

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/02/2021.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Daniel Contiero Battistam**

**Avaliação da Carga Viral do Vírus da Hepatite C (VHC) no  
Plasma Pobre em Plaquetas**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia Médica.

**Botucatu**

**2019**

Daniel Contiero Battistam

Avaliação da Carga Viral do Vírus da Hepatite  
C (VHC) no Plasma Pobre em Plaquetas

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina, Universidade Estadual Paulista  
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de  
Botucatu, para obtenção do título de  
Mestra em Pesquisa e Desenvolvimento:  
Biotecnologia Médica.

Orientador: Prof. Dr. Angelo José Magro

Coorientadora: Profa. Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto

Botucatu  
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Battistam, Daniel Contiero.

Avaliação da carga viral do VHC no plasma pobre em plaquetas / Daniel Contiero Battistam. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Angelo José Magro

Coorientador: Rejane Maria Tommasini Grotto

Capes: 90300009

1. Carga viral. 2. Hepatite C. 3. Plaquetas. 4. Plasma.

Palavras-chave: Carga Viral; Hepatite C ; Plasma Pobre em Plaquetas.

*Dedicatória*

**Dedico este trabalho à minha família, que como raízes, me sustentam e me fortalecem.**

*Agradecimientos*

Aos meus pais, Luiz Alberto Battistam e Maria Elvira Contiero Battistam, por moldarem meu caráter e me incentivarem na busca de conhecimento. Ao meu irmão, Gabriel Contiero Battistam, pelo companheirismo e cumplicidade.

À minha noiva, Julia Garcia Bueno Vasconcellos Boselli, que representa a família que quero construir. Aos meus sogros, Luiz Roberto Vasconcellos Boselli e Cristiana Bueno; e cunhado, Pedro Garcia Bueno Vasconcellos Boselli, pelo acolhimento e motivação.

Aos amigos de longa data, Hugo, João Gabriel, Guilherme Rodrigues, Vitor Bueno, Diego, Luis, Fausto, Anderson, Vinícius, Kiko pela amizade que carrego e me fortalece todos os dias.

Aos amigos novos, Gustavo, Hugo, Vinícius, Vinícius, Fernanda, Nathália, Paulo, Rafaela, Giovana, Alex, Camila, por acreditarem no meu sucesso e acompanharem essa jornada de perto.

À colega Gabriela Boni Poli, pela contribuição na pesquisa e troca de conhecimento.

Ao meu orientador Prof. Dr. Angelo José Magro, que sempre se mostrou solícito e a quem cultivo imensa admiração.

À minha coorientadora Prof. Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto, por todo aprendizado adquirido.

Ao Prof. Dr. Rafael Plana Simões, pela contribuição nas análises estatísticas para elaboração de nosso projeto.

À Dra. Valéria Nogueira Dias Paes Secco, por todo acolhimento durante meu ano de aprimoramento profissional e incentivo na pesquisa científica.



*Epígrafe*

*Apenas quando somos instruídos pela realidade é  
que podemos mudá-la  
(Bertolt Brecht).*

# *Prefácio*

*Prezo muito pelos detalhes. Talvez isso tenha sido o grande influenciador do meu interesse na área de biológicas. Biomédico de formação, após a conclusão da graduação optei pelo aprimoramento profissional no programa de Imuno-hematologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB). Ao concluir o aprimoramento, me senti preparado para atuar profissionalmente na área de Análises Clínicas e consegui um emprego em um laboratório que atendia rotina de hospital. Com isso, comecei a esculpir minha atuação no campo profissional que se estende até os dias atuais.*

*Considero o aprendizado uma das maiores experiências que a vida pode nos fornecer. Os novos ares em busca de conhecimento me impulsionaram a optar por ingressar no programa de Pós-Graduação em Pesquisa e Desenvolvimento – Biotecnologia Médica no Laboratório de Biologia Molecular da FMB/ Hemocentro de Botucatu, na área de Biologia Molecular.*

*Embora tenha passado por diversas áreas, percebi que elas se relacionam entre si e pude desfrutar de toda essa interdisciplinaridade com o desenvolvimento do meu projeto de mestrado estudando a Avaliação da Carga Viral do Vírus da Hepatite C (VHC) no Plasma Pobre em Plaquetas.*

*Esses dois últimos anos foram cheios de emoções, escolhas, renúncias, alegrias, tristezas, mas o que mais prevalece é a necessidade de caminhar e reconhecer o próprio caminho ao andar. Só tenho a agradecer por toda essa vivência e oportunidade ímpar.*

***Daniel Contiero Battistam***

*Resumo*

A Hepatite C é uma doença hepática de etiologia viral cujo agente é o Vírus da Hepatite C (VHC). A infecção pelo vírus, na grande maioria dos casos evolui para a cronicidade, sendo, portanto, um problema de saúde pública devido ao seu grande potencial de evolução para cirrose e hepatocarcinoma. Portanto, atualmente é fundamental a utilização de testes moleculares como diagnóstico complementar e para o acompanhamento da doença no paciente infectado, assim como para a detecção cada vez mais precoce da infecção pelo VHC. Neste sentido, testes para a detecção de ácidos nucléicos podem ser utilizados para a detecção qualitativa e quantitativa do RNA-VHC no sangue dos pacientes, de modo a avaliar a dinâmica da infecção e definir a conduta terapêutica. Desta forma, o Ministério da Saúde adotou no Brasil uma metodologia baseada na Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-qPCR) precedida de etapa de transcrição reversa para a detecção do material genético viral em amostras de plasmados infectados. A presença do VHC está documentada em outros compartimentos biológicos como células mononucleares do sangue periférico (PBMC) e plaquetas, o que sugere que o protocolo atualmente adotado no Brasil pode superestimar o número de partículas virais ativas, visto que o plasma preparado para a realização desta análise contém uma grande quantidade de plaquetas em relação à contagem total dos indivíduos. Desta forma, a finalidade da execução deste projeto foi comparar a carga viral do VHC em pacientes cronicamente infectados levando-se em conta o protocolo atualmente empregado pelo SUS e outro modificado onde o plasma preparado é praticamente isento de plaquetas. Embora nenhuma diferença estatisticamente significativa tenha sido encontrada na comparação dos protocolos, as inferências estatísticas realizadas a partir dos resultados obtidos demonstraram que o genótipo viral parece, à primeira vista, ser capaz de influenciar a distribuição do VHC nos compartimentos extra-hepáticos, dependendo do tipo de protocolo utilizado. Apesar dos dados e da quantidade de pacientes analisados ainda não indicar de forma segura uma necessidade de mudança técnica no protocolo atual da Rede Nacional de Carga Viral do VHC, os achados deste trabalho sugerem que novos estudos devem ser prontamente realizados, de modo a adequar a conduta terapêutica e o prognóstico de cada paciente portador de Hepatite C.

**Palavras-chave: Plasma pobre em plaquetas; Carga Viral; Hepatite C.**

*Abstract*

Hepatitis C is a liver disease of viral etiology whose agent is Hepatitis C Virus (HCV). This virus infection, in the vast majority of cases, progresses to chronicity and is therefore a public health problem due to its great potential for progression to cirrhosis and hepatocarcinoma. Therefore, the use of molecular tests as a complementary diagnosis and disease control, as well as for early detection of HCV infection, is currently essential. In this sense, tests for the detection of nucleic acids can be used for the qualitative and quantitative detection of HCV RNA in the blood of the patients, in order to evaluate the dynamics of the infection and define the therapeutics. Thus the Brazilian Ministry of Health adopted a methodology based on the Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR) preceded by a reverse transcription step for the detection of the viral genetic material in plasma samples of infected individuals. The presence of HCV is well documented in other biological compartments such as peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and platelets, suggesting that the protocol currently adopted in Brazil may overestimate the number of active viral particles, since the plasma samples prepared for this analysis contains a large amount of platelets. Thus, the purpose of this project was to compare the HCV viral load in chronically infected patients, taking into account the protocol currently used by the SUS and another one modified, where the plasma samples are practically free of platelets. Although no statistically significant difference was found in the comparison of the protocols, statistical inferences from the results showed that the viral genotype appears to influence the distribution of HCV in extra hepatic compartments, depending on the protocol. Although the data and the number of patients analyzed still do not indicate a need for a technical change in the current protocol of the National HCV Viral Load Network, the findings of this study suggest that new studies should be carried out promptly in order improve prognosis and treatment patients.

**Key words: Platelet-poor plasma; Viral load; Hepatitis C.**



## *Lista de ilustrações*

<b>Figura 1.</b> Representação esquemática do VHC, evidenciando as glicoproteínas de envelope (E1 e E2), envelope lipídico, genoma viral (RNA) e proteína do core.....	<b>28</b>
<b>Figura 2.</b> Representação esquemática do genoma do VHC, evidenciando os genes codificadores das proteínas estruturais e não estruturais.....	<b>28</b>
<b>Figura 3.</b> Esquema representativo do ciclo replicativo do VHC, evidenciando os principais elementos envolvidos.....	<b>30</b>
<b>Figura 4.</b> Esquema ilustrativo da determinação da carga viral do VHC pelo protocolo da Rede Nacional de Carga Viral do VHC (protocolo MS) e pelo protocolo com o plasma isento de plaquetas (protocolo MOD) (baseado nos procedimentos propostos por Padovani e colaboradores (2010).....	<b>39</b>
<b>Figura 5.</b> Diagrama da análise de correspondência múltipla (MCA) <b>(A)</b> e método ROC <b>(B)</b> referentes às cargas virais calculadas pelos protocolos MS e MOD e outros parâmetros relacionados pacientes estudados.....	<b>51</b>

*Lista de tabelas*

<b>Tabela 1.</b>	Caracterização demográfica, virológica e clínica dos pacientes estudados (n =20).....	<b>42</b>
<b>Tabela 2.</b>	Comorbidades e uso de medicamentos dos pacientes estudados (n=20).....	<b>44</b>
<b>Tabela 3.</b>	Coinfecção viral com VHB e/ou VIH, terapia antiviral e fibrose hepática dos pacientes estudados (n=20).....	<b>45</b>
<b>Tabela 4.</b>	Avaliação comparativa das cargas virais aferidas pelo protocolo da Rede Nacional de Carga Viral do VHC (protocolo MS) e pelo protocolo baseado na análise do plasma isento de plaquetas (protocolo MOD).....	<b>47</b>

*Lista de abreviaturas, siglas e  
símbolos*

**μL:** Microlitro

**°C:** Graus Celsius

**ALT:** Alanina aminotransferase

**AST:** Aspartato aminotransferase

**CD81:** *Cluster of Differentiation 81*

**CLDN1:** Claudina-1

**CV:** Carga Viral

**DAAs:** Drogas antivirais de ação direta (*direct-acting antivirals*)

**E1:** Glicoproteína 1 do envelope

**E2:** Glicoproteína 2 do envelope

**EDTA:** Ácido etilenodiaminotetracético

**EGFR:** *Epidermal Growth Factor Receptor*

**ELISA:** Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

**EphA2:** Efrina A2 (*Ephrin Type-A Receptor 2*)

**GAG:** Glicosaminoglicanas (*Glycosaminoglycans*)

**HIV:** Vírus da Imunodeficiência Humana (*Human Immunodeficiency Virus*)

**HTAs:** *Host-target agents*

**IgG:** Imunoglobulina G

**IRES:** *Internal Ribosomal Entry Site*

**LDLR:** Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade (*Low-density lipoprotein receptor*)

**Log:** Logaritmo

**mL:** Mililitro

**MS:** Ministério da Saúde

**NS2:** Proteína não estrutural 2 do genoma do VHC

**NS3:** Proteína não estrutural 3 do genoma do VHC

**NS4A:** Proteína não estrutural 4A do genoma do VHC

**NS4B:** Proteína não estrutural 4B do genoma do VHC

**NS5A:** Proteína não estrutural 5A do genoma do VHC

**NS5B:** Proteína não estrutural 5B do genoma do VHC

**OCLN:** Ocludina (*Occludin*)

**ORF:** *Open Reading Frame*

**PBMC:** *Peripheral Blood Mononuclear Cell*

**RNA:** Ácido Ribonucleico (*Ribonucleic Acid*)

**RT-qPCR:** Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real precedida de uma etapa de transcrição reversa

**RVS:** Resposta Viroológica Sustentada

**SUS:** Sistema Único de Saúde

**UI:** Unidade Internacional

**UTR:** Região não traduzida (*Untranslated region*)

**VHB:** Vírus da Hepatite B (*Hepatitis B Virus*)

**VHC:** Vírus da Hepatite C (*Hepatitis C Virus*)

**VLDL:** *Very Low Density Lipoprotein*

**xg:** Força g

## *Sumário*



<b>LEVANTAMENTO TEÓRICO.....</b>	<b>25</b>
1.1 Hepatite C: informações gerais e epidemiologia.....	26
2.1 Vírus da Hepatite C (VHC): estrutura, organização genômica e replicação.....	27
3.1 Diagnóstico e Acompanhamento Laboratorial.....	30
4.1 Terapêutica da Hepatite C.....	32
5.1 Influência da compartimentalização biológica do VHC na determinação da carga viral.....	33
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>35</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
1.2 Procedência das amostras.....	38
2.2 Coleta e processamento das amostras.....	38
3.2 Análises estatísticas.....	40
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
1.3 Perfil dos pacientes e aferição das cargas virais pelos protocolos MS e MOD.....	42
2.3 Análise das cargas virais determinadas pelos protocolos MS e MOD e possível influência do genótipo na compartimentalização extra-hepática do VHC.....	47
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>

*Levantamento Teórico*

## 1.1 Hepatite C: informações gerais e epidemiologia

A Hepatite C é uma doença hepática de etiologia viral cujo agente é o Vírus da Hepatite C (VHC). A infecção pelo vírus, na grande maioria dos casos (75 a 85%) evolui para a cronicidade (FARIAS, 2011) sendo, portanto, um problema de saúde pública. Esta evolução se deve ao seu grande potencial de evolução para cirrose e hepatocarcinoma (STRAUSS, 2001; SZABÓ et al., 2003). Estima-se que 71 milhões de pessoas no mundo apresentem hepatite C crônica sendo que a doença está associada a, aproximadamente, 399 mil mortes por ano (WHO, 2018). De acordo com o panorama atual, o Brasil registrou 40.198 casos novos de hepatites virais em 2017, sendo que 24.460 casos registrados foram de infecção por VHC (BRASIL, 2018c).

As principais vias de transmissão do VHC são por transfusão de sangue e hemocomponentes, compartilhamento de objetos perfurocortantes e, embora mais raramente, por contato sexual (BRASIL, 2018c). Após a infecção pelo VHC, o indivíduo pode apresentar um quadro de hepatite aguda de forma assintomática/oligossintomática ou sintomática. No primeiro caso, as manifestações clínicas estão ausentes ou são bastante leves e atípicas, simulando um quadro gripal, enquanto que no segundo, a apresentação é típica, com os sinais e sintomas característicos de hepatites, como febre, icterícia e colúria (BRASIL, 2007).

Aproximadamente 20% dos pacientes portadores do VHC apresentam resolução espontânea da doença, que é definida como clareamento espontâneo caracterizado pela não detecção do RNA viral no plasma ou soro do paciente com sorologia anti-VHC reagente. Na maioria dos casos, entretanto, ocorre a evolução para a cronicidade, com a progressão relacionada ao diagnóstico, tratamento e monitoramento da doença (ANJO et al., 2014). Assim, devido à fase assintomática de longa duração associada aos casos crônicos, o diagnóstico da Hepatite C é essencial, assim como o de comorbidades e coinfeções, como a Hepatite B e a aids (BRASIL, 2018c).

Outro fator importante na história natural da doença é a via de transmissão, sendo que a transmissão por transfusão sanguínea está mais associada a forma crônica da doença. Acredita-se que a evolução para cirrose e hepatocarcinoma também dependa de fatores como carga viral e genótipo (BRASIL, 2018b).

*Conclusão*

Os resultados aqui apresentados nos permitem concluir que:

- ✓ para cargas virais a partir de 3,00 log o vírus ligado na plaqueta não impacta no resultado do exame de carga viral;
- ✓ na população estudada dados demográficos e clínicos não foram associados à carga viral;
- ✓ a interação/ligação do VHC com plaquetas parece depender do genótipo viral.

*Referências*

AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES - AASLD. INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA - IDSA. **Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C**. Danvers: AASLD, IDSA, 2017. Disponível em: <http://hcvguidelines.org/>. Acesso em: 21 out. 2018.

AGNELLO, V. et al. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 22, p. 12766-12771, 1999. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/96/22/12766>. Acesso em: 10 set. 2017.

ANJO, J. et al. O impacto da hepatite C em Portugal. **GE Jornal Português de Gastrenterologia**, v. 21, n. 2, p. 44-54, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0872817814000277>. Acesso em: 22 dez. 2018.

ARIEDE, J. R. et al. Platelets can be a biological compartment for the Hepatitis C Virus. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 627-629, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4507560/>. Acesso em: 10 abr. 2017.

ASSINGER, A. Platelets and infection: an emerging role of platelets in viral infection. **Frontiers in Immunology**, p. 10-12, 2014. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2014.00649/full>. Acesso em: 16 jun. 2018.

BALERIOLA, C. et al. Stability of Hepatitis C Virus, HIV, and Hepatitis B Virus nucleic acids in plasma samples after long-term storage at -20°C and -70°C. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 9, p. 3163-3167, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3165594/pdf/zjm3163.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2018.

BARTENSCHLAGER, R.; COSSET, F.-L.; LOHMANN, V. Hepatitis C virus replication cycle. **Journal of Hepatology**, v. 53, n. 3, p. 583-585, 2010. Disponível

em: [https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(10\)00474-5/abstract](https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(10)00474-5/abstract).

Acesso em: 10 maio 2018.

BARTOLOME, J. et al. Hepatitis C virus replicates in peripheral blood mononuclear cells of patients with occult hepatitis C virus infection. **Gut**, v. 54, n. 5, p. 682-685, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1774478>.

Acesso em: 17 ago. 2018.

BARTOSCH, B.; COSSET, F. L. Cell entry of hepatitis C virus. **Virology**, v. 348, n. 1, p. 1-12, 2006. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004268220500841X?via%3Dihub>.

Acesso em: 15 set. 2018.

BARUT, S. et al. Thyroid dysfunction in Turkish patients with chronic hepatitis C receiving peginterferon plus ribavirin in the period of 2005-2010. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 448-451, 2012. Disponível em:

<http://www.scielo.br/pdf/bjid/v16n5/v16n5a08.pdf>. Acesso em: 7 jun. 2018.

BEDOSSA, P.; POYNARD, T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. **Hepatology**, v. 24, n. 2, p. 289-293, 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8690394>.

Acesso em: 25 set. 2018.

BLANCHARD, E. et al. Hepatitis C Virus entry depends on clathrin-mediated endocytosis. **Journal of Virology**, v. 80, n. 14, p. 6964-6972, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1489042/>. Acesso em: 16 jul. 2018.

BRANDÃO, A. B. D. M. et al. Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão da literatura. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 9, n. 4, p. 161-168, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Programa Nacional de Hepatites Virais**: avaliação da assistência as hepatites virais no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2002. Disponível em:



[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/avaliacao\\_da\\_assistencia\\_hepatites\\_virais\\_no\\_brasil.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/avaliacao_da_assistencia_hepatites_virais_no_brasil.pdf). Acesso em: 1 jun. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hepatites virais: o Brasil está atento**. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. 815 p. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/07\\_0044\\_M2.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/07_0044_M2.pdf). Acesso em: 23 fev. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Inibidores de protease (Boceprevir e Telaprevir) para o tratamento da hepatite C crônica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. Disponível em: [http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2012/Boceprevir\\_Telaprevir\\_final.pdf](http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2012/Boceprevir_Telaprevir_final.pdf). Acesso em: 15 dez. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Portaria nº 29, de 22 de Junho de 2015. Brasília: Ministério da Saúde, 2015b. Disponível em: [http://www.lex.com.br/legis\\_26922430\\_PORTARIA\\_N\\_29\\_DE\\_22\\_DE\\_JUNHO\\_DE\\_2015.aspx](http://www.lex.com.br/legis_26922430_PORTARIA_N_29_DE_22_DE_JUNHO_DE_2015.aspx). Acesso em: 20 fev. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Hepatites virais. **Boletim Epidemiológico**, v. 49, n. 31, p. 1-69, 2018a. Disponível em: [http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2018/65812/boletim\\_hepatites\\_2018\\_sm\\_.pdf?file=1&type=node&id=65812](http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2018/65812/boletim_hepatites_2018_sm_.pdf?file=1&type=node&id=65812). Acesso em: 21 dez. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **O manual técnico para o diagnóstico das hepatites virais**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018b. 68 p. Disponível em: [http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2015/58551/manual\\_tecnico\\_hv\\_pdf\\_75405.pdf](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2015/58551/manual_tecnico_hv_pdf_75405.pdf). Acesso em: 29 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Prevenção e Controle das IST do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para a prevenção da transmissão**

**vertical de HIV, sífilis e hepatites virais.** Brasília: Ministério da Saúde, 2018c.

Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/2015/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-hepatite-c-e-coinfecoes>. Acesso em: 30 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Histórico das ações de hepatites virais.** Brasília: Ministério da Saúde, 2018d. Disponível em:

<http://www.aids.gov.br/pt-br/centrais-de-conteudos/historico-das-acoes-de-hepatites-virais>. Acesso em: 29 nov. 2018.

BURLONE, M. E.; BUDKOWSKA, A. Hepatitis C virus cell entry: role of lipoproteins and cellular receptors. **Journal of General Virology**, v. 90, p.1055-1070, 2009.

Disponível em:

<https://jgv.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.008300-0#tab2>.

Acesso em: 11 jan. 2017.

CASTILLO, I. et al. Hepatitis C virus replicates in peripheral blood mononuclear cells of patients with occult hepatitis C virus infection. **Gut**, v. 54, n. 5, p. 682-685, 2005.

Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1774478/pdf/gut05400682.pdf>.

Acesso em: 15 fev. 2018.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL - CDC. **Viral hepatitis surveillance.** Atlanta: CDC, 2016. Disponível em:

<https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/pdfs/2016HepSurveillanceRpt.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2018.

CORMIER, E. G. et al. CD81 is an entry coreceptor for hepatitis C virus.

**Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, v. 101, n. 19, p. 7270–7274, 2004. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC409908/>. Acesso em: 10 set. 2017.

DA SILVA, A. et al. Hepatites virais: B, C e D: atualização. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 10, n. 3, p. 206-218, 2012. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/274722485\\_Hepatitis\\_virais\\_B\\_C\\_e\\_D\\_at\\_ualizacao](https://www.researchgate.net/publication/274722485_Hepatitis_virais_B_C_e_D_at_ualizacao). Acesso em: 3 fev. 2018.

DONATO, F. et al. Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. **American Journal of Epidemiology**, v. 155, p. 323, 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11836196>. Acesso em: 26 jan. 2018.

ESPÍRITO-SANTO, M. P. et al. Analysis of hepatitis C virus (HCV) RNA load in platelets of HCV-monoinfected patients receiving antiviral therapy. **Annals of Hepatology**, v. 12, n. 3, p. 373-379, 2013. Disponível em: [http://www.annalsofhepatology.com/revista/numeros/2013/04\\_133\\_v12n3\\_2013\\_AnalysisHepatitis.pdf](http://www.annalsofhepatology.com/revista/numeros/2013/04_133_v12n3_2013_AnalysisHepatitis.pdf). Acesso em: 21 out. 2018.

EVANS, M. J. et al. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. **Nature**, v. 446, n. 7137, p.801-805, 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17325668>. Acesso em: 10 set. 2017.

FARIAS, N. et al. Casos de Hepatite B e C notificados em adolescentes ao Sistema Nacional de Informação de Agravos do estado de São Paulo, de 2007 a 2010. **BEPA Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 8, n. 93, p. 4-13, 2011.

FERREIRA, C. T.; SILVEIRA, T. R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 4, p. 473-87, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbepid/v7n4/10.pdf>. Acesso em: 17 jan. 2018.

FUJIWARA, K. et al. Investigation of residual hepatitis C virus in presumed recovered subjects. **Hepatology**, v. 57, n. 2, p. 483-491, 2013. Disponível em: <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/hep.25921>. Acesso em: 7 ago. 2018.

GHANY, M. G. et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. **Hepatology**, v. 49, n. 4, p. 1335-1374, 2009. Disponível em:

<https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hep.22759>. Acesso em: 15 dez. 2018.

GOWER, E. et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. **Journal of Hepatology**, v. 61, n. 1, p. S45-S57, 2014. Disponível em: [https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(14\)00526-1/fulltext](https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(14)00526-1/fulltext). Acesso em: 3 out. 2018.

HAMMERSTEAD, S. et al. Diabetes and hepatitis C: a two-way association. **Frontiers in Endocrinology**, v. 6, p. 1-29, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4568414/pdf/fendo-06-00134.pdf>. Acesso em: 5 ago. 2018.

JACKA, B. et al. Sequencing of the hepatitis C virus: a systematic review. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. e67073, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3694929/>. Acesso em: 14 out. 2018.

JACOBSON, I. M. et al. Manifestations of chronic hepatitis C virus infection beyond the liver. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 8, n. 12, p. 1017-1029, 2010. Disponível em: [https://www.cghjournal.org/article/S1542-3565\(10\)00895-5/pdf](https://www.cghjournal.org/article/S1542-3565(10)00895-5/pdf). Acesso em: 10 maio 2018.

HAMAIA, S.; LI, C.; ALLAIN, J. The dynamics of hepatitis C virus binding to platelets and 2 mononuclear cell lines. **Blood**, v. 98, n. 8, p. 2293-2301, 2001. Disponível em: <http://www.bloodjournal.org/content/98/8/2293?sso-checked=true>. Acesso em: 21 jul. 2018.

HEDESTIERNA, M. et al. Cirrhosis, high age and high body mass index are risk factors for persisting advanced fibrosis after sustained virological response in chronic hepatitis C. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 25, n. 7, p. 802–810, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jvh.12879>. Acesso em: 22 jan. 2019.

KIM, C. W.; CHANG, K.-M. Hepatitis C virus: virology and life cycle. **Clinical and Molecular Hepatology**, v. 19, n. 1, p. 17, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3622851/>. Acesso em: 21 dez. 2017.

LERAT, T. et al. In vivo tropism of hepatitis C virus genomic sequences in hematopoietic cells: influence of viral load, viral genotype, and cell phenotype. **Blood**, v. 91, n. 10, p. 3841–3849, 1998. Disponível em: <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/91/10/3841.full.pdf>. Acesso em: 20 set. 2018.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. **Nature**, v. 436, n. 7053, p. 933–938, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16107832>. Acesso em: 6 fev. 2018.

LIU, S. et al. Tight junction proteins claudin-1 and occludin control hepatitis C virus entry and are downregulated during infection to prevent superinfection. **Journal of Virology**, v. 83, n. 4, p. 2011–2014, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19052094>. Acesso em: 10 set. 2017.

MARTINS, T.; NARCISO-SCHIAVON, J.; SCHIAVON, L. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite C. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 57, n. 1, p. 107-112, 2011. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-42302011000100024&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302011000100024&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 1 dez. 2018.

MESSINA, J. P. et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 61, n. 1, p. 77–87, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25069599>. Acesso em: 5 set. 2018.

MIAO, Z. et al. Regulated entry of hepatitis C virus into hepatocytes. **Viruses**, v. 9, n. 5, p. 100, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454413/>. Acesso em: 15 fev. 2018.

MURPHY, D. et al. Hepatitis C virus genotype 7, a new genotype originating from central Africa. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 3, p. 967–972, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25520447>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

PARISE, E. R. 25 years of Hepatitis C. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 52, n. 1, p. 1–3, 2015. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-28032015000100001](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-28032015000100001). Acesso em: 1 mar. 2018.

PADOVANI, J. L. et al. **Detecção in vitro da hepatite C (VHC) em plaquetas provenientes de indivíduos não infectados expostas ao vírus**. 2010. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/87816>. Acesso em: 1 mar. 2017.

PADOVANI, J. L. et al. In vitro detection of hepatitis C virus in platelets from uninfected individuals exposed to the virus. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 2, p. 154–155, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v46n2/0037-8682-rsbmt-00-00-04.pdf>. Acesso em: 4 abr. 2017.

PAVAN, M. H. P. et al. Viral hepatitis in patients infected with Human immunodeficiency virus. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 7, n. 4, p. 253-261, 2003. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-86702003000400005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702003000400005). Acesso em: 10 ago. 2018.

PENIN, F. et al. Structural biology of hepatitis C virus. **Hepatology**, v. 39, n. 1, p. 5–19, 2004. Disponível em: <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hep.20032>. Acesso em: 5 jul. 2018.

RICE, S. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. **Nature Medicine**, v. 19, n. 7, p. 837–849, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23836234>. Acesso em: 8 nov. 2018.

SCARSELLI, E. et al. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. **EMBO Journal**, v. 21, n. 19, p. 5017-5025, 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12356718>. Acesso em: 10 set. 2017.

SCHAECHTER, M. **Encyclopedia of microbiology**. 3. ed. San Diego: Elsevier, 2009.

SCHECHTERLY, C. et al. Investigation of residual hepatitis C virus in presumed recovered subjects. **Hepatology**, v. 57, n. 2, p. 483–491, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4523271/pdf/nihms388198.pdf>. Acesso em: 13 set. 2018.

SIMMONDS, P. et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. **Journal of General Virology**, v. 74, p. 2391–2399, 1993. Disponível em: <https://jgv.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-74-11-2391#tab2>. Acesso em: 7 fev. 2018.

SIMMONDS, P. et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 42, n. 4, p. 962- 973, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16149085>. Acesso em: 18 abr. 2017.

SMITH, D. B. et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource. **Hepatology**, v. 59, n. 1, p. 318–327, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24115039>. Acesso em: 11 ago. 2018.

SOUZA, et al. HIV and hepatitis B virus co-infection: prevalence and risk factors. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 5, p. 391-395,

2004. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822004000500004](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822004000500004). Acesso em: 11 ago. 2018.

STRAUSS, E. Hepatite C. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 1, p. 69-82, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v34n1/4321.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2018.

SZABÓ, E. et al. Viral hepatitis: new data on hepatitis C infection. **Pathology Oncology Research**, v. 9, n. 4, p. 215–221, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14688826>. Acesso em: 03 out. 2018.

SWAN, T.; RAYMOND, D. **Hepatitis C virus (HCV) and HIV/HCV coinfection: a critical review of research and treatment**. New York: Treatment Action Group, 2004. v. 1, cap. 2, p. 44-46. Disponível em: <http://www.treatmentactiongroup.org/sites/default/files/HCV%20and%20HIV%20HCV%20Coinfection%20A%20Critical%20Review%20of%20Research%20and%20Treatment%20full.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2018.

UENO, T. et al. Exposure-response analysis for efficacy of daclatasvir, asunaprevir, and beclabuvir combinations in HCV-infected patients. **Clinical Pharmacology in Drug Development**, p. 1–11, 2019. Disponível em: <https://accp1.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/cpdd.646>. Acesso em: 26 jan. 2019.

UMAR, M. et al. **Diagnóstico, tratamento e prevenção da hepatite C**. Milwaukee: World Gastroenterology Organisation, 2017. 34 p. Disponível em: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/hepatitis-c-portuguese-2017.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2018.

WATANABE, C. M. **Avaliação da infecção de megacariócitos e plaquetas pelo VHC e a influência na fisiopatologia da hepatite C**. 2016. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, 2016. Disponível em:



[https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/138765/watanabe\\_cm\\_me\\_bot\\_int\\_sub.pdf?sequence=4&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/138765/watanabe_cm_me_bot_int_sub.pdf?sequence=4&isAllowed=y). Acesso em: 8 jun. 2018.

WHITE, D. L.; RATZIU, V.; EL-SERAG, H. B. Hepatitis C infection and risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Hepatology**, v. 49, n. 5, p. 831–844, 2008. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2642971/pdf/nihms77532.pdf>. Acesso em: 20 out. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hepatitis C fact sheets**. 2018. Disponível em:

<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>. Acesso em: 22 ago. 2018.

