reteste, a média de absorção continuasse maior ou igual ao valor do *cut-off* o exame era considerado positivo.

### 3.1 - HBeAg:

#### a) Procedimento para dosagem:

O teste HBe (rDNA) utiliza o princípio da técnica imunoenzimática de fase sólida. As pérolas de poliestireno revestidas com anti-HBe humano com soro eram incubadas. A presença do HBe na amostra era determinada quando o mesmo ligava-se ao anticorpo contido nas pérolas. Durante a segunda incubação, o anticorpo conjugado à peroxidase unia-se ao HBeAg na pérola formando um complexo anticorpo-antígeno-anticorpo. As pérolas eram lavadas e removia-se o conjugado enzimático não ligado. Adicionava-se a solução de OPD contendo peróxido de hidrogênio, e as pérolas eram incubadas, ocorrendo o desenvolvimento da cor amarelo-alaranjada proporcional à quantidade de HBeAg ligado a elas. Acrescentava-se ácido sulfúrico para finalizar a reação enzimática. Após 2 horas da adição do ácido, a absorção de cada pérola era determinada.

#### b) Cálculo dos Resultados:

A presença ou ausência do AgHbe era identificada pela comparação do valor de absorção do soro com o valor do *cut-off* ( $cut-off = \text{média dos controles negativos} + 0,06$ ). As amostras eram consideradas reagentes para o HbeAg quando o valor de absorção do soro era maior ou igual ao do *cut-off*. Soros com valores de absorção em torno de 10% do *cut-off* foram retestados para confirmar o resultado inicial. Amostras com resultados repetidamente reagentes eram considerados positivas para o HbeAg. Soros com valores de absorção menor do que os do *cut-off* eram considerados negativos.

### 3.2 - Anti-HBe:

#### a) Procedimento para a dosagem:

A detecção do anti-HBe é baseada no princípio da ligação competitiva por uma quantidade padronizada de AgHBe, o reagente neutralizante, entre o anticorpo anti-Hbe, presente na amostra do paciente, e o anti-HBe que reveste as pérolas.

As pérolas revestidas por anti-HBe eram incubadas com o reagente neutralizante e o soro dos pacientes. A presença do anti-HBe na amostra compete com o anti-HBe que reveste as pérolas pelo rDNA anti-AgHBe presente no reagente neutralizante. Dessa forma, a quantidade de AgHBe imunologicamente ligado à pérola diminuiu progressivamente com o aumento da concentração de anti-HBe no soro.

Os reagentes não ligados à pérola eram lavados e removidos. Uma segunda incubação era feita usando anticorpo conjugado à peroxidase. A presença do anti-HBe no soro determinava que menos HBeAg ficasse ligado à pérola, conseqüentemente diminuía a quantidade de conjugado ligado, impedindo a formação do complexo antígeno-anticorpo. Com isso, verificou-se que, quanto maior a quantidade de anti-HBe no soro, menor o grau de absorção.

#### b) Cálculo dos resultados:

A presença ou ausência do Anti-Hbe era determinada pela comparação dos valores de absorção do soro com o *cut-off*. Calculava-se o valor do *cut-off* a partir da soma das médias dos valores de controles negativos (NCx) e positivos (PCx) divididos por dois ( $cut-off = (NCx + PCx) / 2$ ). Comparava-se a absorção das amostras com os valores *do cut-off* para obter o resultado.

Os soros com valores de absorção igual ou menor aos do *cut-off* eram considerados anti-Hbe reagentes. Amostras repetidamente reagentes para o teste eram consideradas positivas para o anti-HBe. Amostras com valores de absorção maior ou igual ao *cut-off* eram consideradas negativas. As com valores de absorção de 10% do *cut-off* eram retestadas para confirmar o resultado.

**ANEXO 5****RECEPTORES RENAIIS ANTI-VHC POSITIVOS PELO TESTE DA UBI - RELAÇÃO DO  
CUT-OFF / DENSIDADE ÓPTICA**

| PAC./    | POSITIVIDADE DO ANTI-VHC EM <i>RATIO CUT-OFF / DO.</i><br>TESTE DA UBI |               |               |
|----------|--|---------------|---------------|
|          | PRÉ-Tx   | 6 MESES       | 1 ANO         |
| 1 (EM)   | 0.076 / 0.103  | 0.076 / 0.095 | 0.076 / 0.088 |
| 2 (ESL)  | 0.076 / 0.979  | 0.076 / 1.885 | 0.076 / 1.563 |
| 3 (MRS)  | 0.076 / 1.877  | 0.076 / 0.820 | 0.076 / 1.033 |
| 4 (NLP)  | 0.076 / 0.753  | 0.076 / 0.154 | 0.076 / 0.099 |
| 5 (EMM)  | 0.076 / 0.816  | 0.076 / 0.195 | 0.076 / 0.093 |
| 6 (LAY)  | NEGATIVO   | 0.076 / 0.163 | 0.076 / 0.547 |
| 7 (DG)   | 0.076 / 0.444  | 0.076 / 0.378 | 0.076 / 0.265 |
| 8 (VA)   | 0.076 / 2.072  | 0.076 / 0.341 | 0.076 / 0.182 |
| 9 (MG)   | 0.076 / 1.527  | 0.076 / 1.026 | 0.076 / 0.895 |
| 10 (MMD) | 0.076 / 1.574  | 0.076 / 0.121 | 0.076 / 0.095 |
| 11 (DS)  | 0.076 / 0.773  | 0.076 / 0.090 | 0.076 / 0.080 |
| 12 (AJG) | 0.076 / 1.122  | 0.076 / 0.482 | 0.076 / 0.187 |

**ANEXO 6****RECEPTORES RENAIIS ANTI-VHC POSITIVOS PELO TESTE DA ABBOTT RELAÇÃO****CUT-OFF / DENSIDADE ÓPTICA**

| PAC./    | RESULTADOS DO ANTI-VHC EM RATIO CUT-OFF / DO. TESTE DA ABBOTT |               |               |
|----------|---|---------------|---------------|
|          | PRÉ-TX  | 6M            | 1A            |
| 1 (EM)   | NEGATIVO  | NEGATIVO      | 0.572 / 0.734 |
| 2 (JR)   | 0.604 / 1.147   | 0.604 / 0.713 | 0.604 / 0.658 |
| 3 (ESL)  | 0.511 / >2.00   | 0.511 / >2.00 | 0.511 / >2.00 |
| 4 (MRS)  | 0.511 / >2.00   | 0.511 / >2.00 | 0.511 / >2.00 |
| 5 (NLP)  | 0.511 / >2.00   | 0.511 / 1.125 | 0.511 / 0.826 |
| 6 (EMM)  | 0.511 / >2.00   | 0.511 / >2.00 | 0.511 / 1.966 |
| 7 (MBS)  | 0.511 / >2.00   | 0.511 / 1.896 | 0.511 / >2.00 |
| 8 (LAY)  | NEGATIVO  | 0.572 / 1.263 | 0.572 / 1.691 |
| 9 (DG)   | 0.511 / >2.00   | 0.511 / >2.00 | 0.511 / >2.00 |
| 10 (VA)  | 0.511 / >2.00   | 0.511 / >2.00 | 0.511 / >2.00 |
| 11 (MG)  | 0.604 / >2.00   | 0.604 / >2.00 | 0/604 / >2.00 |
| 12 (MMD) | 0.604 / >2.00   | 0.604 / 1.532 | 0.604 / 1.036 |
| 13 (AJG) | 0.511 / >2.00   | 0.511 / >2.00 | 0.511 / >2.00 |

**ANEXO 7****RECEPTORES RENAIIS ANTI-VHC POSITIVOS PELO TESTE DA BEHRING -  
RELAÇÃO CUT-OFF / DENSIDADE ÓPTICA**

| PAC./    | RESULTADOS DO ANTI-VHC EM <i>RATIO CUT-OFF</i> / DO.<br>TESTE DE BEHRING |               |               |
|----------|--|---------------|---------------|
|          | PRÉ-TX   | 6M            | 1A            |
| 1 (EM)   | NEGATIVO   | NEGATIVO      | 0.276 / 1.223 |
| 2 (JR)   | 0.287 / >2.50  | 0.287 / 1.286 | 0.287 / 1.222 |
| 3 (ESL)  | 0.259 / >2.50  | 0.259 / >2.50 | 0.259 / >2.50 |
| 4 (MRS)  | 0.262 / >2.50  | 0.262 / >2.50 | 0.262 / >2.50 |
| 5 (NLP)  | 0.259 / >2.50  | 0.259 / >2.50 | 0.259 / >2.50 |
| 6 (EMM)  | 0.262 / >2.50  | 0.262 / 2.248 | 0.262 / 1.971 |
| 7 (MBS)  | NEGATIVO   | NEGATIVO      | 0.262 / 0.587 |
| 8 (LAY)  | NEGATIVO   | 0.276 / 1.830 | 0.276 / 1.825 |
| 9 (DG)   | 0.262 / >2.50  | 0.262 / >2.50 | 0.262 / 2.232 |
| 10 (CB)  | 0.262 / 0.588  | NEGATIVO      | NEGATIVO      |
| 11 (VA)  | 0.259 / >2.50  | 0.259 / >2.50 | 0.259 / >2.50 |
| 12 (MG)  | 0.287 / >2.50  | 0.287 / >2.50 | 0.287 / >2.50 |
| 13 (MMD) | 0.287 / >2.50  | 0.287 / 1.331 | 0.287 / 0.582 |
| 14 (AJG) | 0.259 / >2.50  | 0.259 / >2.50 | 0.259 / >2.50 |

**ANEXO 8****DOADORES ANTI-VHC POSITIVOS PELOS TESTES DA UBI / ABBOTT / BEHRING  
RESULTADOS EM *RATIO CUT-OFF* / DENSIDADE ÓPTICA**

| PAC./   | ANTI-VHC UBI  | ANTI-VHC ABBOTT | ANTI-VHC BEHRING |
|---------|---------------|-----------------|------------------|
| 1 (MCB) | 0.315 / 1.918 | 0.424 / >2.00   | 0.274 / >2.50    |
| 2 (AVP) | 0.315 / 2.938 | 0.424 / >2.00   | 0.274 / >2.50    |
| 3 (CN)  | 0.315 / 2.923 | 0.424 / >2.00   | 0.274 / >2.50    |
| 4 (IM)  | NÃO FEZ       | 0.424 / 1.666   | 0.274 / 0.751    |