

LÍGIA DA ROSA

**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE TESTES RÁPIDOS PARA
A DETECÇÃO DO ANTI-HCV**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon

Florianópolis, 2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

DA ROSA, LÍGIA

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE TESTES RÁPIDOS PARA A
DETECÇÃO DO ANTI-HCV / LÍGIA DA ROSA ; orientador,
Leonardo de Lucca Schiavon - Florianópolis, SC, 2013.
99 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas.

Inclui referências

1. Ciências Médicas. 2. Testes rápidos (point-of-care).
3. Hepatite C. 4. Diagnóstico. I. de Lucca Schiavon,
Leonardo. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. III. Título.

LÍGIA DA ROSA

**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE TESTES RÁPIDOS
PARA A DETECÇÃO DO ANTI-HCV**

Esta dissertação foi submetida ao processo de avaliação pela Banca Examinadora para obtenção do título de:

MESTRE EM CIÊNCIAS MÉDICAS

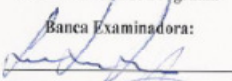
E aprovada em 28 de agosto de 2013, atendendo as normas da legislação vigente da Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Área de Concentração: **Investigação Clínica**.



Profª Drª Tânia Silvia Fróde

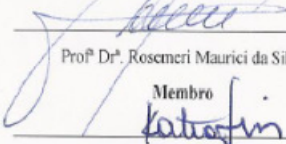
Coordenadora do Programa

Banca Examinadora:



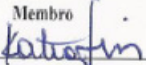
Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon

Presidente/Orientador



Profª Drª. Rosemeri Maurici da Silva

Membro



Profª Drª kátia Lin

Membro



Profª Drª Tânia Silvia Fróde

Membro

Florianópolis, 2013

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ter me concedido saúde para realizar mais este sonho, por ter guiado meu caminho e me cercado de pessoas boas nesta etapa tão peculiar de minha vida.

Aos meus pais, Antônio e Marlene, pela confiança não só durante a realização do mestrado, mas em todas as fases da minha vida. Tenho certeza de que sem vocês nada disso seria possível.

Ao meu marido e grande amor Gabriel, pela compreensão e companheirismo durante esta fase tão difícil. Com certeza, suas palavras carinhosas e seu amor foram indispensáveis para me fortalecer. Desculpe-me pela ausência e obrigada por fazer parte da minha vida.

Agradeço a minha amiga Mariana pelo acolhimento. Com certeza você facilitou muito minhas vindas a Florianópolis. Aos funcionários da área A, principalmente à Madalena, pela ajuda durante a coleta dos dados. Agradeço à Dra. Esther, por gentilmente, ter cedido seu ambulatório para a seleção dos pacientes.

Ao meu orientador, Dr. Leonardo, pela dedicação, seriedade, praticidade e prontidão para solucionar problemas e responder minhas dúvidas. Serei eternamente grata.

Aos professores da pós-graduação pelos ensinamentos e a todos os colegas pela companhia, ajuda e caronas.

Agradecimento especial ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento deste trabalho.

Muito Obrigada!

*Nós somos aquilo que fazemos
repetidamente. Excelência, então, não é
um modo de agir, mas um hábito.*

(Aristóteles)

SIGLAS

aa – aminoácidos
ALT – alanina aminotransferase
ANTI-HCV – anticorpo contra o vírus da hepatite C
AST – aspartato aminotransferase
CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*
cDNA – ácido desoxirribonucleico complementar
CLIA – *automated chemiluminescence immunoassay*
DIV – drogas intravenosas
DM – diabetes melitus
DNA – ácido desoxirribonucleico
DOSVIRC – coorte hepatite C *Pitié-Salpêtrière*
ELISA - *enzyme linked immuno sorbent assay*
E1 – glicoproteína codificada pelo vírus da hepatite C 1
E2 – glicoproteína codificada pelo vírus da hepatite C 2
FDA – *Food and Drug Administration*
HAS – hipertensão arterial sistêmica
HBV – vírus da hepatite B
HCV – vírus da hepatite C
HIV – vírus da imunodeficiência humana
HNANB – hepatite não-A não-B
HU-UFSC – Hospital Universitário/Universidade Federal de Santa Catarina
HVR1 – região hipervariável 1
IC – intervalo de confiança
IFCC – *International Federation of Clinical Chemistry*
IMC – índice de massa corpórea
INCA – Instituto Nacional do Câncer
MS – Ministério da Saúde
MW - *Mann-Whitney*
NS – *nonstructural (proteins)*
OBSVIRC – observatório da hepatite C
ORF – *open reading frame*
PCR – *polymerase chain reaction*
POCT – *point-of-care test*
q – qui-quadrado
RDT – *rapid diagnostic test*
RIBA – *recombinant immunoblot assay*
RFLP – *restriction fragment length polymorphism*

RLU – *relative light units*

RNA – ácido ribonucleico

S – *structural (proteins)*

SBH - Sociedade Brasileira de Hepatologia

t – teste T

WHO – *World Health Organization*

RESUMO

Introdução: Além da grande importância do tema em termos de saúde pública, existe uma carência de estudos avaliando o desempenho de vários testes rápidos *point-of-care* (POCTs) utilizados atualmente para a detecção do anti-HCV.

Objetivos: Investigar o desempenho de dois testes rápidos (POCTs) para a detecção do anti-HCV e avaliar o impacto do tempo de leitura sobre o desempenho diagnóstico.

Materiais e Métodos: Um total de 307 indivíduos foram divididos em três grupos (1- infectados com HCV; 2 - outras doenças crônicas do fígado, e 3 - controles). Os testes rápidos (POCTs) HCV Rapid Test Bioeasy® e Imuno-Rápido HCV® foram lidos aos 3, 5, 10, 15, 20 e 30 minutos. A sensibilidade e especificidade dos testes rápidos (POCTs) foram calculadas em relação à detecção do anti-HCV por quimioluminescência.

Resultados: Resultados válidos foram obtidos para todos os testes. Quando comparados com a quimioluminescência, ambos os testes mostraram sensibilidade de 97,1% e especificidade de 100%. Não foi observada alteração na sensibilidade e especificidade dos testes quando comparados os diferentes tempos de leitura e quando os pacientes com outras doenças crônicas do fígado foram avaliados em relação a um grupo controle.

Conclusão: Os testes rápidos (POCTs) avaliados neste estudo mostraram alta sensibilidade e especificidade, sem alteração no desempenho após o terceiro minuto da leitura.

Palavras-chave: Testes rápidos (*point-of-care*), Hepatite C, Diagnóstico

ABSTRACT

Background: Besides the great importance of the issue in terms of public health, there is a lack of studies evaluating the performance of several of the currently used point of care tests (POCTs) for the detection of anti-HCV.

Objectives: To investigate the performance of two POCTs anti-HCV detection and to assess the impact of the reading time on diagnostic performance.

Materials & Methods: A total of 307 subjects were divided into three groups (1 - HCV infected; 2 - other chronic liver diseases; and 3 - controls). The POCTs HCV Rapid Test Bioeasy® and Imuno-Rapido HCV® were read at 3, 5, 10, 15, 20 and 30 minutes. The sensitivity and specificity of the POCTs were calculated in relation to anti-HCV detection by chemiluminescence.

Results: Valid results were obtained for all tests. When compared to the chemiluminescence, both tests showed sensitivity of 97.1% and specificity of 100%. No changes in the sensitivity or specificity of the tests were observed at different reading times and when patients with other chronic liver diseases were evaluated as a control group.

Conclusion: The POCTs evaluated in this study showed high sensitivity and specificity, with no change in the performance after the third minute of reading.

Keywords: Point-of-Care Systems; Hepatitis C; Diagnosis

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos empregados nos testes para pesquisa de anticorpos contra o vírus da hepatite C. Adaptado de Brandão, 2001.....	36
Tabela 2 - Lista dos principais testes RDT e POCT e os respectivos antígenos.	41
Tabela 3 - Principais estudos sobre o desempenho dos testes rápidos e respectivas sensibilidade e especificidade.....	44
Tabela 4 - Distribuição do grupo controle com hepatopatia crônica em relação à doença de base.	58
Tabela 5 - Comparação das variáveis clínicas e laboratoriais entre os grupos de estudo.....	59
Tabela 6 - Análise dos resultados dos testes rápidos comparados à quimioluminescência amplificada (leitura realizada em 3, 5, 10, 15, 20, 30 minutos).....	61
Tabela 7 - Avaliação da sensibilidade e especificidade dos testes rápidos em relação ao grupo controle comparados à quimioluminescência amplificada (leitura realizada em 3, 5, 10, 15, 20, 30 minutos).	61

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Organização do genoma do HCV. Adaptação de François Penin, 2003..... 23
- Figura 2 - Prevalência estimada do HCV mundialmente - adaptado de *The Global Burden of Hepatitis C Working Group*, 2004..... 25
- Figura 3 - Representação esquemática do genoma do HCV e a localização dos diversos antígenos para anticorpos produzidos e detectados por anti-HCV, adaptado de Ferreira-Gonzales, 2004. 35
- Figura 4 - Exemplo de teste rápido não reagente para o anti-HCV..... 53
- Figura 5 - Exemplo de teste rápido reagente para o anti-HCV. 53
- Figura 6 - Exemplos de testes rápidos inválidos para o anti-HCV..... 54

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 Histórico da Hepatite C	21
1.2 Virologia	23
1.3 Epidemiologia	24
1.3.1 Global	24
1.3.2 Brasil	25
1.3.3 Santa Catarina	26
1.4 Fatores de risco e transmissão	27
1.4.1 Transfusão de hemocomponentes	27
1.4.2 Uso de drogas intravenosas (DIV)	28
1.4.3 Procedimentos médicos e exposição nosocomial	28
1.4.4 Transplante de órgãos sólidos	29
1.4.5 Exposição ocupacional	30
1.4.6 Transmissão vertical	30
1.4.7 Transmissão sexual	31
1.5 História natural	32
1.6 Diagnóstico	33
1.6.1 Diagnóstico sorológico	34
1.6.2 Biologia molecular	37
1.6.3 Testes rápidos para detecção do anti-HCV	40
2 OBJETIVOS	49
2.1 Objetivo geral	49
2.2 Objetivos específicos	49
3 MÉTODOS	51
3.1 Tipo de estudo	51
3.2 População e amostragem	51
3.3 Variáveis em estudo	52
3.4 Procedimentos	55
3.5 Análise estatística	56
4 RESULTADOS	57
4.1 Características da casuística	57
4.1.1 Portadores crônicos do HCV	57
4.1.2 Controles	57
4.1.3 Controles com doenças hepáticas	58
4.2 Comparação dos grupos de estudo	59
4.3 Avaliação do desempenho dos testes rápidos para detecção do Anti-HCV	60
5 DISCUSSÃO	63
5.1 Características da casuística	63

5.2 Testes rápidos.....	66
5.3 Limitações.....	70
6 CONCLUSÕES	71
REFERÊNCIAS.....	73
ANEXO I.....	87
ANEXO II.....	88
APÊNDICE I	89

1INTRODUÇÃO

1.1 Histórico da Hepatite C

Os primeiros relatos sobre icterícia foram encontrados na literatura chinesa e são de aproximadamente 5.000 anos atrás (FONSECA, 2010). Surtos de icterícia foram descritos pelos babilônicos há mais de 2.500 anos e Hipócrates, no século IV A.C., também já fazia referência à icterícia epidêmica (FREITAS, 2003). Já nesta época acreditava-se que ocorreria por distúrbio crônico no fígado (FONSECA, 2010). No entanto, o termo hepatite só foi introduzido no século XVIII (REUBEN, 2002).

Do século XVII ao século XIX inúmeras epidemias de icterícia ocorreram na Europa, principalmente entre militares em períodos de guerra (REUBEN, 2002), questionando a hipótese formulada por Virchow, em 1865 e utilizada por quase duas décadas, de que a icterícia, denominada “catarral”, seria consequência, apenas, de obstrução nos ductos biliares (SHERLOCK, 1984).

Durante a segunda guerra mundial surgiram epidemias de icterícia após o uso compartilhado de seringas e agulhas esterilizadas de forma inadequada, levando MacCallum, um dos maiores pesquisadores sobre este tema na Inglaterra, a levantar a possibilidade de que um agente infeccioso pudesse ser transmitido de um paciente para outro (MACCALLUM, 1972). Com o início do uso de insulina via parenteral, em 1922, foi notório o aumento de casos de icterícia nas clínicas de tratamento para diabetes e isto ocorreu, provavelmente, porque as lancetas para coleta da glicemia eram lavadas, mas não esterilizadas (FREITAS, 2003). Um surto de icterícia relacionada à transmissão parenteral ocorreu em 1942 e envolveu 28.585 soldados americanos após vacinação contra febre amarela, 68 deles morreram (FREEMAN, 1946; SHERLOCK, 1984).

Com o advento da hemotransfusão, surgiram os primeiros episódios de hepatites pós-transfusionais. Em 1943, Morgan e Williamson relataram o aparecimento de icterícia em nove pacientes que haviam recebido transfusão de hemoderivados 7 a 16 semanas antes. Estes eventos relatados foram intimamente relacionados aos dos soldados americanos submetidos à vacina contra febre amarela (FREEMAN, 1946; MORGAN, WILLIAMSON, 1943).

Após a detecção do antígeno Austrália e a sua relação com o vírus da hepatite B (HBV), denominada hepatite do soro, várias tentativas foram feitas para tentar isolar o agente causador da hepatite A ou hepatite infecciosa, até que Stephen Feistone, utilizando técnica de

imunoeletromicroscopia em amostra de fezes, visualizou pela primeira vez o antígeno relacionado com a hepatite A. (FEINSTONE, KAPIKIAN et al., 1973). Estes achados acabaram por determinar a identificação de dois grupos de hepatites epidemiologicamente distintos: a hepatite infecciosa – tipo MS-1 (ou hepatite A), de transmissão entérica; e a hepatite sérica – tipo MS-2 (ou hepatite B), de transmissão parenteral (BLUMBERG, ALTER et al., 1965; KRUGMAN, GILES et al., 1967).

Apesar da identificação dos agentes causadores das hepatites A e B, até 90% dos pacientes com icterícia pós-transfusional permaneciam sem um agente etiológico definido. Muitos destes pacientes evoluíam com doença hepática crônica e até 20% para cirrose hepática (ALTER, PURCELL et al., 1978; BERMAN, ALTER et al.; 1979). Mais tarde verificou-se que até 10% dos pacientes submetidos à transfusão sanguínea evoluíam com hepatite não-A não-B (BERMAN, ALTER et al., 1979). Supunha-se, então, que um terceiro agente etiológico seria responsável por estes quadros de doença hepática pós-transfusional com sorologia negativa ou hepatite não-A não-B (HNANB) (HOOFNAGLE, GERETY et al., 1977; ALTER, PURCELL et al., 1978; DEWAR, 1990).

Casos isolados de HNANB que não estavam relacionados à transfusão sanguínea começaram a surgir na população (PURCELL, 1978) e esta “nova” doença passou a ser motivo de estudo em diversas áreas da medicina. Desta forma, pesquisas experimentais utilizando modelos animais para inoculação de sangue de pacientes com hepatite não-A não-B começaram a ser realizadas (PURCELL, 1978). Em 1978, foi possível a demonstração de alterações bioquímicas e histológicas compatíveis com hepatite aguda em chipanzés, o que reforçou a hipótese de uma etiologia infecciosa (ALTER, PURCELL et al., 1978).

Apesar das inúmeras frentes de pesquisa nesta área, por mais de uma década a HNANB permaneceu sem um agente etiológico definido. Somente em 1989 Choo e colaboradores, utilizando estudos de biologia molecular conseguiram isolar o DNA (ácido desoxirribonucleico) complementar de um terceiro vírus causador de hepatite (vírus da hepatite C), que parecia ser em parte o responsável pelos casos de hepatites esporádicas e pós-transfusionais (CHOO, KUO et al., 1989). Neste mesmo ano foi detectado o primeiro exame laboratorial capaz de identificar anticorpos contra o vírus da hepatite C, o anti-HCV (ALTER, PURCELL et al., 1989; KUO, CHOO et al., 1989).

1.2 Virologia

O vírus da hepatite C (HCV) é um pequeno vírus RNA (*ácido ribonucleico*) que segundo o comitê internacional de taxonomia de vírus, pertence à família *Flaviviridae*, gênero *hepacivirus* (ROBERTSON, MYERS et al., 1998; PENIN, 2003). O HCV é formado por dois tipos distintos de proteínas, as estruturais (S) e as não estruturais (NS). As primeiras incluem o núcleo, formado por um nucleocapsídeo e um envelope lipoproteico derivado dos hepatócitos do próprio hospedeiro no qual se inserem duas glicoproteínas codificadas pelo vírus (E1 e E2). O nucleocapsídeo é formado pela proteína do core (proteína C) e por uma fita única de RNA com polaridade positiva (PENIN, 2003).

O genoma viral contém cerca de 9600 nucleotídeos com uma única fase de leitura aberta (ORF – *Open reading frame*) que codifica uma poliproteína de 3010 a 3033 aminoácidos (aa), dependendo do genótipo (PENIN, 2003). As proteínas não estruturais NS-2, NS-3, NS-4A, NS-4B, NS-5A, e NS-5B que coordenam os processos intracelulares do ciclo de vida do vírus estão separadas das proteínas estruturais por uma pequena membrana polipeptídica chamada p7 (PENIN, 2003; LINDENBACH, RICE, 2005). A figura 1 mostra uma esquematização do genoma do vírus da hepatite C.

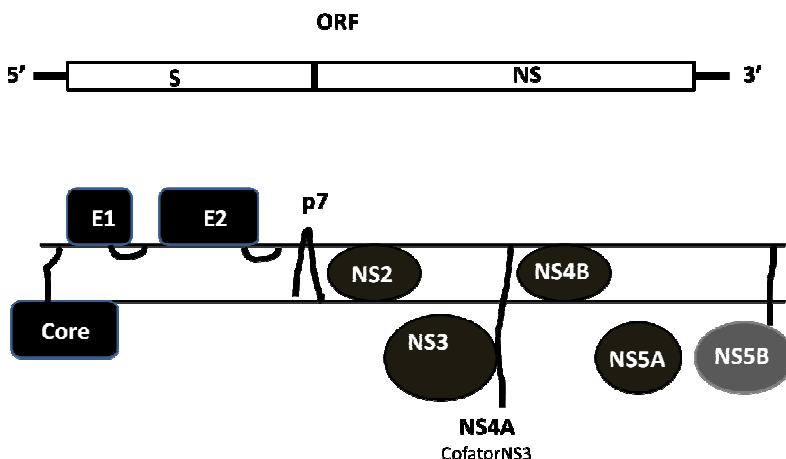


Figura 1 - Organização do genoma do HCV. Adaptação de François Penin, 2003.

A variabilidade genotípica pode explicar em parte a heterogeneidade genômica do HCV (DOMINGO, 1998; PAWLOTSKY,

2003). O genótipo é uma característica intrínseca do vírus e não muda durante o curso da infecção. No entanto, infecção mista com flutuação na proporção de cada genótipo pode ocorrer ao longo do tempo (PAWLOTSKY, 2003). A diferenciação no genótipo do HCV ocorre devido à alteração na sequência de nucleotídeo entre as cepas de população geograficamente diferentes. Caracteristicamente, a NTR 50 e 30, o núcleo, e vários outros segmentos mostram pouca variabilidade, enquanto algumas regiões apresentam alta variabilidade, sendo a região denominada hipervariável 1 (HVR1) da glicoproteína E2 a mais variável. Os diferentes genótipos são nomeados de 1-11 e seus subtipos a e b (SIMMONDS, 1995; PENIN, 2003).

Além disso, as variações genômicas que surgem entre subpopulações do HCV que infectam um dado indivíduo e as mutações sofridas ao longo da infecção, chamadas *quasiespécies* também possuem papel fundamental na heterogeneidade genômica do vírus da hepatite C, (MARTELL, ESTEBAN et al., 1992; DOMINGO, 1998).

1.3 Epidemiologia

1.3.1 Global

A hepatite C é reconhecida como uma doença de importância global. É do interesse tanto de países industrializados quanto de países em desenvolvimento. Para estimar as consequências globais do HCV é necessário estabelecer a sua prevalência em cada país. A melhor forma de realizar esta avaliação de prevalência seria determiná-la por estudos de base populacional com estratificação de acordo com sexo, idade e nacionalidade. No entanto, devido a maior complexidade e alto custo deste tipo de levantamento, na maioria dos países, tais pesquisas são escassas e os estudos são restritos a grupos populacionais específicos e não representativos da população em geral, como doadores de sangue, usuários de drogas, indivíduos com comportamento sexual de risco ou pacientes com doença hepática crônica. Desta forma, a prevalência global do HCV ainda está associada a alguma incerteza (SHEPARD, FINELLI et al., 2005; LAVANCHY, 2009).

Estima-se que a prevalência global da infecção pelo HCV seja de 2,2 a 3,0% da população, o que corresponderia 130 a 170.000.000 de pessoas infectadas em todo o mundo (WASLEY, ALTER, 2000; ALTER, 2007; LAVANCHY, 2009). Apesar da hepatite C ser considerada uma endemia mundial, prevalências discrepantes ocorrem

em diferentes regiões, variando de $<1,0\%$ no norte da Europa a $>2,9\%$ no norte de África. Frequências mais baixas ($0,01\%$ a $0,1\%$), foram encontradas em países do Reino Unido e Escandinávia e a maior prevalência (15% a 20%), no Egito (ALTER, 2007). Prevalências intermediárias são encontradas no Brasil, no leste da Europa, no Mediterrâneo, no Oriente Médio e na Índia (WASLEY, ALTER, 2000). A distribuição da prevalência estimada da infecção pelo HCV de acordo com a região geográfica está representada na figura 2.

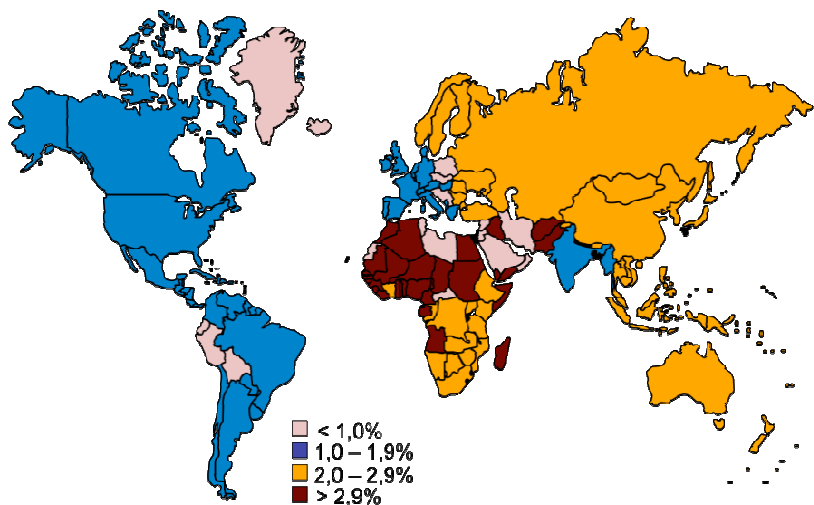


Figura 2 - Prevalência estimada do HCV mundialmente - adaptado de *The Global Burden of Hepatitis C Working Group, 2004*.

1.3.2 Brasil

Os estudos que avaliam a prevalência do HCV no Brasil são escassos e pouco precisos, englobando geralmente áreas geográficas restritas ou populações específicas, como os doadores de sangue (MARTINS, NARCISO-SCHIAVON et al., 2011). Relatos de diversos estudos trazem informações contraditórias, o que sugere a necessidade de estudos com metodologia mais adequada.

Um estudo transversal realizado pela Sociedade Brasileira de Hepatologia (SBH) evidenciou que dos 1.173.406 doadores de sangue avaliados, 14.527 (1,23%) foram reativos para o anti-HCV. As maiores taxas de prevalência foram observadas nos estados da região Norte (2,12%) do Brasil. A região Sul mostrou baixa prevalência de positividade para o anti-HCV (0,65%) e as regiões Centro-oeste,

Nordeste e Sudeste apresentaram taxas intermediárias de 1,04%, 1,19% e 1,43%, respectivamente (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA, 1999).

Com objetivo principal de estimar a prevalência das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C, por meio de marcadores sorológicos, o Ministério da Saúde (MS) realizou um inquérito nas capitais brasileiras e no Distrito Federal. A população estudada para o anti-HCV foi de 19.634 indivíduos. O resultado global da prevalência para o marcador de exposição ao HCV (anti-HCV), referente ao conjunto das capitais do Brasil foi de 1,38%. O percentual de expostos ao HCV na faixa etária de 10 a 19 foi de 0,75% e de 1,56% para o grupo de 20 a 69 anos. A região Norte apresentou a maior endemicidade do anti-HCV na faixa etária de 20 a 69 anos de idade (3,2%) e a região Nordeste a menor (1,0%). As regiões Centro-oeste, Sudeste e Sul tiveram prevalências intermediárias (1,6%, 1,6% e 1,7%, respectivamente) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

1.3.3 Santa Catarina

Dados referentes à prevalência do vírus da hepatite C em Santa Catarina são escassos, sendo a maioria, obtidos por meio de estudos de soroprevalência em bancos de sangue, o que poderia subestimar a prevalência no estado, visto que doadores de sangue não são representativos da população em geral. Um exemplo desta discrepância foi descrito em um estudo norte-americano em que a prevalência de infecção pelo HCV foi de 0,6% nos estudos com doadores de sangue e de 1,8% na população geral (ALTER, KRUSZON-MORAN et al., 1999).

Entre 1999 e 2001 um estudo avaliou a soroprevalência do anti-HCV em 263.795 amostras coletadas de doadores de sangue em diferentes regiões de Santa Catarina. A cidade de Blumenau apresentou a maior prevalência entre as cidades estudadas variando de 1,03% em 1999, 0,60% em 2000 e 0,58% em 2001. Nas cidades de Jaraguá do Sul e Joaçaba foram encontradas as menores prevalências nos três anos. Florianópolis apresentou positividade para o anti-HCV entre 0,33% e 0,54%. Pôde-se observar também neste estudo que a prevalência entre os anos de 1999 e 2001 apresentou apenas uma discreta redução (ROSINI, MOUSSE et al., 2003).

Em Criciúma, cidade do sul do estado de Santa Catarina foi observada positividade do anti-HCV em 10 dos 457 voluntários que participaram da campanha (FAGUNDES, BONAZZA et al., 2008). A

maior prevalência do anti-HCV nesta casuística (2,2%) quando comparada aos estudos de soroprevalência, provavelmente ocorre porque grande parte dos voluntários portadores do vírus participou da campanha justamente pela dúvida de contágio. Um recente estudo conduzido na cidade de Tubarão identificou positividade do anti-HCV em 2,2% entre 820 idosos (MARTINS, 2011).

1.4 Fatores de risco e transmissão

Entre os principais fatores de risco relacionados à transmissão do HCV estão a transfusão sanguínea e hemoderivados, transplante de órgãos sólidos provenientes de doadores infectados, uso de drogas injetáveis, terapias injetáveis com equipamento contaminado (ou não seguro), hemodiálise, exposição ocupacional, transmissão perinatal e sexual (PEREIRA, LEVEY, 1997; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1998; ALTER, 2002; ALTER, 2007). Além disso, por causa da grande variedade de atividades humanas que envolvem exposição percutânea a fluidos corporais, sangue ou derivados, existem numerosos outros modos biologicamente plausíveis de transmissão do vírus da hepatite C. Estes incluem procedimentos cosméticos (tatuagem, piercing), uso de droga intranasal e práticas religiosas ou culturais (ritual de escarificação e circuncisão) (HALEY E FISCHER, 2001; ALTER, 2007). No entanto, na maioria das regiões do mundo, não há dados suficientes para determinar se estes fatores de risco fazem qualquer contribuição mensurável para transmissão do HCV (ALTER, 2007).

1.4.1 Transfusão de hemocomponentes

A transmissão de hepatite C pela transfusão de sangue ou hemoderivados ocorre em um pequeno número de casos. (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1998). Nos Estados Unidos, o risco estimado de aquisição do HCV é de 1 para cada 1 a 2 milhões de unidades transfundidas (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2008). As taxas crescentemente menores de transmissão pós-transfusional são, em parte, resultado da implementação de exames de triagem laboratorial cada vez mais sensíveis (BUSCH, KLEINMAN et al., 2003).

As taxas de soroprevalência variam de 19% em pacientes que receberam concentrados de hemácias ou plasma durante as cirurgias cardíacas a 95% em pacientes hemofílicos transfundidos com fator VIII

ou IX não aquecidos. O risco de infecção apresenta relação com o número de unidades transfundidas e com o tipo de produto sanguíneo utilizado na transfusão (DONAHUE, MUNHOZ et al., 1992; YEN, KEEFFE et al., 2003). Em 1990, o risco de transfusão diminuiu em torno de 50%, caindo para 0,45% a 0,2% por unidade transfundida. A introdução de um teste anti-HCV mais sensível em 1992 reduziu drasticamente o risco de transmissão da hepatite C. (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1998; YEN, KEEFFE et al., 2003).

Apesar da redução progressiva na transmissão do HCV pela transfusão de hemoderivados, um estudo realizado em bancos de sangue de Santa Catarina revelou um risco de transmissão de 1 para 13.721 unidades de sangue transfundidas (KUPEK, 2004).

1.4.2 Uso de drogas intravenosas (DIV)

Embora o número de casos de infecção aguda pelo vírus da hepatite C entre usuários de drogas injetáveis tenha diminuído desde 1989, incidência e prevalência da infecção pelo HCV permanecem elevadas neste grupo (SY, JAMAL, 2006). O uso de DIV foi uma das principais formas de transmissão do HCV nos últimos quarenta anos em países como os Estados Unidos da América e Austrália, e atualmente é considerado responsável pela maioria dos casos novos ocorridos em outros países (ALTER, 2007). Apesar de existirem variações geográficas, estudos apontam taxas de prevalência entre os usuários de drogas injetáveis que variam entre 70 e 90% (YEN, KEEFFE et al., 2003).

Um estudo realizado em 698 adultos jovens de 18 a 30 anos de idade, usuários de drogas injetáveis, na cidade de Chicago entre 1997 e 1999 mostrou prevalência de infecção pelo HCV de 27% (THORPE, OULLET et al., 2000). Um outro estudo conduzido na cidade de Santos, no estado de São Paulo, em 1996, encontrou prevalência do anti-HCV de 75% entre usuários de drogas injetáveis (DE CARVALHO, MESQUITA et al., 1996).

1.4.3 Procedimentos médicos e exposição nosocomial

Procedimentos injetáveis não seguros executados por profissionais da área da saúde e até mesmo por não profissionais representam importante forma de disseminação do HCV. Estima-se que aproximadamente 2 milhões de infecções por HCV sejam adquiridas

anualmente a partir de injeções contaminadas, podendo ser responsáveis por até 40% das infecções por HCV em todo o mundo (ALTER, 2007). A reutilização de seringas de vidro durante campanha contra esquistossomose no Egito estaria relacionada ao maior surto já registrado de transmissão iatrogênica de um patógeno através do sangue (FRANK, MOHAMED et al., 2000). Além da prática de injeção insegura, falta de atenção para limpeza e desinfecção adequada dos equipamentos utilizados em hospitais e consultórios dentários também podem ser fonte de transmissão do HCV (ALTER, 2007).

A infecção pelo HCV em pacientes que realizam hemodiálise apresenta grande variabilidade geográfica entre os países e também entre as diferentes unidades de diálise (YEN, KEEFFE et al., 2003). A prevalência do anticorpo para o HCV entre pacientes em hemodiálise gira em torno de 10%. No entanto, alguns centros apresentam taxas maiores que 60% (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1998). Alguns estudos indicam que a transmissão do HCV nos centros de hemodiálise ocorrem principalmente devido à aplicação incorreta de práticas de controle de infecção, particularmente através de compartilhamento de frascos de medicamentos e suprimentos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1998). Estima-se que o risco de transmissão entre os pacientes que realizam hemodiálise seja de 10% ao ano (PEREIRA, LEVEY, 1997).

1.4.4 Transplante de órgãos sólidos

Muitos estudos buscam estimar a prevalência da infecção pelo HCV associada ao transplante de órgãos. Testes de diferentes metodologias e de gerações distintas para detecção do anti-HCV apresentam variação de sensibilidade e especificidade e detecção variada durante a janela imunológica. Portanto, a comparação dos estudos de prevalência com diferentes perfis do anti-HCV se tornam difíceis. Pacientes com sistema imunológico comprometido devido à insuficiência renal ou hepática, muitas vezes, podem não apresentar resposta suficiente para a detecção sorológica dos anticorpos anti-HCV (YEN, KEEFFE et al., 2003). Além disso, testes virológicos, tais como HCV RNA, podem produzir resultados falso-negativos, principalmente devido a alterações no processamento e armazenamento das amostras (BUSCH, WILBER et al., 1992).

A alta prevalência de doença hepática em pacientes que receberam órgãos de doadores-cadáver com positividade para o anti-HCV, demonstra que esta via é uma importante forma de transmissão

viral (PEREIRA, MILFORD et al., 1992). Relatórios de centros de transplantes mostram que entre os beneficiários de órgãos de doadores anti-HCV positivos, 35% desenvolveram doença hepática, 50% apresentaram positividade para o anti-HCV e o RNA foi detectável em 74% dos pacientes após o transplante (YEN, KEEFFE et al., 2003). Vários estudos tem relatado a prevalência de HCV em receptores de fígado, coração e medula óssea. No entanto, estes estudos não conseguem distinguir se a presença do RNA do HCV resultou diretamente do transplante, de infecção no período peri-transplante ou até mesmo como consequência de transfusão de hemoderivados (YEN, KEEFFE et al., 2003).

1.4.5 Exposição ocupacional

Estudos do início dos anos 90 relataram uma prevalência três vezes maior de infecção pelo HCV em profissionais da área da saúde. No entanto, outros estudos com base em testes ELISA (*enzyme linked immuno sorbent assay*) de primeira geração estimaram que a prevalência neste grupo de trabalhadores estaria entre 0,7 e 2,0%, ou seja, inferior ao restante da população (YEN, KEEFFE et al., 2003).

Uma avaliação do risco ocupacional para hepatite C entre dentistas em Nova York encontrou positividade para o anti-HCV em 1,75% dos 456 profissionais estudados e em apenas 0,14% dos 723 controles. A presença do anti-HCV foi ainda maior entre os cirurgiões bucomaxilofaciais. Entre eles, 9,3% eram positivos para o anti-HCV, enquanto nos 413 controles, apenas 0,97% apresentavam o anticorpo (KLEIN, FREEMAN et al., 1991). Uma avaliação realizada entre cirurgiões ortopédicos encontrou positividade do anti-HCV em menos de 1% quando excluídos outros fatores de risco relacionados à transmissão do HCV (SHAPIRO, TOKARS et al., 1996).

O risco relatado na literatura para a transmissão do HCV após exposição ocupacional varia de 0% a 10%. Na Itália foi encontrada uma taxa de 1,2% de soroconversão do HCV entre os profissionais de saúde que relataram exposição a sangue ou a outros materiais de risco provenientes de doentes com anticorpos anti-HCV (PURO, PETRONILLO et al., 1995).

1.4.6 Transmissão vertical

A transmissão do vírus da hepatite C de mãe para filho é relativamente incomum (ROBERTS, YEUNG, 2002). A taxa de

transmissão vertical do HCV varia de 0% a 20%, com uma média de 5% (YEN, KEEFFE et al., 2003). Os principais fatores que aumentam esta chance são a alta carga viral materna e mãe coinfectada com HIV (vírus da imunodeficiência humana). A coinfeção materna HCV-HIV aumenta em até 5 vezes a probabilidade de transmissão da hepatite C para o recém-nascido (ROBERTS, YEUNG, 2002; YEN, KEEFFE et al., 2003).

Embora haja relatos de isolamento do RNA do HCV no leite materno, tornando esta via uma possível forma de transmissão, os estudos não são consistentes em associar o aleitamento materno com o aumento do risco de transmissão do HCV, sendo a prevalência de infecção em filhos de mães que praticaram o aleitamento materno, similar a das mães que não amamentaram seus filhos (3,7% vs. 3,9%) (YEUNG, KING et al., 2001; YEN, KEEFFE et al., 2003).

Alguns estudos sugerem que o parto normal poderia aumentar o risco de transmissão de HCV, o que não foi comprovado, pois mesmo nos estudos que demonstraram maior chance de transmissão através da via vaginal, esta foi pequena (4,3% vs. 3,0%) (YEUNG, KING et al., 2001). Os dados disponíveis atualmente não justificam o uso rotineiro de cesariana para as mulheres com hepatite C crônica, a menos que haja coinfeção com HIV (ROBERTS, YEUNG, 2002).

1.4.7 Transmissão sexual

O papel da atividade sexual na transmissão do HCV permanece obscuro (GOLDEBERG, MCINTYRE et al., 2001; PÉREZ, SUARÉS et al., 2005; MAGDER, FIX et al., 2005). Resultados de estudo em gestantes apontaram uma prevalência geral do anti-HCV de 0,6%. A prevalência do HCV em gestantes usuárias de drogas injetáveis, em não usuárias de DIV com parceiro usuário e naquelas sem nenhum dos dois fatores foi respectivamente de 41%, 15% e 0,3% (GOLDEBERG, MCINTYRE et al., 2001). Dados coletados no Egito demonstraram que a probabilidade de transmissão entre cônjuges foi de 10 a 34% (esposa para marido) e de 0 a 3% (marido para esposa) (MAGDER, FIX et al., 2005). Uma coorte prospectiva falhou em demonstrar risco aumentado de transmissão entre homossexuais masculinos (ALARY, JOLY et al., 2005).

O risco de transmissão do vírus da hepatite C entre parceiros monogâmicos sorodiscordantes não tem se mostrado muito elevado, sendo que um estudo prospectivo revelou uma taxa de incidência de 0,37 por 1.000 pessoas-ano (VANDELLI, RENZO et al., 2004). Em

contrapartida, o número de parceiros sexuais e a idade da primeira relação sexual ainda apresentam significativa correlação com a infecção pelo HCV (PÉREZ, SUARÉS et al., 2005).

1.5 História natural

Após a identificação do HCV, o mesmo foi reconhecido como um problema de saúde pública com taxas de evolução para doença hepática crônica em torno de 40%. As principais consequências da hepatite C são hepatite crônica, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (ALTER, MARGOLIS et al., 1992; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999; AFDHAL, 2004). Acredita-se que além do dano hepático, a infecção pelo HCV também possa estar relacionada a várias manifestações extra-hepáticas como crioglobulinemia, glomerulonefrite, doenças cutâneas e oculares, sialoadenite e linfoma de células B (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999; AFDHAL, 2004; HIMOTO, MASAKI, 2012).

A infecção aguda pelo vírus da hepatite C é assintomática na grande maioria dos indivíduos e somente 20% dos casos apresentam icterícia. Sintomas como fadiga, mialgia, febre baixa, dor abdominal no quadrante superior direito, náuseas e vômitos também podem ser encontrados na forma aguda da doença (MAHESHWARI, RAY et al., 2008). A hepatite aguda ocorre em média 7 semanas após exposição e os sintomas podem persistir por até 12 semanas (MAHESHWARI, RAY et al., 2008). Existem evidências sugestivas de que os pacientes que desenvolvem icterícia tendem a ter taxa mais elevada de eliminação viral espontânea que os assintomáticos. Outros fatores que podem contribuir para o clareamento espontâneo incluem infecção pelo genótipo 3, sexo feminino, pico baixo de carga viral, raça branca e queda rápida da carga viral nas primeiras 4 semanas. Em contraste, raça negra e infecção pelo HIV estão relacionados à maior persistência viral (MAHESHWARI, RAY et al., 2008). Casos de hepatite fulminante podem ser atribuídos à hepatite C, no entanto, esta não é uma forma habitual de apresentação (FARCI, ALTER et al., 1996).

A infecção pelo HCV se resolve espontaneamente em aproximadamente 10 a 25% dos pacientes adultos e cerca de 75% dos casos permanecem com viremia persistente (AFDHAL, 2004). Dentre os pacientes cronicamente infectados pelo vírus da hepatite C, menos de 20% costumam desenvolver sintomas inicialmente. Quando apresentam sintomas, normalmente são inespecíficos e pouco sugestivos desta infecção, como mal estar, fadiga, sonolência e dores musculares. Na maioria dos pacientes, os primeiros sintomas específicos tornam-se

evidentes somente após o desenvolvimento de doença hepática avançada, a qual pode ocorrer depois de 1 a 3 décadas da infecção inicial (POYNARD, YUEN et al., 2003; AFDHAL, 2004).

Estudos revelam que até 50% dos pacientes com persistência da viremia pelo HCV, mesmo assintomáticos, apresentam elevações flutuantes dos valores das enzimas hepáticas séricas (ALTER, SHEEFF, 2000). Por outro lado, as concentrações séricas das aminotransferases não podem ser considerados bons preditores de fibrose ou doença hepática avançada, pois aproximadamente 20% dos pacientes com valores normais de alanina aminotransferase (ALT) apresentaram fibrose moderada ou avançada na biópsia hepática (AFDHAL, 2004; MASSARD, RATZIU et al., 2006).

A taxa de progressão da fibrose hepática é variável e a evolução para cirrose hepática pode ocorrer em até 20% dos casos, sendo a mediana do intervalo entre a contaminação e o aparecimento da cirrose de 30 anos (POYNARD, BEDOSSA et al., 1997). Alguns fatores podem estar relacionados à progressão mais rápida da fibrose hepática, destacando-se tempo prolongado de infecção, maior idade à infecção, sexo masculino, consumo excessivo de álcool, coinfeção com o vírus da hepatite B e HIV, principalmente com baixas contagens de linfócitos T *helper* (TCD4⁺) (POYNARD, BEDOSSA et al., 1997; MASSARD, RATZIU et al., 2006). Condições metabólicas, tais como obesidade, esteatose e diabetes estão emergindo como cofatores independentes para fibrogênese (KNOBLER, SCHIHMANTER et al., 2000; PETIT, BOUR et al., 2001; MASSARD, RATZIU et al., 2006). Outras características, como genótipo, *quasiespécies* e carga viral não parecem estar relacionadas à pior evolução da doença hepática pelo HCV, muito embora, já se encontre relação entre esteatose hepática e resistência insulínica com o genótipo 3 (POYNARD, BEDOSSA et al., 1997; MASSARD, RATZIU et al., 2006).

1.6 Diagnóstico

A descrição do primeiro exame capaz de diagnosticar a hepatite viral C só foi feita em 1989 pela identificação de anticorpos circulantes em pacientes com HCV (ALTER, PURCELL et al., 1989; KUO, CHOO et al., 1989). De um modo geral os testes virológicos utilizados para diagnóstico e manejo dos portadores de hepatite C podem ser divididos em duas categorias: testes indiretos ou sorológicos, que identificam anticorpos específicos contra antígenos do HCV (anticorpos anti-HCV); e testes diretos, que utilizam tecnologia de biologia

molecular e são capazes de detectar, quantificar e caracterizar componentes da partícula viral do HCV (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001).

1.6.1 Diagnóstico sorológico

A detecção de anticorpos contra antígenos específicos do HCV é a maneira mais frequentemente empregada para identificar infecção presente ou passada (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001). Os testes sorológicos para pesquisa do anti-HCV normalmente são empregados para rastreamento diagnóstico e levando em consideração a prevalência estimada do HCV de 3%, estes testes precisam apresentar alta sensibilidade (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001). A detecção do anti-HCV pode ser realizada métodos imunológicos como ELISA, CLIA (*automated chemiluminescence immunoassay*) e RIBA (*recombinant immunoblot assay*) (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001).

O teste ELISA I, de primeira geração, tem como alvo somente um antígeno, o polipeptídeo c100-3, derivado do antígeno viral NS3-4. Este teste não é mais utilizado na prática clínica, pois apresenta sensibilidade de 70 a 80%, baixa especificidade e valor preditivo positivo de 30 a 50% em populações de baixa prevalência (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004). Apesar das limitações relacionadas ao ELISA I, a utilização sistemática deste exame reduziu drasticamente a transmissão do vírus da hepatite C através de transfusão sanguínea durante a década de 1990 (GRETCH, 1997).

Para formação da segunda geração do teste ELISA (ELISA II), mais dois antígenos recombinantes do HCV foram incorporados, o c22-3, derivado da região do *core* e o c33-c derivado da região não estrutural NS3. A proteína c33-c foi fundida com o antígeno c100-3 para formar a proteína c200. O teste ELISA II apresentou melhora tanto da sensibilidade (92 a 95%), quanto da especificidade quando comparado ao ELISA I, além de reduzir o tempo médio de soroconversão de 16 para 10 semanas (GRETCH, 1997; BRANDÃO, FUCHS et al., 2001).

O teste ELISA III ou de terceira geração adicionou um antígeno da região NS5, além de alterar a configuração dos antígenos já presentes no ELISA II. A principal vantagem deste novo teste foi a redução do tempo médio de soroconversão para 7 a 8 semanas. Além disso, houve um aumento na sensibilidade para 97% com especificidade maior que 99% (GRETCH 1997; BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004; CHEVALIEZ, PAWLITSKY, 2006). A figura 3 mostra uma representação esquemática do genoma do HCV e

a localização dos diversos antígenos para anticorpos produzidos e detectados por anti-HCV.

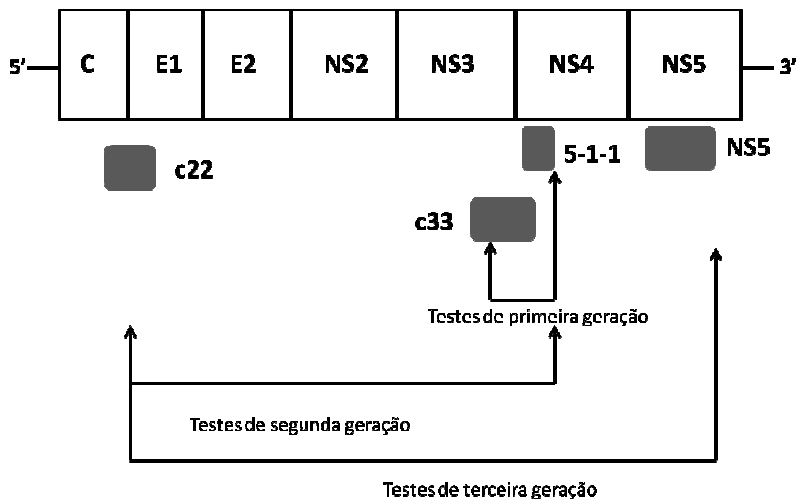


Figura 3 - Representação esquemática do genoma do HCV e a localização dos diversos antígenos para anticorpos produzidos e detectados por anti-HCV, adaptado de Ferreira-Gonzales, 2004.

Outra metodologia utilizada para a pesquisa do anti-HCV é a quimioluminescência. Evidências demonstram que o uso desta técnica reduz significativamente a ocorrência de resultados falso-positivos quando comparada aos testes ELISA. Um estudo, realizado em 2003, confirmou a sensibilidade equivalente entre o método ELISA e a quimioluminescência, mas com especificidade e valor preditivo positivo maiores para o último (DUFOUR, TALASTAS et al., 2003). Atualmente, testes que utilizam a técnica de quimioluminescência são amplamente utilizados em bancos de sangue (OH, CHANG et al., 2012). Progressivamente a quimioluminescência está substituindo o ELISA e a incorporação deste exame na prática clínica pode oferecer algumas vantagens como maior confiabilidade, precisão, simplicidade técnica, velocidade e completa automatização (CABEZAS-FERNANDEZ, CABEZA-BARRERA, 2012). Um estudo que avaliou os testes CLIA, Elecsys, Architect, Vitros e Access para a detecção do anti-HCV

encontrou especificidades de 98,2, 98,8, 96,5 e 98,2%, respectivamente (KIM, KIM, et al., 2008).

A baixa especificidade dos primeiros testes ELISA determinou o desenvolvimento de testes suplementares para confirmação diagnóstica da infecção pelo HCV em indivíduos com resultados positivos. Os testes suplementares para o anti-HCV podem ser considerados altamente específicos, reduzindo a possibilidade de resultados falso-positivos (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004). Contudo, um resultado positivo nem sempre é indicativo de infecção, visto que os pacientes que apresentam cura da infecção podem permanecer com anti-HCV positivo durante anos (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004). Um dos testes suplementares mais utilizados é o RIBA. As modificações de configuração do RIBA foram surgindo concomitantemente com as dos testes ELISA, havendo até o momento três gerações (GRETCH, 1997; PAWLITSKY, LONJON et al., 1998). A tabela 1 mostra as proteínas recombinantes e os peptídeos sintéticos empregados nas três gerações dos testes ELISA e RIBA (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001).

Tabela 1 - Proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos empregados nos testes para pesquisa de anticorpos contra o vírus da hepatite C. Adaptado de Brandão, 2001.

Antígeno	ELISA	RIBA	ELISA	RIBA	ELISA	RIBA
	I	I	II	II	III	III
5-1-1 (NS4)		X		X		
c100-3 (NS3-4)	X	X	X	X		X
c33-c (NS3)			X	X		X
c200 (fusão c100-3/c33-c)			X		X	
c22-3 (core)			X	X	X	X
NS5					X	X

O teste RIBA I não é mais comercializado. Os testes RIBA II e III têm sido empregados em pessoas com baixa probabilidade de infecção pelo HCV que apresentem ELISA positivo. Como resultados falso-positivos dos testes ELISA II ou III podem ser encontrados com frequência neste grupo, o uso de testes suplementares para estabelecer o diagnóstico da infecção pode ser justificado. Ao contrário, nas pessoas

com alta probabilidade de infecção que apresentem um teste ELISA de segunda ou terceira geração positivo, torna-se desnecessário a solicitação de um teste complementar para confirmar a presença do anti-HCV (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; FERREIRA-GONZALES, SHIFFMAN, 2004).

Resultados falso-positivos para o anti-HCV foram inicialmente relatados nos ensaios de primeira geração. Nas versões mais recentes, embora com frequência mais baixa, resultados falso-positivos ainda podem ser encontrados. Um falso-positivo do anti-HCV pode ocasionalmente ocorrer devido a interações não específicas entre imunoglobulinas séricas e os antígenos do HCV utilizados no teste. Isto é mais comumente observado em pacientes com doenças auto-imunes. Clareamento espontâneo do HCV, que ocorre em aproximadamente 20% dos pacientes após exposição, também pode ser responsável pela positividade do anti-HCV (FERREIRA-GONZALES, SHIFFMAN, 2004).

Embora menos comum nos dias hoje, os testes anti-HCV também podem apresentar resultados falso-negativos. Este cenário é quase sempre restrito aos doentes que estão imunocomprometidos e incapazes de produzir anticorpos em resposta à infecção pelo HCV. Tais pacientes incluem os coinfectados (HIV), transplantados, pacientes que utilizam imunossuppressores e doença renal crônica em hemodiálise (FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004; FORNS, COSTA, 2006). A triagem destes pacientes com anti-HCV pode render resultados falsamente negativos, particularmente se a exposição ao HCV ocorreu depois de o paciente ter entrado no estado de imunossupressão (FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004).

1.6.2 Biologia molecular

Na prática clínica, na maioria dos pacientes, a investigação diagnóstica começa pela pesquisa de anticorpos contra o HCV por meio do teste ELISA ou quimioluminescência. Em pacientes com hepatite crônica e negativos para a presença do anti-HCV, (por exemplo, pacientes imunossuprimidos) ou em pacientes anti-HCV positivos é necessário utilizar testes para confirmação da infecção. Nestes últimos, os resultados do teste podem indicar duas possibilidades: infecção curada (RNA do HCV negativo) ou em atividade (RNA do HCV positivo) (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001). Pacientes em tratamento para hepatite C devem ser avaliados quanto à resposta ao tratamento pelo monitoramento que utiliza a detecção do RNA viral (BRANDÃO,

FUCHS et al., 2001; CABEZAS-FERNADEZ, CABEZA-BARRERA, 2012). Por fim, estes testes também são preconizados para hepatite aguda no período de janela imunológica, quando o RNA do HCV pode ser detectado uma semana após a exposição (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; CABEZAS-FERNANDEZ, CABEZA-BARRERA, 2012; KAMILI, DROBENIUC et al., 2012).

Três metodologias específicas tem sido utilizadas para detectar e quantificar o HCV RNA: reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR), amplificação mediada por transcrição (TMA), e a técnica de b-DNA (FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004). Mais recentemente, o PCR em tempo real ou “real time PCR” foi incorporado aos exames para detecção do RNA do HCV. Por causa das suas vantagens, como simplicidade, rapidez, maior variedade de concentração linear do HCV-RNA e menor risco de contaminação, o PCR em tempo real já está substituindo ensaios convencionais de PCR (FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004; FORNS, COSTA, 2006).

Um teste manual, o Amplicor HCV v2.0, e dois testes semiautomatizados, o COBAS Amplicor HCV v2.0 e o Ampliscreen, fabricados pela Roche®, utilizam a técnica de PCR para detecção qualitativa do RNA e possuem sensibilidade de detecção em torno de 50 UI/ml. O teste UltraQual HCV RT-PCR da National Genetics® também utiliza técnica de biologia molecular, mas apresenta limite de detecção menor que os outros que utilizam a mesma tecnologia (10 UI/ml) (KAMILI DROBENIUC et al., 2012).

Para detecção quantitativa do RNA pela técnica de PCR podem ser utilizados testes manuais, como o Amplicor HCV Monitor (Roche®) e o LCx HCV RNA-Quantitatie (Abbott®) que apresentam sensibilidade de detecção de 50 UI/ml e 25 UI/ml, respectivamente. O teste semiautomatizado COBAS Amplicor HCV Monitor v2.0 da Roche® também apresenta sensibilidade diagnóstica de 50 UI/ml. Testes quantitativos com limite de detecção cada vez mais baixos estão sendo utilizados. O COBAS Ampliprep/TaqMan da Roche® apresenta limite inferior de detecção de 18 UI/ml e o HCV SuperQuant da National Genetics®, 20 UI/ml. O Real Time HCV/m2000sp/m2000rt fabricado pela Abbott® possui amplo limiar de detecção que varia de 12 a 100.000.000 UI/ml (KAMILI, DROBENIUC et al., 2012).

A técnica de TMA (*transcription-mediated amplification*) usa uma abordagem diferente para amplificação de ácidos nucléicos. Na TMA, um DNA complementar (cDNA) é produzido pela enzima transcriptase reversa para produzir um RNA (cDNA híbrido)

(FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004). O teste qualitativo TMA, Versant HCV RNA (Bayer HealthCare®, Berkley, CA), um teste totalmente manual, tem mostrado capacidade de mensurar o RNA do HCV 10 IU/mL de plasma (FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004; KAMILI, DROBENIUC et al., 2012).

Uma outra alternativa é a metodologia b-DNA que utiliza uma estratégia chamada sinal de amplificação. A detecção e quantificação da sequência alvo são alcançadas pela aferição da quantidade de luz emitida a partir da amostra em comparação com a quantidade de luz gerada pelo controle (FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004). O Versant HCV RNA 3.0 da Siemens® apresenta intervalo linear dinâmico de 650 a 8×10^6 IU/mL com coeficiente de variação calculado entre 20 e 25% (FERREIRA-GONZALEZ, SHIFFMAN, 2004).

Além do interesse do ponto de vista epidemiológico, a determinação do genótipo do HCV é relevante tanto como preditor de resposta a terapia, como para duração e o tipo de tratamento (FORNS, COSTA, 2006). Para infecção pelo genótipo 2 ou 3 o tratamento preconizado é a terapia dupla com interferon peguilado e ribavirina. Para infecção pelo genótipo 1, a terapia tripla com adição do telaprevir ou do boceprevir ao interferon peguilado e a ribavirina está associada a uma maior probabilidade de resposta virológica sustentada (FRIED, SHIFFMAN et al., 2002; MARKS, JACOBSON, 2012; CHOU, HARTUNG et al., 2013).

Embora o método de maior acurácia para a determinação do genótipo do HCV seja a identificação completa da sequência dos 9.500 nucleotídeos e construção de uma árvore filogenética, esse método só pode ser utilizado em laboratórios de pesquisa (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001). Assim, foram desenvolvidos métodos para genotipagem utilizando apenas as regiões mais conservadas do genoma, como a proteína do envoltório (E1), a proteína *core* e a proteína não estrutural NS5B (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; CABEZAS-FERNADEZ, CABEZA-BARRERA, 2012). A sequência dos nucleotídeos dentro dessas regiões relativamente conservadas é genótipo-específica, e os isolados podem ser genotipados, independentemente da região que for utilizada para análise (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; CABEZAS-FERNADEZ, CABEZA-BARRERA, 2012). Para uso em laboratórios clínicos foram desenvolvidas basicamente duas metodologias para investigação do genótipo do HCV, aquelas baseadas em biologia molecular (genotipagem) e as técnicas sorológicas (sorotipagem) (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001).

Os métodos que adotam técnica de biologia molecular para genotipagem, utilizando porções do genoma, incluem o PCR (*nested PCR*), a técnica de RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), a hibridização reversa (INNO-LiPA, Innogenetics®, Bélgica; GEN-ETI-K DEIA HCV, Sorin Biomedica®, Itália), o sequenciamento direto da região não codificante 5'NC (TruGene, Visible Genetics®, Canadá) e a análise da curva de dissociação utilizando sondas fluorescentes FRET (*fluorescence energy transfer resonance*). As principais vantagens destas técnicas são a informação direta sobre a sequência de nucleotídeos do genoma viral, a alta sensibilidade e a possibilidade de identificar o subtipo viral (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; CABEZAS-FERNANDEZ, CABEZA-BARRERA, 2012).

Os métodos para a determinação do genótipo que utilizam sorotipagem se baseiam na detecção de anticorpos genótipo específicos contra epítopos do HCV (por exemplo, proteínas da região do núcleo) (BRANDÃO, FUCHS et al., 2001; CABEZAS-FERNANDEZ, CABEZA-BARRERA, 2012). Os testes comercializados costumam utilizar técnicas como ELISA ou *immunoblot*, sendo o baixo custo e a maior facilidade de realização as principais vantagens atribuídas a estes testes (GRETCH, 1997; BRANDÃO, FUCHS et al., 2001).

1.6.3 Testes rápidos para detecção do anti-HCV

O centro de controle e prevenção de doenças (CDC) recomenda que para o diagnóstico de hepatite C deve ser utilizado um teste imunoenzimático ou quimioluminescência com confirmação por de *immunoblot* ou RNA (ALTER, KUHNERT et al., 2003; KAMILI, DROBENIUC et al., 2012). Embora este algoritmo seja efetivo para detectar infecção ativa, os testes utilizados são caros e necessitam de longo tempo para execução (POOVORAWAN, THEAMBOONLERS et al., 1994; SHIVKUMAR, PEELING et al., 2012). Convenientemente, testes de diagnóstico rápido (RDT) e testes *point-of-care* (POCT) para detecção de anticorpos contra o HCV poderiam facilitar um diagnóstico preliminar desta infecção (STURENBURG E JUNKER, 2009; CLERC, GREUB, 2010; SHIVKUMAR, PEELING et al., 2012). Apesar destes dois tipos de testes serem considerados rápidos, os RDTs requerem equipamentos especiais, como centrífugas e refrigeradores, enquanto os POCTs apresentam a vantagem adicional de não precisarem de eletricidade e serem de mais simples execução (SHIVKUMAR, PEELING et al., 2012). Estes testes podem ser realizados por técnicas

como aglutinação, imunocromatografia ou imunofiltração. Os principais testes RDT e POCT estão listados na tabela 2.

Tabela 2 - Lista dos principais testes RDT e POCT e os respectivos antígenos.

<i>Point-of-care tests (POCTs)</i>	Antígenos
<i>OraQuick HCV Rapid Antibody Test</i>	Core, NS3,NS4
<i>Anti-HCV Ab rapid test</i>	----
<i>SM-HCV Rapid Test</i>	Core, NS3,NS4
<i>Dual Path Platform test</i>	Core, NS3,NS4, NS5
<i>Multiplo Rapid HIV/HCV Antibody Test</i>	Core NS3
<i>SD Bioline HCV</i>	Core, NS3,NS4, NS5
<i>HCV Rapid Test Bioeasy</i>	Core, NS3,NS4, NS5
<i>Hexagon HCV</i>	Core, NS3,NS4, NS5
<i>Genedia HCV Rapid LF</i>	Core, NS3,NS4, NS5
<i>Imuno-Rápido HCV</i>	Core, NS3, NS4,NS5
<i>Rapid diagnostic tests (RDTs)</i>	
<i>Diagnos HCV Bi-Dot</i>	Core, NS3,NS4, NS5
<i>HCV Tri-Dot</i>	Core, NS3,NS4, NS5
<i>Advanced Quality One Step HCV Test</i>	----
<i>SeroCard HCV</i>	----
<i>HCV Spot</i>	----

Apesar dos inúmeros avanços relacionados ao tratamento da hepatite C, com taxas relativamente altas de resposta virológica sustentada e consequente redução dos danos hepáticos, o diagnóstico do HCV continua sendo um desafio por uma variedade de razões. A dificuldade em atingir populações de alto risco (por exemplo, pessoas que usam drogas injetáveis), o estigma atribuído às doenças relacionadas a comportamentos de risco e a reticência do paciente em admitir tais comportamentos (DROBNIK, JUDD et al., 2011; SMITH, DROBENIUC et al., 2011). A possibilidade de fornecer orientações relacionadas ao vírus da hepatite C juntamente com um diagnóstico presuntivo no momento da realização do exame, poderia reduzir a perda de acompanhamento e facilitaria a criação de vínculo inicial (DROBNIK, JUDD et al., 2011; SHIVKUMAR, PEELING et al., 2012). Pessoas identificadas com anti-HCV positivo poderiam ser aconselhadas a alterar comportamentos que possam levar a transmissão do vírus, e aquelas com anti-HCV negativo e usuárias de drogas injetáveis, por exemplo, orientadas a não partilhar agulhas com um parceiro anti-HCV

positivo. Além disso, o conhecimento sobre a presença da infecção pelo HCV tem sido associado à redução do uso de drogas e álcool a curto prazo (SMITH, DROBENIUC et al., 2011).

Testes rápidos seriam particularmente úteis para uso em locais de difícil acesso, como áreas rurais e indígenas ou em grupos com dificuldade de deslocamento, como idosos e população carcerária. Além disso, podem ser muito úteis na condução de casos de acidentes perfurocortantes com profissionais da área da saúde, serviços de transplante, transfusões sanguíneas emergenciais e em consultórios médicos ou odontológicos (POOVORAWAN, THEAMBOONLERNIS et al., 1994; MVERE, CONSTANTINE et al., 1996; CLERC, GREUB, 2010). Outra vantagem atribuída a realização dos testes rápidos seria a maior facilidade em estudos epidemiológicos, pois além da agilidade de execução e disponibilização rápida dos resultados, um exame feito por punção digital minimizaria efeitos desconfortáveis relacionados à venopunção, proporcionando maior adesão dos pacientes e voluntários (MONTEBUGNOLI, BOREA et al., 1999).

As várias apresentações dos testes rápidos disponíveis costumam utilizar como material de análise fluido oral, soro, plasma ou sangue total. Uma recente metanálise que avaliou os principais estudos relacionados a utilização de testes rápidos sugere que os POCTs mais precisos são aqueles que utilizam sangue (soro, plasma ou sangue total), seguido por RDTs de soro ou plasma e finalmente, por POCTs de fluidos orais (SHIVKUMAR, PEELING et al., 2012).

Apesar do grande número de testes rápidos disponíveis no mercado, apenas em 2010, a *Food and Drug Administration* (FDA/USA) aprovou o primeiro teste para detecção rápida de anticorpos contra o HCV (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2010). Devido a elevada taxa de infecção pelo HCV na população e os altos custos dos testes sorológicos convencionais, a introdução de testes RDTs e POCTs para diagnóstico precoce do HCV pode levar à significativa redução de gastos, tanto com relação ao diagnóstico quanto em relação ao tratamento, com redução de complicações relacionadas à infecção crônica pelo vírus da hepatite C. Programas de saúde pública apresentam interesse crescente sobre o desempenho diagnóstico destes testes (SHIVKUMAR, PEELING et al., 2012). Existem várias marcas de testes rápidos disponíveis no mercado brasileiro, no entanto, algumas ainda não foram avaliadas adequadamente de forma independente quanto ao seu desempenho diagnóstico, como é o caso do HCV Rapid Test Bioeasy® e do Imuno-Rápido HCV da Wama®. Na tabela 3 estão

listados os principais estudos que avaliaram o desempenho dos testes rápidos.

Tabela 3 - Principais estudos sobre o desempenho dos testes rápidos e respectivas sensibilidade e especificidade.

Estudo Local	Material	Teste	Sensibilidade (IC 95) %	Especificidade (IC 95) %
Poovorawan et al, 1994 Singapura	Soro	<i>HCV Spot</i>	97,6 (87,4-99,9)	92,6 (87,3-96,3)
Mvere et al, 1996 Zimbabue	Soro	<i>HCV Spot</i>	90,9 (58,7-99,8)	97,9 (94,8-99,4)
Montebugnoli et al, 1999 Itália	Sangue total	<i>Anti-HCV Ab Rapid Test</i>	100 (92,9-100)	98 (89,4-99,9)
Kaur et al, 2000 Índia	Soro	<i>Diagnos HCV Bi-Dot</i>	87,5 (71-96,5)	100 (99,9-100)
Yuen et al, 2001 China	Soro	<i>SM-HCV Rapid Test</i>	98 (93-99,8)	100 (96,2-100)
WHO, 2001 Multicêntrico	Soro	<i>Advanced Quality One Step HCV Test</i>	97,1 (89,8-99,6)	96,3 (92,5-98,5)
		<i>SeroCard HCV</i>	98,5 (92,1-100)	100 (98,1-100)
		<i>HCV Tri-Dot</i>	100 (94,7-100)	91,5 (86,6-95,1)
		<i>HCV Spot</i>	100 (94,7-100)	93,7 (89,2-96,7)
WHO, 2001 Multicêntrico	Soro	<i>HCV Tri-Dot</i>	100 (94,7-100)	98,9 (96,2-99,9)

		<i>Genedia HCV Rapid LF</i>	98,5 (92,1-100)	98,4 (95,4-99,7)
WHO, 2002 Multicêntrico	Soro	<i>SD Bioline HCV Test</i>	96,9 (89,5-99,6)	100 (98,1-100)
Hui et al, 2002 Hong Kong	Sangue total	<i>SM-HCV Rapid Test</i>	83,5 (75,2-89,9)	100 (95,9-100)
Daniel et al, 2005 Índia	Soro	<i>HCV Tri-Dot</i>	99,3 (95,5-100)	99,0 (98,5-99,4)
Njouom et al, 2006 Camarões	Plasma	<i>Hexagon HCV</i>	87,7 (80,3-93,1)	93,6 (82,5-98,7)
Torane and Shastri, 2008 Índia	Sangue total	<i>HCV Spot</i>	0 (0-11,6)	100 (88,4-100)
Nyirenda et al, 2008 Malawi	Soro	<i>HCV Spot</i>	22,2 (2,8-60)	96,4 (92,7-98,5)
Ivantes et al, 2010 Brasil	Sangue total	<i>HCV Rapid Test Bioeasy</i>	100 (88,4-100)	92,7 (80,1-98,5)
Lee et al, 2010 Estados Unidos	Fluido oral	<i>OraQuick HCV Rapid Antibody Test</i>	99,2 (95,5-100)	100 (99,2-100)
	Sangue total		100 (97-100)	100 (99,2-100)

	Punção digital		100 (97-100)	100 (99,2-100)
	Plasma		100 (97-100)	99,8 (98,8-100)
	Soro		100 (97-100)	99,8 (98,8-100)
Lee et al, 2011 Estados Unidos	Fluido oral	<i>OraQuick HCV Rapid Antibody Test</i>	98,1 (96,9-99,0)	99,6 (99,2-99,9)
	Sangue total		99,7 (99,9-100)	99,9 (99,5-100)
	Punção digital		99,7 (99-100)	99,9 (99,6-100)
	Plasma		99,9 (99,3-100)	99,9 (99,5-100)
	Soro		99,9 (99,3-100)	99,9 (99,5-100)
Smith et al, 2011 Estados Unidos	Soro	<i>Dual Path Platform Test</i>	97,8 (96,1-98,7)	99,8 (99-100)
		<i>Multiplo Rapid HCV/HIV Antibody Test</i>	88,3 (85,3-90,7)	99,8 (99-100)
		<i>OraQuick HCV Rapid Antibody Test</i>	99,3 (98,1-99,7)	99,5 (98,4-99,8)
Smith et al, 2011 Estados Unidos	Fluido oral	<i>Dual Path Platform Test</i>	91,2 (85,6-94,8)	81,6 (68,6-90)
	Fluido oral	<i>OraQuick HCV Rapid Antibody Test</i>	94,7	92,1

			(90,8-97)	(83,8-96,3)
	Fluido oral	<i>Dual Path Platform Test</i>	92,2 (87,5-95,2)	97,7 (92-99,4)
	Sangue total	<i>Dual Path platform test</i>	94 (90,6-96,2)	97,1 (91,8-99)
	Sangue total	<i>Multiplo Rapid HCV/HIV Antibody Test</i>	78,9 (74,6-82,7)	83,3 (71-91,5)
	Fluido oral	<i>OraQuick HCV Rapid Antibody Test</i>	92,2 (87,5-95,2)	97,2 (90,9-99,3)
	Sangue total	<i>OraQuick HCV Rapid Antibody Test</i>	97,4 (94,1-98,9)	98,6 (92,9-99,8)
Drobnik et al, 2011	Fluido oral	<i>OraQuick HCV Rapid Antibody Test</i>	93,9 (87,1-97,7)	99,5 (98,1-99,9)
Nova York				

IC = intervalo de confiança

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar o desempenho diagnóstico de testes rápidos (POCTs) para detecção do anti-HCV.

2.2 Objetivos específicos

Comparar a sensibilidade e a especificidade de testes rápidos à da quimioluminescência amplificada para detecção do anti-HCV.

Comparar a sensibilidade e a especificidade de duas marcas de testes rápidos disponíveis no mercado para a detecção do anti-HCV.

Avaliar o impacto do tempo de leitura dos testes sobre o seu desempenho diagnóstico.

3 MÉTODOS

3.1 Tipo de estudo

Estudo observacional transversal de avaliação de desempenho diagnóstico.

3.2 População e amostragem

O estudo foi realizado no Serviço de Gastroenterologia do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) no período entre janeiro de 2010 e maio de 2012.

Os sujeitos da pesquisa foram alocados em três grupos:

1. **Grupo de portadores crônicos do HCV:** indivíduos sabidamente portadores crônicos do HCV acompanhados no ambulatório de gastroenterologia do HU-UFSC em diferentes estágios da doença, com diagnóstico confirmado do HCV-RNA por PCR.
2. **Grupo controle:** indivíduos não portadores do HCV (anti-HCV não reagente) e sem antecedentes clínicos de doença hepática crônica, pareados ao grupo de portadores do HCV quanto à idade e sexo. Foram convidados a participar doadores de sangue, pacientes em acompanhamento no ambulatório de clínica médica e funcionários do HU-UFSC.
3. **Grupo controle com doença hepática:** indivíduos não portadores do HCV (anti-HCV não reagente) e portadores de outras doenças hepáticas crônicas em acompanhamento no ambulatório de gastroenterologia do HU-UFSC.

Foram considerados critérios de exclusão:

1. Imunossupressão: pacientes em tratamento quimioterápico ou imunossupressor e aqueles infectados com o HIV.
2. Pacientes em tratamento para hepatite B (com interferon) ou em tratamento para hepatite C.
3. Doença renal crônica em hemodiálise.

Para o grupo controle com doença hepática o uso de imunossupressão em pacientes diagnosticados com hepatite autoimune não foi considerado critério de exclusão.

O tamanho da amostra para cada grupo foi estimado em 95 indivíduos, considerando os seguintes parâmetros: margem de erro máxima de 2%; intervalo de confiança de 95%; sensibilidade ou especificidade diagnósticas estimadas em 99% de acordo com dados prévios divulgados pelos fabricantes (JACOBSON, 1998).

3.3 Variáveis em estudo

Variáveis clínicas e demográficas:

- Sexo, idade, raça, peso, altura, fatores de risco para hepatite C, etilismo e presença de comorbidades (HAS e DM).
- Diagnóstico da doença hepática do grupo controle com doença hepática crônica segundo dados do prontuário.
- Genótipo do vírus da hepatite C: dado coletado do prontuário dos pacientes que já haviam realizado o exame anteriormente.
- Fibrose hepática: dado coletado do prontuário dos pacientes que já haviam sido submetidos à biópsia hepática segundo a classificação de METAVIR que organiza a presença de fibrose em 5 fases (F0 = sem fibrose, F1 = fibrose sem septos, F2 = poucos septos, F3 = numerosos septos, sem cirrose e F4 = cirrose) (THE FRENCH METAVIR COOPERATIVE STUDY GROUP, 1994).

Variáveis laboratoriais:

- Testes rápidos (POCTs) para detecção do anti-HCV: foram utilizados kits de dois fabricantes para determinação qualitativa do anticorpo anti-HCV, por método imunocromatográfico.
 1. HCV Rapid Test Bioeasy® (Standard Diagnostics, Coreia do Sul / Distribuído por Bioeasy Diagnóstica Ltda, Belo Horizonte, Brasil).
 2. Imuno-Rápido HCV® (Wama Diagnostica, São Carlos, Brasil).

Tanto o HCV Rapid Test Bioeasy como o Imuno-Rápido HCV contém uma membrana, que é sensibilizada previamente com antígenos recombinantes capturados (core, NS3, NS4 e NS5). A proteína A (conjugado coloidal de ouro) e a amostra sorológica migram nesta membrana imunocromatográfica e passam pela região da linha teste “T”,

formando uma linha visível (complexo antígeno-anticorpo-proteína A de partículas de ouro com alto grau de sensibilidade e especificidade). Este dispositivo de teste tem gravado em sua superfície as letras “T” e “C”, indicando respectivamente a linha teste “T” e a linha controle “C”. A linha teste “T” e a linha controle “C” não são visíveis na janela de resultados antes da aplicação da amostra. A linha controle “C” é utilizada para controle do procedimento e deve sempre aparecer indicando que o procedimento do teste foi executado corretamente e que os reagentes estão funcionando corretamente.

Interpretação dos resultados:

Teste não reagente: Quando aparecer somente uma linha colorida na janela de resultados, a linha controle “C” (Figura 4).



Figura 4 - Exemplo de teste rápido não reagente para o anti-HCV.

Teste reagente: Quando aparecer duas linhas coloridas na janela de resultados, a linha controle “C” e a linha teste “T” (Figura 5).

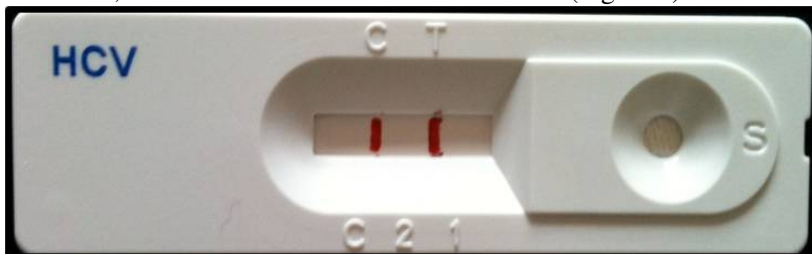


Figura 5 - Exemplo de teste rápido reagente para o anti-HCV.

Teste Inválido: Quando nenhuma linha colorida aparecer na janela de resultados dentro de 20 minutos ou quando a linha controle “C” não aparecer na janela de resultados dentro de 20 minutos (Figuras 6 e 7).

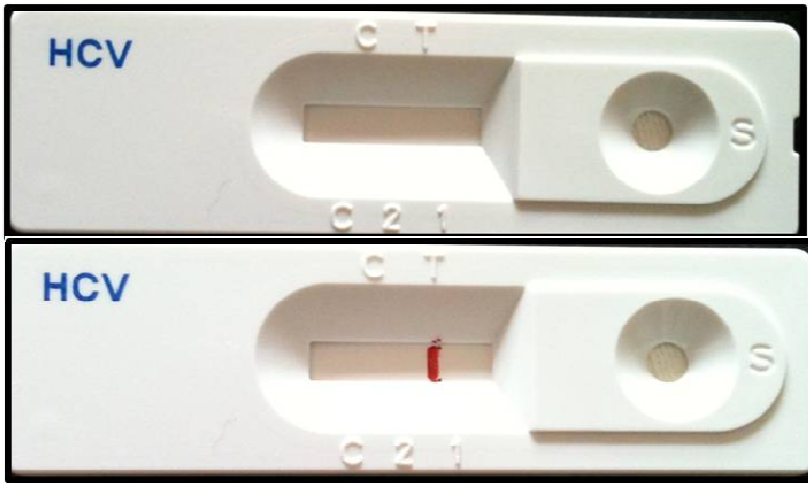


Figura 6 - Exemplos de testes rápidos inválidos para o anti-HCV.

- Anti-HCV testados por quimioluminescência amplificada (fornecedor Abbott diagnostics division – Architect system), cuja sensibilidade e especificidade são maiores que 99%.

A tecnologia de imunoensaio quimioluminescente por micropartículas é um teste de duas etapas para detecção qualitativa do anti-HCV em soro e plasma humano. Primeiramente, a amostra a ser analisada é combinada com o diluente do teste e com micropartículas paramagnéticas revestidas de antígeno recombinante do HCV. O anti-HCV presente na amostra liga-se às micropartículas revestidas com HCV. Após lavagem, um conjugado marcado com anti-acridina humana é adicionado na segunda etapa. Após outro ciclo de lavagem, as soluções deflagadoras são adicionadas à mistura de reação. A reação quimioluminescente resultante é medida em unidades relativas de luz (RLU). Existe uma relação direta entre a quantidade de anti-HCV na amostra e as RLU detectadas pelo sistema óptico do aparelho de quimioluminescência. A concentração de anti-HCV na amostra é determinada comparando-se o sinal quimioluminescente na reação com o sinal *cut off* determinado a partir de uma curva de calibração. Se o sinal quimioluminescente na amostra for maior ou igual ao sinal de *cut off*, a amostra é considerada reativa para o anti-HCV.

A detecção do anti-HCV por quimioluminescência será considerada o teste de referência para comparação do desempenho dos testes rápidos.

- Alanina aminotransferase (ALT): o método para dosagem de ALT é uma adaptação do procedimento recomendado pela IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) (INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY, 1986) para detecção quantitativa da alanina aminotransferase em soro ou plasma pelo do equipamento Dimension RL Max - Siemens, cujo valor de referência fornecido pelo fabricante é de 30 a 65 U/l.
- HCV-RNA por reação em cadeia da polimerase (PCR): a pesquisa do HCV-RNA por PCR não foi realizada especificamente para este estudo. No entanto, todos os indivíduos infectados pelo HCV apresentavam HCV-RNA detectável, realizado em algum momento do seu acompanhamento. O método de PCR rotineiramente empregado pelo Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina (referência para encaminhamento dos exames de HCV-RNA do Hospital Universitários da UFSC) na época da coleta de dados era o AMPLICOR® HCV Test 2.0 (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, USA) com limite inferior de detecção de 50 UI/mL.

3.4 Procedimentos

Os indivíduos foram avaliados consecutivamente para inclusão durante as consultas ambulatoriais de rotina e os participantes do grupo controle sem hepatopatia foram convidados durante a doação de sangue ou no seu local de trabalho. O teste rápido foi realizado nos pacientes que aceitaram participar do estudo, após terem lido e assinado o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Por meio de punção digital foram coletados 10 µl de sangue total utilizando uma micropipeta. Estas amostras foram dispensadas dentro da cavidade “S” do dispositivo do teste. A adição do diluente na cavidade “S” foi realizada conforme orientação do fabricante (4 gotas para o HCV Rapid Test Bioeasy e 3 gotas para o Imuno-Rápido HCV). A leitura dos dois testes rápidos foi realizada após 3, 5, 10, 15, 20 e 30 minutos.

A coleta de amostra por punção venosa periférica para realização do anti-HCV por quimioluminescência amplificada e dosagem de ALT

foi realizada em todos os indivíduos logo após a realização dos testes rápidos. O laboratório central do HU-UFSC realizou as análises do anti-HCV por quimioluminescência e da ALT.

3.5 Análise estatística

As variáveis numéricas foram descritas com medidas de tendência central e dispersão e as variáveis categóricas em números absolutos e proporções. As variáveis numéricas foram comparadas utilizando-se os testes *t* de *Student* ou *Mann-Whitney* quando apropriado, já as variáveis categóricas pelo teste qui-quadrado. Valor de *P* menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

O desempenho dos testes rápidos foi comparado ao anti-HCV por quimioluminescência para cálculo da sensibilidade e especificidade relativas para cada momento de leitura com os seus respectivos intervalos de confiança de 95%.

Todos os testes utilizados foram bicaudais e executados pelo programa estatístico SPSS, versão 15.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA).

4 RESULTADOS

4.1 Características da casuística

Trezentos e sete pacientes foram incluídos, sendo 103 no grupo de portadores crônicos do HCV, 103 no grupo controle e 101 no grupo controle com doença hepática.

4.1.1 Portadores crônicos do HCV

A média de idade encontrada neste grupo foi $54,7 \pm 10,8$ anos e a mediana, 54 anos. O sexo masculino foi prevalente, correspondendo a 54,4% dos casos. Dos 103 pacientes avaliados neste grupo 79 (76,7%) eram da raça branca.

Entre os portadores crônicos do HCV que participaram deste estudo, 56 possuíam resultado de genotipagem em seus prontuários. A maioria destes, 34 (60,7%), eram portadores do genótipo 1.

Com relação aos fatores de risco para infecção pelo HCV, 32 (31,1%) relataram que haviam sido submetidos à transfusão de sangue ou hemocomponentes e 23 (22,3%) tinham antecedentes de uso de drogas intravenosas. História de etilismo atual foi relatada por 5,8% dos pacientes com hepatite C crônica e etilismo prévio por 36,9%.

Entre os pacientes cronicamente infectados pelo HCV, 50 (48,5%) já haviam sido submetidos à biópsia hepática. Ausência de fibrose foi encontrada em nove pacientes (18%). Estádios 1, 2 e 3 foram encontrados em 16 (32%), 8 (16%) e 6 (12%) dos pacientes, respectivamente. Evidências histológicas de cirrose (estadiamento 4) foram encontradas em 11 pacientes (22%).

Com relação à presença de comorbidades, diabetes melitus (DM) foi relatada por 19,4% e hipertensão arterial sistêmica por 26,2% dos pacientes. A média do índice de massa corpórea (IMC) encontrada neste grupo foi de $26,6 \pm 4,9$ Kg/m² e a mediana 26,4 Kg/m². A média de ALT encontrada neste grupo foi de $90,9 \pm 53,1$ U/L e a mediana de 79,5 U/L.

4.1.2 Controles

A média e a mediana da idade encontradas no grupo controle foram de $54,4 \pm 11,2$ e 54 anos, respectivamente. Dos 103 participantes deste grupo 56 (54,4%) eram do sexo masculino e 97 (94,2%) da raça branca.

Diabetes melitus foi referida por 12 (11,7%) pacientes e hipertensão arterial por 30 (29,1%). A média do IMC neste grupo foi $27,6 \pm 4,3$

Kg/m² e a mediana 27,3 Kg/m². O valor médio da ALT encontrada foi de 46,8 ± 18,4 U/L e a mediana de 42 U/L.

4.1.3 Controles com doenças hepática

Neste grupo foi verificada uma média de idade de 44,8 ± 13,54 anos e uma mediana de 46 anos. O percentual de pacientes da raça branca neste grupo foi de 89,1% (90 pacientes). A tabela 4 apresenta as diversas doenças hepáticas encontradas entre os participantes deste grupo.

Tabela 4 - Distribuição do grupo controle com doença hepática em relação à doença de base.

Diagnóstico	n	%
Hepatite B	16	15,8
Hepatite Autoimune	15	14,9
Doença Hepática Alcoólica	14	13,9
Cirrose Criptogênica	12	11,9
Doença Hepática Gordurosa não Alcoólica	11	10,9
Em Investigação	8	7,9
Lesão Hepática por Drogas	6	5,9
Hemocromatose Hereditária	6	5,9
Doença Policística	5	5,0
Doença de Wilson	4	4,0
Cirrose Biliar Primária	3	3,0
Colangite Esclerosante Primária	1	1,0

Dos 101 pacientes com hepatopatia que participaram do estudo, 20 deles, ou seja, 20,2% apresentavam resultado de biópsia hepática em seus prontuários. Em seis pacientes (30%) não foi encontrada fibrose, em dois casos (10%) foi verificada presença de estadiamento um, em outros dois, estadiamento dois. Casos de fibrose avançada, estadiamentos 3 e 4, foram encontrados em um (5%) e nove (45%) pacientes, respectivamente. Evidências clínicas de cirrose hepática foram verificadas em 22 (21,8%) dos pacientes.

Presença de comorbidades clínicas como diabetes melitus e hipertensão arterial sistêmica foram encontradas em 22 (21,8%) e em 23 (23,8%), respectivamente. A média do IMC encontrada nestes pacientes foi de 27,5 ± 6,0 Kg/m² e a mediana 26,4 Kg/m². Uso prévio de álcool foi relatado por 22 (21,8%) dos pacientes e etilismo atual por nove

(8,9%). O valor médio da ALT foi de $73,6 \pm 55,6$ U/L e a mediana 56,0 U/L.

4.2 Comparação dos grupos de estudo

A tabela 5 demonstra a comparação das variáveis clínicas e laboratoriais entre os grupos de estudo.

Tabela 5 - Comparação das variáveis clínicas e laboratoriais entre os grupos de estudo.

Variável	Portadores Crônicos do HCV (n=103)	Controles (n=103)	P	Controles Doença Hepática (n=101)	P
Idade					
Média±DP	54,7±10,8	54,4±11,2	0,884 ^t	44,8±13,5	<0,001 ^t
Mediana	54,0	54,0		46,0	
Sexo	56	56	1,000 ^q	44	0,123 ^q
Masculino	(54,4%)	(54,4%)		(46,6%)	
Raça	79	97	<0,001 ^q	90	0,019 ^q
Branca	(76,7%)	(94,2%)		(89,1%)	
DM	20	12	0,124 ^q	22	0,676 ^q
	(19,4%)	(11,7%)		(21,8%)	
HAS	27	30	0,640 ^q	24	0,686 ^q
	(26,2%)	(29,1%)		(23,8%)	
IMC					
Média±DP	26,6 ± 4,9	27,6 ± 4,3	0,155 ^t	27,5 ± 6,0	0,260 ^t
Mediana	26,4	27,3		26,4	
ALT					
Média±DP	90,9±53,1	46,8±18,4	<0,001 ^{MW}	73,6±55,6	<0,001 ^{MW}
Mediana	79,5	42,0		56,0	

Continua

Continuação

^t Teste t. ^q Teste qui-quadrado. ^{MW} Teste de Mann-Whitney.

DM=Diabetes melítus. HAS=Hipertensão arterial sistêmica. IMC=Índice de massa corpórea. ALT=Alanina aminotransferase.

Quando comparados, o grupo de portadores crônicos do HCV e o grupo controle, não foi verificada diferença estatística em relação à idade ($P=0,884$), sexo ($P=1,000$), presença de comorbidades como DM ($P=0,124$) e HAS ($P=0,640$), assim como no valor do IMC ($P=0,155$). O grupo controle apresentou maior proporção de pacientes da raça branca quando comparados aos portadores crônicos do HCV ($P<0,001$). A média da ALT foi significativamente mais elevada nos portadores crônicos do HCV em relação ao grupo controle ($P<0,001$).

Na comparação entre os portadores crônicos do HCV e o grupo controle com hepatopatia não foi encontrada diferença estatística em relação ao sexo ($P=0,123$), presença de DM ($P=0,676$), HAS ($P=0,686$) e IMC ($P=0,260$). O grupo controle com doença hepática crônica apresentou menor média de idade e menores níveis de ALT quando comparado ao grupo de portadores crônicos do HCV ($P<0,001$). A raça branca também foi prevalente no grupo controle com hepatopatia que no grupo de portadores crônicos do HCV ($P=0,019$).

4.3 Avaliação do desempenho dos testes rápidos para detecção do Anti-HCV

A tabela 6 exhibe os resultados dos testes rápidos imunocromatográficos da marca Bioeasy e Wama em todos os tempos de leitura (3, 5, 10, 15, 20 e 30 minutos), assim como os resultados do anti-HCV por quimioluminescência.

Tabela 6 - Análise dos resultados dos testes rápidos comparados à quimioluminescência amplificada (leitura realizada em 3, 5, 10, 15, 20, 30 minutos).

	HCV Rapid Test Bioeasy *		Imuno-Rápido HCV*		Quimioluminescência Amplificada	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Portadores Crônicos do HCV (n=103)	100	3	100	3	103	0
Controles (n=103)	0	103	0	103	0	103
Controles com Doença Hepática (n=101)	0	101	0	101	0	101

*Resultados iguais para todos os momentos de leitura.

Resultados falso-negativos foram observados em três indivíduos com infecção confirmada pelo HCV nas duas marcas de testes rápidos. Nenhum resultado falso positivo foi encontrado com ambos os testes rápidos.

A sensibilidade e a especificidade relativas dos testes rápidos em relação ao grupo controle estão demonstradas na tabela 7. Não foi verificada alteração da sensibilidade ou especificidade dos testes nos diferentes tempos de leitura.

Tabela 7 - Avaliação da sensibilidade e especificidade dos testes rápidos em relação ao grupo controle comparados à quimioluminescência amplificada (leitura realizada em 3, 5, 10, 15, 20, 30 minutos).

Teste rápido	Sensibilidade* (IC 95%)	Especificidade* (IC 95%)
HCV Rapid Test Bioeasy	97,1% (91,7% - 99,4%)	100% (96,4% - 100%)
Imuno-Rápido HCV	97,1% (91,7% - 99,4%)	100% (96,4% - 100%)

Continua

Continuação

*Resultados iguais para todos os momentos de leitura.

IC95% = Intervalo de confiança de 95%

5 DISCUSSÃO

Um teste sorológico é considerado válido quando consegue reproduzir os resultados dos testes que identificam a presença ou ausência de uma substância no soro em um nível de confiança estatisticamente pré-estabelecido (JACOBSON, 1998). De acordo com informações fornecidas pelos fabricantes e presentes em bula, o HCV Rapid Test Bioeasy® e o Imuno-Rápido HCV® apresentaram em estudos preliminares sensibilidade de 100% e especificidade de 99,4% e 99,8%, respectivamente. No entanto, existe uma escassez de dados de estudos independentes em relação a estas duas marcas de POCTs comumente empregadas no Brasil.

5.1 Características da Casuística

Entre os portadores crônicos do HCV foi encontrada uma média de idade de $54,7 \pm 10,8$ anos, com mediana de 54 anos. Estes resultados foram semelhantes aos observados por Focaccia e colaboradores em um estudo de prevalência realizado na cidade de São Paulo, no qual o pico de prevalência da hepatite C se concentrava entre 50 e 59 anos (FOCACCIA, DA CONCEIÇÃO et al., 1998). Cinquenta e quatro por cento dos pacientes com hepatite C crônica eram do sexo masculino, dado similar às estatísticas brasileiras de distribuição de acordo com o sexo (FAGUNDES, BONAZZA et al., 2008; PEREIRA, MARTELLI et al., 2013). O estado de Santa Catarina apresenta uma população predominantemente branca, colonizada basicamente por imigrantes europeus. Embora a maioria dos pacientes com HCV nesta casuística sejam brancos, houve diferença estatística quando comparados com o grupo de controle. Apesar deste não ter sido o foco do presente estudo, este achado pode ser justificado pela maior prevalência do HCV em afrodescendentes, bem como a menor taxa de resposta viral em pacientes negros (FLECKENSTEIN, 2004; ASLINIA, WASAN et al., 2012; RODRIGUEZ-TORRES, BURGUERA et al., 2012).

Nesse estudo, o genótipo 1 foi encontrado em 60,7% dos pacientes que haviam realizado genotipagem previamente. Estes resultados são semelhantes aos observados em diversos outros estudos realizados em âmbito nacional, nos quais o genótipo 1 foi o mais prevalente (PARABONI, SBEGHEN et al., 2012; PEREIRA, MARTELLI et al., 2013).

Dados da literatura relacionados à transmissão da hepatite C apontam a transfusão sanguínea e o uso de drogas intravenosas como as duas principais formas de aquisição deste vírus (YEN, KEEFFE et al., 2003; ALTER, 2007). Neste estudo, mais da metade da amostra portadora do HCV apresentava histórico de hemotransfusão ou de uso de drogas intravenosas (31,1% e 22,3% respectivamente).

A biópsia hepática é utilizada como "padrão áureo" para a avaliação do estadiamento e do grau de atividade na hepatite C crônica. A classificação de METAVIR é amplamente utilizada no estadiamento e acompanhamento dos pacientes com HCV (THE FRENCH METAVIR COOPERATIVE STUDY GROUP, 1994). Neste estudo, 50 portadores do HCV já haviam sido submetidos à biópsia hepática para acompanhamento da doença. Ausência de fibrose foi observada em 18%, fibrose em estágio inicial, ou F1 em 32%, enquanto cirrose, ou F4 pôde ser observada em 22%. Estes dados são semelhantes aos do estudo publicado em 1997 que reuniu grandes coortes de pacientes com hepatite C (OBSVIRC, DOSVIRC e a população original utilizada na classificação de METAVIR), no qual o estágio inicial foi encontrado em 36,1% e cirrose ou estágio 4 em 17,9% (POYNARD, BEDOSSA et al., 1997). A presença de fibrose avançada nesta casuística reforça os dados relatados na literatura em relação ao risco de desenvolvimento de cirrose hepática na hepatite C crônica (AFDHAL, 2004).

No presente estudo, a proporção de diabéticos foi maior entre o grupo de infectados com o HCV quando comparado aos controles, porém sem significância estatística (19,4% vs. 11,7%). Também não foi encontrada diferença estatística com relação ao índice de massa corporal entre os diferentes grupos deste estudo. A associação entre cirrose e diabetes melitus tipo 2 tem sido sugerida na literatura e, de acordo com estudos, até 70% dos pacientes com cirrose têm tolerância à glicose diminuída (ALLISON, WREGHITT et al., 1994). O vírus da hepatite C pode ser diretamente citotóxico para os hepatócitos infectados levando à resistência insulínica por diminuição da expressão de IRS-1 (*insulin receptor substrates*), alterando o percurso normal da entrada de glicose na célula ou podendo levar a danos hepáticos indiretos relacionados à liberação de citocinas como interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa, sabidamente relacionados à resistência insulínica. No entanto, o mecanismo exato para explicar a associação do DM ao HCV ainda não foi estabelecido (NAING, MAK et al., 2013). A presença de esteatose hepática é significativamente maior em pacientes com hepatite C crônica infectados com o genótipo 3 do que no caso de infecção com outros genótipos virais (RUBBIA-BRANDT, QUADRI et al., 2000). Além

disso, estudos relataram que a resistência insulínica reduz a taxa de resposta ao tratamento antiviral em pacientes com HCV (ROMERO-GOMEZ, DEL MAR VILORIA et al., 2005; DAI, HUANG et al., 2009; NAING, MAK et al., 2013). O fato de não ter sido observada diferença estatística no presente estudo provavelmente está relacionado ao tamanho da amostra, já que o plano amostral não foi definido com esta finalidade.

A prevalência de consumo de bebidas alcoólicas nas capitais brasileiras e no Distrito Federal variou de 32,4% a 58,6% em uma coleta de dados realizada pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2003). Neste estudo, entre os 103 portadores crônicos do vírus da hepatite C avaliados, 36,9% apresentavam relato de uso de álcool previamente ao diagnóstico da hepatite C. Observou-se também uma redução do uso de bebidas alcoólicas após o diagnóstico de hepatite C para 5,8% dos casos. Além disso, 13,9% dos pacientes do grupo controle com hepatopatia crônica apresentavam doença hepática relacionada ao uso desta substância. Ainda hoje, o uso de bebidas alcoólicas representa a principal causa de doença hepática crônica em todo mundo (O'SHEA, DASARATHY et al., 2010). Apesar do consumo de álcool estar caracteristicamente associado à maior progressão da fibrose hepática em pacientes cronicamente infectados pelo HCV, a análise deste cofator é tarefa difícil, seja por existir grande variabilidade na coleta desta informação ou pelo fato do maior consumo de álcool estar associado ao sexo masculino, condição que também está relacionada à maior chance de fibrose hepática (POYNARD, BEDOSSA et al., 1997).

Neste estudo, os pacientes com HCV apresentaram ALT média de $90,9 \pm 53,11$ U/l e mediana de 79,5 U/l (valor de referência = 30 a 65 U/l). Apesar do valor médio de elevação da ALT ter sido menor que duas vezes o limite superior da normalidade, esta alteração se apresentou estatisticamente significativa quando comparada aos pacientes controles ($46,83 \pm 18,37$ e mediana 42 U/l). Os pacientes do grupo controle com hepatopatia crônica também apresentaram média de ALT estatisticamente inferior aos pacientes com HCV ($73,61 \pm 55,8$ e mediana 56,00 U/l). Esta diferença na ALT entre os portadores crônicos do HCV e os controles com hepatopatia crônica, pode ser justificada pelo fato destes últimos estarem, na maioria das vezes, recebendo tratamento específico para a doença de base. A aspartato aminotransferase (AST) e a ALT são enzimas utilizadas na prática clínica para acompanhamento de muitas doenças hepáticas, inclusive a hepatite C. Apesar dos pacientes cronicamente infectados pelo HCV

apresentarem elevações flutuantes destas enzimas, aproximadamente 30% deles apresentam concentrações de ALT normais. Mesmo com ALT e AST dentro da normalidade estes pacientes podem apresentar doença hepática progressiva e desenvolver fibrose avançada ou cirrose (MARCELLIN, LEVY et al., 1997; BACON, 2002).

5.2 Testes rápidos

Diversas marcas de testes rápidos para detecção do anti-HCV estão disponíveis no mercado e vários estudos, em diferentes partes do mundo, foram realizados com objetivo de verificar a sensibilidade e a especificidade destes testes. No entanto, as diferenças nas metodologias aplicadas, no tipo de material analisado, nos testes utilizados para comparação com o teste rápido, na inclusão de pacientes imunodeprimidos, principalmente os HIV positivos, além da diferença entre as prevalências nas populações estudadas, tornam difícil uma comparação entre os estudos e, principalmente, transposição destes resultados para o nosso meio.

Vários materiais como sangue total, plasma, soro, ou fluido oral já foram estudados na realização de testes rápidos para detecção do anti-HCV. Neste estudo foi utilizado 10 µl de sangue total coletado por punção digital para a realização dos testes. A sensibilidade e especificidade dos testes utilizando sangue total foram calculadas em 97,1% e 100%. Uma metanálise publicada em 2012 mostrou que entre os estudos que avaliaram POCTs com soro ou plasma foi encontrada sensibilidade combinada de 98,9% e especificidade combinada de 99,7%. Aqueles estudos que utilizaram POCTs de sangue total ou por punção digital encontraram sensibilidade e especificidade combinadas de 98,9% e 99,5%, respectivamente. RDTs que utilizam soro ou plasma mostraram sensibilidade combinada de 98,4% e especificidade combinada de 98,6%. Já as análises sobre POCTs de fluido oral evidenciaram sensibilidade e especificidade combinadas de 97,1% e 98,2% (SHIVKUMAR, PEELING et al., 2012)

O OraQuick HCV Rapid Antibody Test® foi avaliado em cinco diferentes amostras incluindo soro, plasma, sangue venoso, sangue total coletado por punção digital e fluido oral. A sensibilidade variou de 99,2 a 100% e a especificidade de 99,8 a 100% nas diferentes amostras (LEE, YEARWOOD et al., 2010). Uma outra análise que utilizou o OraQuick HCV Rapid Antibody Test®, constatou que, embora considerada alta, a sensibilidade de 98,1% foi um pouco menor para fluidos orais que nas outras amostras (SMITH, TESHLE et al., 2011).

A maior ocorrência de resultados falsos negativos nos estudos que utilizaram POCTs com fluido oral quando comparados aos que usaram POCTs com sangue total pode ser devido a menor concentração de anticorpos ou à mais fraca ligação ao fluido oral do que nas amostras de sangue (DE COCK, HUTSE et al., 2004; SHIVKUMAR, PEELING et al., 2012). Apesar disso, um estudo realizado em 2011 mostrou que os testes OraQuick realizados por meio de *swab* oral mostrou taxa de concordância de 97,5% quando comparado ao ELISA (DROBNIK, JUDD et al., 2011).

A maioria dos estudos publicados avaliou a acurácia de diversas marcas de testes rápidos em relação aos testes ELISA. No presente estudo, optou-se pela comparação da sensibilidade e especificidade das duas marcas de testes rápidos com a pesquisa do anti-HCV por quimioluminescência amplificada. Dados da literatura indicam que a CLIA além de apresentar características inerentes à própria técnica, como precisão, confiabilidade, simplicidade, rapidez e automatização, oferece outras vantagens para a detecção do anti-HCV (KIM, KIM et al., 2008). A melhora na especificidade e no valor preditivo positivo estão entre as principais vantagens atribuídas à quimioluminescência. A maior especificidade desta técnica seria particularmente útil em populações de baixo risco para o HCV, reduzindo consideravelmente a liberação de resultados falsos positivos e em consequência, diminuição de custos devido a menor necessidade de utilização de exames confirmatórios (DUFOR, TALASTAS et al., 2003).

Um estudo conduzido no Brasil, em uma pequena cidade do interior do Paraná (Tamboara), também utilizou a quimioluminescência para avaliação do desempenho do HCV Rapid Test Bioeasy® e encontrou sensibilidade e especificidade de 100% e 92,7%, respectivamente. Apesar do diagnóstico ter sido confirmado pela quimioluminescência e pelo PCR em todos os pacientes com teste rápido positivo para o anti-HCV, apenas 10% dos pacientes com resultados negativos foram conferidos (IVANTES, SILVA, MESSIAS-REASON, 2010).

Poovorawan e colaboradores utilizaram amostras de sangue de pacientes com hepatopatia crônica para avaliar o desempenho do HCV Spot® em relação ao ELISA. Neste estudo, os resultados positivos foram confirmados pelo teste immunoblot, enquanto no presente trabalho, o grupo de portadores crônicos do HCV, ou verdadeiros positivos, já apresentavam diagnóstico prévio de hepatite C confirmado por meio de HCV-RNA por PCR. A sensibilidade e especificidade encontradas foram de 97,6% e 92,6%, respectivamente, com valor

preditivo positivo de 78,8%, valor preditivo negativo de 99,3% e acurácia de 93,6% (POOVORAWAN, THEAMBOONLERS et al., 1994). Um outro estudo, realizado em soro de doadores de sangue, em Zimbábue, avaliou a presença de anticorpos contra o HCV utilizando este mesmo teste e revelou especificidade 97,0% e sensibilidade de 98,5% quando comparadas ao ELISA de segunda geração (MVERE, CONSTANTINE et al., 1996). O teste Genelabs Diagnóstica HCV Spot® utiliza técnica de imunofiltração para pesquisa qualitativa do anticorpo contra o HCV (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Um estudo italiano encontrou sensibilidade de 100% e apenas um resultado falso-positivo quando o teste rápido Anti-HCV Ab Rapid Test®, foi realizado em 50 amostras de sangue total com ELISA positivo para o Anti-HCV e em 50 amostras negativas para o anticorpo (MONTEBUGNOLI, BOREA et al., 1999). Apesar deste estudo não ter utilizado o PCR para confirmação diagnóstica da presença da infecção pelo HCV, o teste RIBA foi utilizado para confirmação do anticorpo. Em nosso trabalho, foi utilizado princípio metodológico semelhante ao estudo italiano, no qual pacientes verdadeiramente positivos foram comparados aos verdadeiramente negativos em relação à acurácia do teste.

Na Índia, um estudo que avaliou o teste Diagnos HCV Bi-Dot® (J. Mitra Co. Ltd) em amostras de soro, encontrou 100% de especificidade e apenas 87,5% de sensibilidade (KAUR, DHANAO et al., 2000). Apesar do Diagnos HCV Bi-Dot® utilizar os mesmos antígenos recombinantes que os dois testes utilizados no presente estudo (Core, NS3, NS4 e NS5), utiliza tecnologia de imunofiltração, enquanto os testes HCV Rapid Test Bioeasy® e Imuno-Rápido®, imunocromatografia. Além disso, portadores do HIV também foram incluídos no estudo indiano, o que poderia justificar o número relativamente elevado de resultados falso-negativos.

Com metodologia semelhante à empregada no presente estudo, autores chineses investigaram a acurácia do teste SM-HCV Rapid Test® (SERO-Med Laborspezialitäten GmbH, Eichstätt, Germany) em um estudo com dois grupos controles, sendo um de participantes saudáveis e outro de portadores de outras hepatopatias crônicas, que não hepatite C. No trabalho chinês, apenas um paciente portador de outra doença hepática crônica apresentou resultado falso-positivo quando comparado ao ELISA de terceira geração (YUEN, HUI et al., 2001). Na presente casuística, todos os pacientes do grupo controle apresentaram resultados negativos em ambos os testes rápidos, o que sugere não haver fatores

relacionados à doença hepática que possam estar associados a resultados falso-positivos.

Um grande estudo indiano avaliou um total de 2590 amostras de soro, sendo 61% dos indivíduos considerados de baixo risco e 39% de alto risco para infecção pelo HCV. O teste HCV Tri-Dot® (J. MITRA & Co. Ltd., New Delhi, Índia) foi comparado ao ELISA III e apresentou alto valor preditivo negativo, sugerindo que este teste possa ser utilizado em programas de triagem (DANIEL, ABRAHAM et al., 2005). O Brasil, assim como a Índia, é considerado um país com prevalência intermediária de hepatite C e testes com alta sensibilidade e valor preditivo negativo devem ser utilizados para triagem populacional. Com as taxas de sensibilidade observadas no presente estudo, os valores preditivos negativos estimados para praticamente todos os cenários possíveis de prevalência de hepatite C (0,5 a 20%) seriam altos (99,6% a 98%, respectivamente). Na presente pesquisa, apenas três pacientes comprovadamente portadores do HCV apresentaram resultado falso-negativo do anti-HCV quando comparados à quimioluminescência. Estes resultados falso-negativos ocorreram com os mesmos pacientes nas duas marcas de testes rápidos estudadas, sugerindo que a falha em identificar o anticorpo seja relacionada à técnica do exame e não à marca do mesmo.

Três testes rápidos, OraQuick HCV Rapid Antibody Test®, Chembio DPP HCV test® e Multiplo Rapid HIV/HCV Antibody Test®, foram estudados e comparados à quimioluminescência e ao RIBA de terceira geração quando necessário (SMITH, DROBENIUC et al., 2011). A sensibilidade e especificidade dos 3 testes rápidos variou de 86,8% a 97,8% e de 99,6% a 99,8%, respectivamente. A sensibilidade do OraQuick foi superior a do Chembio ($P = 0,012$) e a do Multiplo Rapid HIV/HCV Antibody Test ($P < 0,001$). A sensibilidade também foi maior do Chembio que do Multiplo Rapid HIV/HCV Antibody Test ($P < 0,001$). Não houve diferenças significativas entre os resultados de especificidade dos três testes rápidos. Um outro estudo multicêntrico avaliou estes mesmos testes em uma população de alto risco para hepatite C e observou grande variabilidade de resultados. A sensibilidade oscilou de 78,9% a 97,4% e a especificidade de 80,0% a 100,0%. Na análise multivariada, resultados falso-negativos do anti-HCV foram associados a infecção pelo HIV (SMITH, TESHALE et al., 2011).

Apesar de vários estudos citarem que a liberação dos resultados dos testes rápidos possa ser feita em 3 a 5 minutos, não existem dados a respeito da comparação da acurácia destes exames em diferentes

momentos de leitura (YUEN, HUI et al., 2001; DANIEL, ABRAHAM et al., 2005). Além disso, é provável que questões metodológicas específicas de cada teste influenciem no tempo de leitura e, portanto, estudos específicos para cada marca são necessários a fim de confirmar o melhor intervalo para liberação dos resultados. Segundo informações dos fabricantes a leitura do HCV Rapid Test Bioeasy® deve ser realizada entre 15 e 20 minutos e a do Imuno-Rápido HCV® entre 10 e 15 minutos, sendo que nenhuma leitura deve ser interpretada após 20 minutos. No presente estudo não foi observada mudança no desempenho dos testes rápidos a partir do terceiro minuto de leitura. Apesar de não ser possível sugerir modificações nos procedimentos de interpretação dos resultados destes testes, estes achados podem servir como parâmetro para novos estudos que avaliarão testes rápidos para detecção do anti-HCV.

É possível concluir que os POCTs imunocromatográficos utilizados neste estudo (HCV Rapid Test Bioeasy® e Imuno-Rápido HCV®) para a detecção de anticorpos anti-HCV demonstraram elevada sensibilidade e especificidade, sem alteração no desempenho após o terceiro minuto de leitura. Embora futuros estudos de triagem sejam necessários para confirmar esses dados, estes resultados sugerem que os testes possam ser liberados mais rapidamente do que anteriormente recomendado, o que poderia aumentar a adesão às campanhas de rastreamento da hepatite C.

5.3 Limitações

O presente estudo foi realizado dentro de um hospital universitário em serviço de referência para gastroenterologia com pacientes previamente acompanhados por HCV. Esta amostra de pacientes portadores do HCV não necessariamente reflete a população que será alvo destes testes. Além disso, não foram incluídos no presente estudos pacientes com diagnóstico de HIV. Como os vírus da hepatite C e HIV compartilham as mesmas formas de transmissão, pode haver discordância entre os resultados obtidos neste estudo e em pacientes coinfectados.

6 CONCLUSÕES

- Os testes rápidos (POCTs) HCV Rapid Test Bioeasy® e Imuno-Rápido HCV® demonstraram elevada sensibilidade e especificidade para a detecção de anticorpos anti-HCV.
- O desempenho dos testes rápidos estudados foi semelhante ao da quimioluminescência amplificada para detecção do anti-HCV.
- Não houve diferença na comparação do desempenho dos HCV Rapid Test Bioeasy® e o Imuno-Rápido HCV®.
- Não houve diferença no desempenho diagnóstico das duas marcas de testes rápidos em relação ao tempo de leitura.

REFERÊNCIAS

- AFDHAL, N. H. The natural history of hepatitis C. *Semin Liver Dis*, v. 24 suppl 2, p. 3-8, set. 2004.
- ALARY, M.; JOLY, J. R.; et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C virus in a prospective cohort study of men who have sex with men. *Am J Public Health*, v. 95, n. 3, p. 502-505, mar. 2005.
- ALLISON, M. E.; WREGHITT, T.; et al. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *J Hepatol*, v. 21, n.6, p. 1135-1139, dec. 1994.
- ALTER, H. J.; PURCELL, R. H.; et al. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet*, v. 1, n. 8062, p. 459-463, mar. 1978.
- ALTER, H. J.; PURCELL, R. H.; et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med*, v. 321, n. 22, p. 1494-1500, nov. 1989.
- ALTER, H. J.; SEEFF, L. B. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome. *Semin Liver Dis*, v. 20, n. 1, p. 17-35, jul. 2000.
- ALTER, M. J. Prevention of spread of hepatitis C. *Hepatology*, v. 36, n. 5 Supp 1, p. S93-98, nov. 2002.
- ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*, v. 13, n. 17, p. 2436-2441, may. 2007.
- ALTER, M. J.; KRUSZON-MORAN, D.; et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med*, v. 341, n. 8, p. 556-562, aug. 1999.
- ALTER, M. J.; KUHNERT, W. L.; FINELLI, L. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep*, v. 52, n. RR-3, 1-13, 15; quiz CE1-4, feb. 2003.

ALTER, M. J.; MARGOLIS, H. S.; et al. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. The Sentinel Counties Chronic non-A, non-B Hepatitis Study Team. *N Engl J Med*, v. 327, n. 27, p. 1899-1905, dec. 1992.

ASLINIA, F. M.; WASAN, S. K.; et al. End-stage renal disease and African American race are independent predictors of mild liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection. *J Viral Hepat*, v. 19, n. 5, p. 371-376, may. 2012.

BACON, B. R. Treatment of patients with hepatitis C and normal serum aminotransferase levels. *Hepatology*, v. 36, n. 5 Suppl 1, p. S179-184, nov. 2002.

BERMANN, M.; ALTER, H. J.; et al. The chronic sequelae of non-A, non-B hepatitis. *Ann Intern Med*, v. 91, n.1, p. 1-6. jul. 1979.

BLUMBERG, B. S.; ALTER, H. J.; VISNICH, S. A "New" Antigen in Leukemia Sera. *JAMA*, v. 191, p. 541-546, feb. 1965.

BRANDAO, A. B.; FUCHS, S. C.; et al. Diagnosis of hepatitis C in clinical practice: review of the literature. *Rev Panam Salud Publica*, v. 9, n.3, p. 161-168, mar. 2001.

BUSCH, M. P.; KLEINMAN, S. H.; NEMO, G. J. Current and emerging infectious risks of blood transfusions. *JAMA*, v. 289, n.8, p. 959-962, feb. 2003.

BUSCH, M. P.; WILBER, J. C.; et al. Impact of specimen handling and storage on detection of hepatitis C virus RNA. *Transfusion*, v. 32, n.5, p. 420-425, jun. 1992.

CABEZAS-FERNANDEZ, M.; CABEZA-BARRERA, M. Introduction of an automated system for the diagnosis and quantification of hepatitis B and hepatitis C viruses. *Open Virol J*, v. 6, p. 122-134, nov. 2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR Recomm Rep*, v. 47, n. RR-19, p. 1-39, oct. 1998.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Hepatitis C. Disponível em:
<http://www.cdc.gov/hepatitis/HCV/HCVfaq.htm#section2>.
Acesso em: 15 de set. 2013

CHEVALIEZ, S.; PAWLOTSKY, J. M. Hepatitis C virus serologic and virologic tests and clinical diagnosis of HCV-related liver disease. *Int J Med Sci*, v. 3, n. 2, p. 35-40, apr. 2006.

CHOO, Q. L.; KUO, G.; et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, v. 244, n. 4902, p. 359-362, apr. 1989.

CHOU, R., HARTUNG, D.; et al. Comparative effectiveness of antiviral treatment for hepatitis C virus infection in adults: a systematic review. *Ann Intern Med*, v. 158, n. 2, p. 114-123, jan. 2013.

CLERC, O; GREUB, G. Routine use of point-of-care tests: usefulness and application in clinical microbiology. *Clin MicrobiolInfect*, v. 16, n.8, p. 1054-1061, aug. 2010.

DAI, C. Y.; HAUANG, J. F.; et al. Insulin resistance predicts response to peginterferon-alpha/ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol*, v. 50, n.4, p. 712-718, apr. 2009.

DANIEL, H. D.; ABRAHAM, P.; et al. Evaluation of a rapid assay as an alternative to conventional enzyme immunoassays for detection of hepatitis C virus-specific antibodies. *J Clin Microbiol*, v. 43, n. 4, p. 1977-1978, apr. 2005.

DE CARVALHO, H. B.; MESQUITA, F.; et al. HIV and infections of similar transmission patterns in a drug injectors community of Santos, Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, v. 12, n.1, p. 84-92, may. 1996.

DE COCK, L.; HUTSE, V.; et al. Detection of HCV antibodies in oral fluid. *J Virol Methods*, v. 122, n.2, p. 179-183, mar. 2004.

DEWAR, T. N. Non-A, non-B hepatitis. *West J Med*, v. 153, n.2, p. 173-179, aug. 1990.

DOMINGO, E. Quasispecies and the implications for virus persistence and escape. *Clin Diagn Virol*, v. 10, n. 2-3, p. 97-101, jul. 1998.

DONAHUE, J. G.; MUNHOZ, A.; et al. The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, v. 327, n. 6, p. 369-373, aug. 1992.

DROBNIK, A.; JUDD, C.; et al. Public health implications of rapid hepatitis C screening with an oral swab for community-based organizations serving high-risk populations. *Am J Public Health*, v.101, n.11, p. 2151-2155, nov. 2011.

DOFOUR, D. R.; TALASTAS, M.; et al. Chemiluminescence assay improves specificity of hepatitis C antibody detection. *Clin Chem*, v. 49, n.6 pt 1, p. 940-944, jun. 2003.

FAGUNDES, G. D.; BONAZZA, V.; et al. Detection of the Hepatitis C virus in a population of adults. *Rev Lat Am Enfermagem*, v. 16, n.3, p. 396-400, may./jun. 2008.

FARCI, P.; ALTER, H. J.; et al. Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. *N Engl J Med*, v. 335, n.9, p. 631-634, aug.1996.

FEISTONE, S. M.; KAPIKIAN, A. Z.; PURCELL, R. H. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. *Science*, v. 182, n. 4116, p. 1026-1028, dec. 1973.

FERREIRA-GONZALEZ, A; SHIFFMAN, M. L. Use of diagnostic testing for managing hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis*, v. 24 Suppl 2, p. 9-18, 2004.

FLECKENSTEIN, J. Chronic hepatitis C in African Americans and other minority groups. *Curr Gastroenterol Rep*, v. 6, n.1, p. 66-70, feb. 2004.

FREEMAN, G. Epidemiology and incubation period of jaundice following yellow fever vaccination. *Am J Trop Med Hyg*, v. 26, p. 15-32, jan. 1946.

FOCACCIA, R., O. J.; DA CONCEIÇÃO; et al. Estimated Prevalence of Viral Hepatitis in the General Population of the Municipality of Sao Paulo, Measured by a Serologic Survey of a Stratified, Randomized and Residence-Based Population. *Braz J Infect Dis*, v. 2, p. 269-284, 1998.

FONSECA, J. C. History of viral hepatitis. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 43, n.3, p. 322-330, may./jun. 2010.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. OraQuick® HCV Rapid Antibody Test, 2010. Disponível em: http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf8/p080027s001a.pdf. Acesso em: 08 jun. 2013.

FORNS, X; COSTA, J. HCV virological assessment. *J Hepatol*, v. 44, Suppl. 1, p. S35-39, 2006.

FRANK, C.; MOHAMED, M. K.; et al. The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. *Lancet*, v. 355, n. 9207, p. 887-891, mar. 2000.

FREITAS, J. Hepatites víricas perspectiva histórica, 2003. Disponível em: <http://www.aidsportugal.com/Modules/WebC_Docs/GetDocument.aspx?DocumentId=256&Version=2>. Acesso em: 0 jun. 2013.

FRIED, M. W.; SHIFFMAN, M. L.; et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, v. 347, n. 13, p. 975-982, sep. 2002.

GOLDBERG, D.; MCINTYRE, P. G.; et al. Hepatitis C virus among high and low risk pregnant women in Dundee: unlinked anonymous testing. *BJOG*, v. 108, n. 4, p. 365-370, apr. 2001.

GRETCH, D. R. Diagnostic tests for hepatitis C. *Hepatology*, v. 26, n. 3 Suppl. 1, p.43S-47S, sep. 1997.

HALEY, R. W; FISCHER, R. P. Commercial tattooing as a potentially important source of hepatitis C infection. *Clinical epidemiology of 626 consecutive patients unaware of their hepatitis C serologic status. Medicine, Baltimore*, v. 80, n. 2, p. 134-151, mar. 2001.

HIMOTO, T; MASAKI, T. Extrahepatic manifestations and autoantibodies in patients with hepatitis C virus infection. *Clin Dev Immunol*, v. 2012, p. 871401, sep. 2012.

HOOFNAGLE, J. H.; GERETY, R. J.; et al. Transmission of non-A, non-B hepatitis. *Ann Intern Med*, v. 87, n.1, p. 14-20, jul. 1977.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Consumo de álcool. 2003. Disponível em:
<<http://www.inca.gov.br/inquerito/docs/consumoalcohol.pdf>>. Acesso em 08 jun. 2013.

INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY. Enzymes, III. IFCC Method for alanine aminotransferase. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem*, v. 24, p. 481-495, 1986.
Disponível em:
<<http://edoc.hu-berlin.de/oa/degruyter/cclm.1986.24.7.481.pdf>>. Acesso em 19 jul. 2013.

IVANTES, C. A.; SILVA, D.; MESSIAS-REASON, I. High prevalence of hepatitis C associated with familial history of hepatitis in a small town of south Brazil: efficiency of the rapid test for epidemiological survey. *Braz J Infect Dis*, v. 14, n. 5, p. 483-488, sep./oct., 2010.

JACOBSON, R. H. Validation of serological assays for diagnosis of infectious diseases. *Rev Sci Tech*, v. 17, n. 2, p. 469-526, aug. 1998.

KAMILI, S.; DROBENIUC, J.; et al. Laboratory diagnostics for hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*, v. 55 Suppl 1, p. S43-48, jul. 2012.

KAUR, H.; DHANAO, J.; OBEROI, A. Evaluation of rapid kits for detection of HIV, HBsAg and HCV infections. *Indian J Med Sci*, v. 54, n. 10, p.432-434, oct. 2000.

KIM, S.; KIM, J. H.; et al. Clinical performance evaluation of four automated chemiluminescence immunoassays for hepatitis C virus antibody detection. *J Clin Microbiol*, v. 46, n. 12, p. 3919-3923, dec. 2008.

KLEIN, R. S.; FREEMAN, K.; et al. Occupational risk for hepatitis C virus infection among New York City dentists. *Lancet*, v. 338, n. 8782-8783, p. 1539-1542, dec. 1991.

KNOBLER, H.; SCHIHMANter, R.; et al. Increased risk of type 2 diabetes in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C virus infection. *Mayo Clin Proc*, v. 75, n. 4, p. 355-359, apr. 2000.

KRUGMAN, S.; GILES, J. P.; HAMMOND, J. Infectious hepatitis. Evidence for two distinctive clinical, epidemiological, and immunological types of infection. *JAMA*, v. 200, n.5, p. 365-373, may. 1967.

KUO, G.; CHOO, Q. L.; et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*, v. 244, n. 4902, p. 362-364, apr. 1989.

KUPEK, E. Transfusion risk for hepatitis B, hepatitis C and HIV in the state of Santa Catarina, Brazil, 1991-2001. *Braz J Infect Dis*, v. 8, n.3, p. 236-240, jun. 2004.

LAVANCHY, D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int*, v. 29 Suppl. 1, p. 74-81, jan. 2009.

LEE, S. R.; YEARWOOD, G. D.; et al. Evaluation of a rapid, point-of-care test device for the diagnosis of hepatitis C infection. *J Clin Virol*, v. n.1, 48, p. 15-17, may. 2010.

LINDENBACH, B. D; RICE, C. M. Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. *Nature*, v. 436, n. 7053, p. 933-938, aug. 2005.

MACCALLUM, F. O. 1971 International Symposium on Viral Hepatitis. Historical perspectives. *Can Med Assoc J*, v. 106, p.423-426, feb. 1972.

MAGDER, L. S.; Fix, A. D.; et al. Estimation of the risk of transmission of hepatitis C between spouses in Egypt based on seroprevalence data. *Int J Epidemiol*, v. 34, n.1, p. 160-165, feb. 2005.

MAHESHWARI, A.; RAY, S.; THULUVATH, P. J. Acute hepatitis C. *Lancet*, v. 372, n. 9635, p. 321-332, jul. 2008.

MARCELLIN, P.; LEVY, S.; ERLINGER, S. Therapy of hepatitis C: patients with normal aminotransferase levels. *Hepatology*, v. 26, n. 3 Suppl. 1, p. 133S-136S, sep. 1997.

MARKS, K. M.; JACOBSON, I. M. The first wave: HCV NS3 protease inhibitors telaprevir and boceprevir. *Antivir Ther*, v. 17, n. 6 Pt B, p. 1119-1131, oct. 2012.

MARTELL, M.; ESTEBAN, J. I.; et al. Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closely related genomes: quasispecies nature of HCV genome distribution. *J Virol*, v. 66, n. 5 p. 3225-3229, may. 1992.

MARTINS, T. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da hepatite C em idosos residentes em Tubarão/SC, Universidade do Sul de Santa Catarina, 2011.

MARTINS, T.; NARCISO-SCHIAVON, J. L.; SCHIAVON, L. L. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *Rev Assoc Med Bras*, v. 57, n. 1, p. 107-112, jan./fev. 2011.

MASSARD, J.; RATZIU, V.; et al. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol*, v. 44, Suppl 1, p. S19-24, nov. 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Inquérito Nacional de Hepatites A, B e C, Brasil, 2011.

MONTEBUGNOLI, L.; BOREA, G.; et al. A rapid test for the visual detection of anti-hepatitis C virus antibodies in whole blood. *Clin Chim Acta*, v. 288, n. 1-2, p. 91-96, oct. 1999.

MORGAN, H. V.; WILLIAMSON, D. A. Jaundice following Administration of Human Blood Products. *Br Med J*, v. 1, n. 4302, p. 750-753, jun. 1943.

MVERE, D.; CONSTANTINE, N. T.; et al. Rapid and simple hepatitis assays: encouraging results from a blood donor population in Zimbabwe. *Bull World Health Organ*, v. 74, n. 1, p. 19-24, 1996.

NAING, C.; MAK, J. W., et al. Diabetes and infections-hepatitis C: is there type 2 diabetes excess in hepatitis C infection? *Curr Diab Rep*, v. 13, n. 3, p. 428-434, jun. 2013.

O'SHEA, R. S.; DASARATHY, S.; MCCULLOUGH, A. J. Alcoholic liver disease. *Hepatology*, v. 51, n.1, p. 307-328, jan. 2010.

OH, E. J.; CHANG, J.; et al. Different signal-to-cut-off ratios from three automated anti-hepatitis C virus chemiluminescence immunoassays in relation to results of recombinant immunoblot assays and nucleic acid testing. *Blood Transfus*, p. 1-3, nov. 2012.

PARABONI, M. L.; SBEGHEN, M. D.; et al. Risk factors for infection with different hepatitis C virus genotypes in southern Brazil. *Scientific World Journal*, v. 2012, p. 946954, may. 2012.

PAWLOTSKY, J. M. Diagnostic testing in hepatitis C virus infection: viral kinetics and genomics. *Semin Liver Dis*, v. 23 Suppl 1, p. 3-11, 2003.

PAWLOTSKY, J. M.; LONJON, I.; et al. What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories? *Hepatology*, v. 27, n. 6, p.1700-1702, jun. 1998.

PENIN, F. Structural biology of hepatitis C virus. *Clin Liver Dis*, v. 7, n. 1, p. 1-21, feb. 2003.

PEREIRA, B. J.; LEVEY, A. S. Hepatitis C virus infection in dialysis and renal transplantation. *Kidney Int*, v. 51, n.4, p. 981-999, apr. 1997.

PEREIRA, B. J.; MILFORD, E. 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*, v. 327, n. 13, p. 910-915, sep. 1992.

PEREIRA, L. M.; MARTELLI, C. M.; et al. Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis*, v. 13, p. 60, feb. 2013.

PÉREZ, C. M.; SUARÉS, E.; et al. Seroprevalence of hepatitis C virus and associated risk behaviours: a population-based study in San Juan, Puerto Rico. *International Journal of Epidemiology*, v. 34, n. 3, p. 593-599, jun. 2005.

PETIT, J. M.; BOUR, J. B.; et al. Risk factors for diabetes mellitus and early insulin resistance in chronic hepatitis C. *J Hepatol*, v. 35, n. 2, p. 279-283, aug. 2001.

POOVORAWAN, Y.; THEAMBOONLERS, A.; et al. Comparative results in detection of HCV antibodies by using a rapid HCV test, ELISA and immunoblot. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, v. 25, n. 4, p. 647-649, dec. 1994.

POYNARD, T.; BEDOSSA, P.; OPOLON, P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*, v. 349, n. 9055, p. 825-832, mar. 1997.

POYNARD, T.; YUEN, M. F.; et al. Viral hepatitis C. *Lancet*, v. 362, n. 9401, p. 2095-2100, dec. 2003.

PURCELL, R. H. The viral hepatitis. *Hosp Pract*, v. 13, n.7, p. 51-63, jul. 1978.

PURO, V.; PETROSILLO, N.; IPPOLITO, G. Risk of hepatitis C seroconversion after occupational exposures in health care workers. Italian Study Group on Occupational Risk of HIV and Other Bloodborne Infections. *Am J Infect Control*, v. 23, n. 5, p. 273-277, oct. 1995.

REUBEN, A. Landmarks in hepatology: the thin red line. *Hepatology*, v. 36, n. 3, p. 770-773, sep. 2002.

ROBERTS, E. A.; YEUNG, L. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology*, v. 36, n.5 Suppl. 1, p. S106-113, nov. 2002.

ROBERTSON, B.; MYERS, G.; et al. Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses: proposals for standardization. International Committee on Virus Taxonomy. *Arch Virol*, v. 143, n. 12, p. 2493-2503, 1998.

RODRIGUEZ-TORRES, M.; BURGUERA, J.; et al. Hepatitis C viral kinetics in Latino patients: a comparison to African American and Caucasian patients. *Ann Hepatol*, v. 11, n. 4, p. 450-463, jul./aug. 2012.

ROMERO-GOMEZ, M.; DEL MAR VILORIA, M.; et al. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology*, v. 128, n. 3, p. 636-641, mar. 2005.

ROSINI, N.; MOUSSE, D.; et al. Seroprevalence of HbsAg, Anti-HBc and anti-HCV in Southern Brazil, 1999-2001. *Braz J Infect Dis*, v. 7, n. 4, p. 262-267, aug. 2003.

RUBBIA-BRANDT, L.; QUADRI, R.; et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J Hepatol*, v. 33, n.1, p. 106-115, jul. 2000.

SHAPIRO, C. N.; TOKARS, J. I.; CHAMBERLAND. M. E. Use of the hepatitis-B vaccine and infection with hepatitis B and C among orthopaedic surgeons. The American Academy of Orthopaedic Surgeons Serosurvey Study Committee. *J Bone Joint Surg Am*, v. 78, n. 12, p. 1791-1800, dec.1996.

SHEPARD, C. W.; FINELLI, L.; ALTER, M. J. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis*, v. 5, n.9, p. 558-567, sep. 2005.

SHERLOCK, S. Landmarks in viral hepatitis. *JAMA*, v. 252, n. 3, p. 402, jul. 1984.

SHIVKUMAR, S.; PEELING, R.; et al. Accuracy of rapid and point-of-care screening tests for hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*, v. 157, n. 8, p. 558-566, oct. 2012.

SIMMONDS, P. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology*, v. 21, n. 2, p. 570-583, fev. 1995.

SMITH, B. D.; DROBENIUC, J.; et al. Evaluation of three rapid screening assays for detection of antibodies to hepatitis C virus. *J Infect Dis*, v. 204, n. 6, p. 825-831, sep. 2011.

SMITH, B. D.; TESHALE, E.; et al. Performance of premarket rapid hepatitis C virus antibody assays in 4 national human immunodeficiency virus behavioral surveillance system sites. *Clin Infect Dis*, v. 53, n.8, p. 780-786, oct. 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA. Relatório do Grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. Epidemiologia da Infecção pelo Vírus da Hepatite C no Brasil. *Gastroenterologia Endoscopia Digestiva*, v. 18, p. 53-58, 1999.

BURG, E.; JUNKER, R.; Point-of-care testing in microbiology: the advantages and disadvantages of immunochromatographic test strips. *Dtsch Arztebl Int*, v. 106, n. 4, p. 48-54, jan. 2009.

SY, T.; JAMAL, M. M. Epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci*, v. 3, n. 2, p. 41-46, apr. 2006.

THE FRENCH METAVIR COOPERATIVE STUDY GROUP Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, v. 20, n. 1 Pt 1, p. 15-20, jul. 1994.

THORPE, L. E.; OUELLET, L. J.; et al. Hepatitis C virus infection: prevalence, risk factors, and prevention opportunities among young injection drug users in Chicago, 1997-1999. *J Infect Dis*, v. 182, n. 6, p. 1588-1594, dec. 2000.

VANDELLI, C.; RENZO, F.; et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study. *Am J Gastroenterol*, v. 99, n. 5, p. 855-859, may. 2004.

WASLEY, A; ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis*, v. 20, n.1, p. 1-16, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. *J Viral Hepat*, v. 6, n.1, p. 35-47, jan. 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Hepatitis C assays: operational characteristics (phase I) Report 1, 2001.

YEN, T.; KEEFFE, E. B.; AHMED, A. The epidemiology of hepatitis C virus infection. *J Clin Gastroenterol*, v. 36, n. 1, p. 47-53, jan. 2003.

YEUNG, L. T.; KING, S. M.; ROBERTS, E. A. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Hepatology*, v. 34, n. 2, p. 223-229, aug. 2001.

YUEN, M. F.; HUI, C. K.; et al. The accuracy of SM-HCV rapid test for the detection of antibody to hepatitis C virus. *Am J Gastroenterol*, v. 96, n.3, p. 838-841, mar. 2001.

ANEXO I

Comitê de ética e Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH) Certificado 866



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

CERTIFICADO Nº 866

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 0584-GR-09 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o contido no Regimento Interno do CEPSH, **CERTIFICA** que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP.

APROVADO

PROCESSO: 866

FR: 350130

TÍTULO: Validação de testes rápidos para a detecção do HBsAg e do anti-HCV em população de portadores de hepatites virais

AUTOR: Leonardo de Lucca Schiavon, Luciana Bonmassis Burg, Janaina Luz Narciso Schiavon

FLORIANÓPOLIS, 26 de Julho de 2010.

Coordenador do CEPSH-UFSC

ANEXO II

Hepatitis Monthly: ID 12274 is approved by author

De: **info@hepatmon.com**

Enviada: segunda-feira, 20 de maio de 2013 14:56:18

Para: ligiadarosa@hotmail.com

Journal: Hepatitis Monthly

ID: 12274

Revision: 0

Title: Diagnostic performance of two point-of-care tests for anti-HCV detection

Dear author,

You are receiving this message because you are listed as a co-author of **Diagnostic performance of two point-of-care tests for anti-HCV detection** submitted by Prof. Leonardo de Lucca Schiavon in Hepatitis Monthly.

Your manuscript has been successfully submitted and will be checked by one of the editorial board members.

APÊNDICE I

Manuscript title:

Diagnostic performance of two point-of-care tests for anti-HCV detection

Running Title: Point-of-care tests for anti-HCV detection

Authors:

Lígia da Rosa, Esther B. Dantas-Corrêa, Janaína Luz Narciso-Schiavon, Leonardo de Lucca Schiavon

Affiliations:

Division of Gastroenterology, Federal University of Santa Catarina
Address: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima - Trindade - Florianópolis - SC - 88040-970
Tel: +55 (0xx) 48 3721-9000

Potential conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest regarding this work.

Previous presentation and/or publication: nothing to report

Corresponding author:

Prof. Leonardo de Lucca Schiavon, M.D., Ph.D.
Rua Profa. Maria Flora Pausewang, S/N^o
Departamento de Clínica Médica; Hospital Universitário - 3o. andar - Campus Universitário, Trindade; Zip code: 88040-900; Florianópolis, SC – Brasil
Tel: +55 48 9163 3919
E-mail: leo-jf@uol.com.br

Implication for health policy makers/practice/research/medical education:

The investigation of the diagnostic accuracy of POCTs and rapid tests for the detection of anti-HCV is a highly relevant topic. Besides the

great importance of the issue in terms of public health, there is a lack of studies evaluating the performance of several of the currently used tests.

Financial Support: This work was supported by CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico)

Acknowledgments:

The authors acknowledge the Directory Board of the teaching hospital from the Federal University of Santa Catarina for general support.

ABSTRACT

Background: Besides the great importance of the issue in terms of public health, there is a lack of studies evaluating the performance of several of the currently used point of care tests (POCTs) for the detection of anti-HCV.

Objectives: To investigate the performance of two POCTs anti-HCV detection and to assess the impact of the reading time on diagnostic performance.

Materials & Methods: A total of 307 subjects were divided into three groups (1 - HCV infected; 2 - other chronic liver diseases; and 3 - controls). The POCTs HCV Rapid Test Bioeasy® and Imuno-Rapido HCV® were read at 3, 5, 10, 15, 20 and 30 minutes. The sensitivity and specificity of the POCTs were calculated in relation to anti-HCV detection by chemiluminescence.

Results: Valid results were obtained for all tests. When compared to the chemiluminescence, both tests showed sensitivity of 97.1% and specificity of 100%. No changes in the sensitivity or specificity of the tests were observed at different reading times and when patients with other chronic liver diseases were evaluated as a control group.

Conclusion: The POCTs evaluated in this study showed high sensitivity and specificity, with no change in the performance after the third minute of reading.

Keywords: Point-of-Care Systems; Hepatitis C; Diagnosis

Background

Over the last few years, hepatitis C virus (HCV) infection has emerged as one of the most significant causes of chronic liver disease worldwide, with estimated prevalence ranging from 2.2 to 3.0% (1). Additionally, a significant proportion of HCV infected subjects will ultimately evolve to liver cirrhosis and/or hepatocellular carcinoma, making chronic HCV infection a major health problem (2, 3). Despite the excellent accuracy of the currently available tests for the detection of anti-HCV antibodies, the delay in reporting the results, the need for specialized equipment for processing the samples and interpreting the results, as well as the need to transfer individuals to sample collection and processing centers, limit their use as screening tools. Serologic point of care tests (POCTs) have several advantages, namely that they require little specialized apparatus, can be brought to the individuals who are to be tested and allow diagnosis in as little as a few minutes in different clinical settings (4). These advantages might be translated into increased testing opportunity and, ultimately, identification of more patients who could benefit from antiviral treatment (5). Over the last few years, several tests for rapid detection of anti-HCV have been developed and are currently in use in various countries; however, only recently the first POCT was approved by the U.S. Food and Drug Administration (6). The investigation of the diagnostic accuracy of POCTs and rapid tests for the detection of anti-HCV is a highly relevant topic. Besides the great importance of the issue in terms of public health, there is a lack of studies evaluating the performance of several of the currently used tests.

Objectives

Our goals were to investigate the performance of two immunochromatographic POCTs for the detection of anti-HCV antibodies and to assess the impact of the reading time on diagnostic performance.

Materials & Methods

This is a cross-sectional study that was performed in an outpatient clinic of a hepatology reference service located in Florianopolis, Brazil, in the period between January 2010 and May 2011. The individuals were divided into three groups: 1) Case group = patients with chronic HCV (individuals known to have chronic HCV, as diagnosed by PCR for HCV-RNA); 2) Control group 1 = patients with other chronic liver diseases (non-HCV carriers); and 3) Control group 2 = subjects without chronic liver disease (individuals with non-reagent anti-HCV and without a clinical history of chronic liver disease). The Control group 2 individuals were blood donors, hospital staff not involved in invasive

procedures or individuals from cardiology outpatient clinic. This group was age- and gender-matched to the HCV infected group. Immunosuppressed individuals (patients undergoing chemotherapy or immunosuppressive treatment or who were co-infected with human immunodeficiency virus); individuals undergoing treatment with interferon and patients with chronic kidney disease and on hemodialysis were excluded. The minimum sample size for each group was estimated at 95 individuals, considering a maximum margin of error of 2%, a 95% confidence interval and estimated diagnostic sensitivity and specificity of 99%. The final sample size comprises 307 individuals (103 in Case group, 101 in Control group 1 and 103 in Control group 2). Informed consent was obtained from each patient included in the study and the study protocol conforms to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in a priori approval by the Federal University of Santa Catarina human research committee.

The individuals were evaluated for inclusion during routine outpatient visits. After the patients were informed of the study procedures and provided informed consent, the rapid test was performed using digital puncture (10 μ L of whole blood, according to the manufacturer's instructions). Immediately following the completion of the rapid test, a sample collection by peripheral venipuncture for an amplified chemiluminescence test for anti-HCV (Architect system, Abbott Diagnostics Division, Illinois, USA) was performed in all individuals. The POCTs studied were the HCV Rapid Test Bioeasy® (Standard Diagnostics, Yongin, Korea) and Imuno-Rapido HCV® (Wama Diagnostica, São Carlos, Brazil). Both tests rely on the immunochromatographic method using synthetic and recombinant antigens (Core, NS3, NS4, NS5). All test protocols were carried out by the same examiner strictly according to the guidelines of the manufacturers. The reading times suggested in the insert package were between 15 and 20 minutes for the HCV Rapid Test Bioeasy® and between 10 and 15 minutes for the Imuno-Rapido HCV®. Both manufacturers stated that the tests should not be interpreted after 20 minutes. In this experiment, tests were read at 3, 5, 10, 15, 20 and 30 minutes to investigate any changes in its performance. HCV-RNA was not performed for the purpose of this study; however, all patients in the Case group were HCV-RNA positive. The polymerase chain reaction (PCR) method routinely adopted was the AMPLICOR® HCV Test 2.0 (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, USA) with a lower detection limit of 50 IU/mL.

The Kolmogorov-Smirnov test was used to evaluate the normality of the distribution of the variables. The continuous variables were compared using Student's t-tests for normally distributed data or the Mann-Whitney test for non-normal distributions. The categorical variables were evaluated by the chi-square test. A p value < 0.05 was considered statistically significant. The tests used were two-tailed and were performed by SPSS version 15.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). The sensitivity and specificity of the POCTs were calculated in relation to anti-HCV detection by chemiluminescence (considered the gold standard in this study).

Results

The clinical and demographic variables of the three groups are shown in table 1. When the Case group was evaluated regarding the major risk factors for infection, 32 subjects (31.1%) had received a blood transfusion (prior to 1992), and 23 (22.3%) reported having used intravenous drugs. The group of patients with HCV showed a lower proportion of Caucasians and higher ALT levels than the other groups and a higher mean age than the patients with liver diseases not related to HCV. Genotype was available for 56 HCV-infected subjects (54%) and genotype 1 was observed in 34 and genotype 3 in 22 individuals.

The POCTs and chemiluminescence results are shown in table 2. Valid results were obtained for all tests. When compared to the chemiluminescence, both the HCV Rapid Test Bioeasy® and Imuno-Rapido HCV® showed sensitivity of 97.1% (CI95%: 91,7% – 99,4%) and specificity of 100% (CI95%: 96,4% – 100%). No changes in the sensitivity or specificity of the tests were observed at different reading times and when patients with other chronic liver diseases were evaluated as a control group. False-negative results for both brands of POCTs were observed in the same three individuals with confirmed HCV infection, two men and a woman aged between 45 and 54 years. The ALT levels were above the reference value in two of the false-negative result cases, and none of these patients had signs of advanced liver disease or an apparent cause of immunosuppression. No false-positive results were observed.

Discussion

In recent years, advances in detection technology have made a range of POCTs for different infectious diseases available. It is now possible to screen and diagnose those conditions at primary healthcare settings using minimally invasive tests. In the present study, two not FDA-approved POCTs were performed in whole blood samples. The choice of the specimen was based on the fact that collection of plasma or serum

samples requires equipment and training, and is more time consuming. Although the use of oral fluid is an attractive alternative, it is not recommended by the manufacturers of both tests performed here.

When compared to the chemiluminescence, both POCTs studied showed sensitivity of 97.1% (CI95%: 91.7% – 99.4%) and specificity of 100% (CI95%: 96.4% – 100%). Several POCTs for anti-HCV detection were previously evaluated with different performances. The FDA-approved OraQuick HCV Rapid Antibody Test (OraSure Technologies, Bethlehem, Pennsylvania) is one of the most studied rapid tests for the diagnosis of HCV infection. When using whole blood, this test exhibited sensitivity between 92.2% and 100%, and specificity between 97.2% and 100%, which is similar to our findings (7-9). Other whole blood POCTs, such as Anti-HCV Ab rapid test (Tema Ricerca, Bologna, Italy), SM-HCV Rapid Test (SEROMed Labor Spezialitäten, Pollenfeld, Germany), Multiplo Rapid HIV/HCV Antibody Test (MedMira, Halifax, Nova Scotia, Canada) were previously studied, with sensitivity and specificity ranging from 78.9% – 100% and 83.3% – 100%, respectively (7, 10, 11). A recent meta-analysis that examined the diagnostic performance of POCTs and rapid tests for the diagnosis of hepatitis C showed that, although these tests generally have excellent specificity, they had a significant variation in sensitivity (22%-100%) (12). When the POC tests using whole blood were evaluated, the grouped sensitivity was 98.9%, and the grouped specificity was 99.5%. These results are similar to those observed in the present study. According to the manufacturer's package insert information for the HCV Rapid Test Bioeasy® and Imuno-Rápido HCV®, in preliminary studies these tests exhibited sensitivities of 99% and 100% and specificities of 98.6% and 99.8%, respectively. However, to the best of our knowledge, this is the first independent study carried out with the Imuno-Rápido HCV®. Regarding the Bioeasy test, one previous study evaluated its performance in an epidemiological survey of a high endemic Brazilian city (13). Although the POCT exhibited high sensitivity and specificity, this study is limited by the small number of individuals who were included in the test performance evaluation (30 cases and 41 controls).

There are several factors that could affect rapid anti-HCV tests accuracy. Immunosuppression, particularly HIV co-infection might be related to higher false-negative rates when employing HCV serological tests (12). In the present study, HIV infection and immunosuppression were exclusion criteria, and additional studies are advisable to investigate the performance of the two POCTs employed here in populations at high-risk for HIV infection. The influence of HCV genotype on rapid tests

performance has been suggested (12, 14); however this is still a matter of discussion as genotypes are not reported in the majority of the studies. In this study, HCV genotype was available for only 54% individuals and the methodology was not intended to investigate this issue. Therefore, a genotype impact on the POCTs employed here cannot be ruled out.

No change in the performance of the two POCTs was observed after the third minute of reading in the present study. Although we cannot suggest a modification in the procedures for interpretation of tests results, these findings may be used as parameter for future studies aimed at evaluate POCTs for anti-HCV detection.

It is possible to conclude that the immunochromatographic POCTs used here (HCV Rapid Test Bioeasy® and Imuno-Rápido HCV®) for the detection of anti-HCV showed high sensitivity and specificity and no change in the performance after the third minute of reading. Although future screening studies are required to confirm these data, these findings suggest that the tests results may be released more quickly than previously recommended, which could increase the adherence to hepatitis C screening campaigns.

References

1. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. [Review]. 2009;**29 Suppl 1**:74-81.
2. Hoofnagle JH. Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. *Hepatology*. [Consensus Development Conference Review]. 1997;**26**(3 Suppl 1):15S-20S.
3. Global burden of disease (GBD) for hepatitis C. *Journal of clinical pharmacology*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2004;**44**(1):20-9.
4. Ferreira-Gonzalez A, Shiffman ML. Use of diagnostic testing for managing hepatitis C virus infection. *Seminars in liver disease*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review]. 2004;**24 Suppl 2**:9-18.
5. Tucker JD, Bien CH, Peeling RW. Point-of-care testing for sexually transmitted infections: recent advances and implications for disease control. *Current opinion in infectious diseases*. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2013;**26**(1):73-9.
6. FDA. OraQuick® HCV Rapid Antibody Test. 2011 [updated 2011; cited February 25]; Available from: http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf8/p080027s001a.pdf.

7. Smith BD, Teshale E, Jewett A, Weinbaum CM, Neaigus A, Hagan H, *et al.* Performance of premarket rapid hepatitis C virus antibody assays in 4 national human immunodeficiency virus behavioral surveillance system sites. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2011;**53**(8):780-6.
8. Lee SR, Yearwood GD, Guillon GB, Kurtz LA, Fischl M, Friel T, *et al.* Evaluation of a rapid, point-of-care test device for the diagnosis of hepatitis C infection. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2010;**48**(1):15-7.
9. Lee SR, Kardos KW, Schiff E, Berne CA, Mounzer K, Banks AT, *et al.* Evaluation of a new, rapid test for detecting HCV infection, suitable for use with blood or oral fluid. *J Virol Methods*. [Evaluation Studies Multicenter Study]. 2011;**172**(1-2):27-31.
10. Hui AY, Chan FK, Chan PK, Tam JS, Sung JJ. Evaluation of a new rapid whole-blood serological test for hepatitis C virus. *Acta virologica*. [Letter]. 2002;**46**(1):47-8.
11. Montebugnoli L, Borea G, Miniero R, Sprovieri G. A rapid test for the visual detection of anti-hepatitis C virus antibodies in whole blood. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1999;**288**(1-2):91-6.
12. Shivkumar S, Peeling R, Jafari Y, Joseph L, Pant Pai N. Accuracy of rapid and point-of-care screening tests for hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. *Annals of internal medicine*. [Meta-Analysis Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2012;**157**(8):558-66.
13. Ivantes CA, Silva D, Messias-Reason I. High prevalence of hepatitis C associated with familial history of hepatitis in a small town of south Brazil: efficiency of the rapid test for epidemiological survey. *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*. 2010;**14**(5):483-8.
14. Pai NP, Sollis K, Peeling RW. Rapid hepatitis C tests: better than the gold standard? *Expert review of molecular diagnostics*. [Editorial]. 2013;**13**(3):221-3.

Table 1 - Characteristics of the individuals included in the study and comparison of the variables in each group.

Variable	Case group (n=103)	Control group 1 (n=101)	P*	Control group 2 (n=103)	P [#]
Age (years)					
Mean ± SD	54.66±10.76	44.84±13.54	<0.001 ¹	54.36±11.15	0.884 ¹
Median	54	46		54	
Male gender, n (%)	56 (54.4%)	44 (46.6%)	0.123	56 (54.4%)	1.000
Caucasians, n (%)	79 (76.7%)	90 (89.1%)	0.019	97 (94.2%)	<0.001
BMI (kg/m ²)					
Mean±SD	26.63±4.92	27.52±6.00	0.260 ²	27.58±4.28	0.155 ¹
Median	26.37	26.43		27.33	
ALT (IU/L)					
Mean ±SD	90.87±53.11	73.61±55.58	<0.001 ²	46.83±18.37	<0.001 ²
Median	79.50	56.00		42.00	
Caucasians, n (%)	79 (76.7%)	90 (89.1%)	0.019	97 (94.2%)	<0.001

Case group = patients with chronic HCV; Control group 1 = patients with other chronic liver diseases (non-HCV carriers); Control group 2 = subjects without chronic liver disease (individuals with non-reagent anti-HCV and without a clinical history of chronic liver disease)

*P-value for comparison between case group and control group 1

[#]P-value for comparison between case group and control group 2

¹ Student's t test. ² Mann-Whitney U test.

BMI = Body mass index

ALT = Alanine aminotransferase

Table 2 – Results of Anti-HCV Antibody Testing by the point of care tests and amplified chemiluminescence.

	HCV Rapid Test Bioeasy® *		Imuno-Rápido HCV® *		Anti-HCV Amplified Chemiluminescence	
	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
Case group (n=103)	100	3	100	3	103	0
Control group 1 (n=101)	0	101	0	101	0	101
Control group 2 (n=103)	0	103	0	103	0	103

*Same results for all times of reading (3, 5, 10, 15, 20 and 30 minutes).

Case group = patients with chronic HCV; Control group 1 = patients with other chronic liver diseases (non-HCV carriers); Control group 2 = subjects without chronic liver disease (individuals with non-reagent anti-HCV and without a clinical history of chronic liver disease)