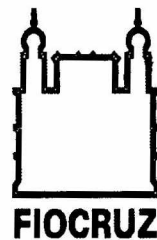




**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



**Curso de Pós-Graduação em Patologia**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO VÍRUS DA  
HEPATITE EM USUÁRIOS DE DROGA  
INTRAVENOSA NA CIDADE DE SALVADOR-BAHIA.**

**MARIA BETÂNIA SOUZA DA SILVA**



001646

**Salvador - Bahia - Brasil**  
**2005**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia

**PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO VÍRUS DA HEPATITE**  
**EM USUÁRIOS DE DROGA INTRAVENOSA NA CIDADE DE**  
**SALVADOR-BAHIA.**

**MARIA BETÂNIA SOUZA DA SILVA**

**Orientador: Dr. Mitermayer Galvão dos Reis**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Patologia, como parte dos requisitos necessários para obtenção de grau de Mestre em Patologia Experimental.

**Salvador – Bahia – Brasil**

**2005**



Ficha Catalográfica elaborada pela  
Biblioteca do CPqGM / FIOCRUZ – Salvador – Bahia.

S586 Silva, Maria Betânia Souza da  
Prevalencia e genotipagem do vírus da hepatite C em usuários  
De droga intravenosa na cidade de Salvador – Bahia. [ manuscrito] /  
por . Maria Betânia Souza da Silva.– 2005.  
58f.: il. 29 cm.

Datilografado (fotocópia)  
Dissertação ( mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Fa-  
culdade de Medicina. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2005.  
Orientador: Prof. Dr. Mitermayer Galvão dos Reis, Laboratório  
de Parasitologia e Biologia Molecular.

1. Vírus da Hepatite C (VCH). 2. Usuário de droga intrave-  
nosa. 3. Genotipo. I. Título

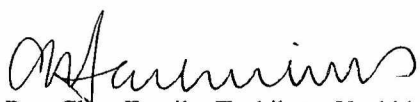
CDU 616.36-002

PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO VÍRUS DA HEPATITE C EM USUÁRIOS DE  
DROGA INTRAVENOSA NA CIDADE DE SALVADOR-BAHIA

MARIA BETÂNIA SOUZA DA SILVA

FOLHA DE APROVAÇÃO

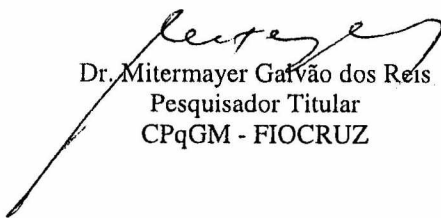
COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Clara Fumiko Tachibana Yoshida  
Pesquisadora Titular  
Fundação Oswaldo Cruz - RJ



Dr. Zilton de Araújo Andrade  
Pesquisador Titular  
CPqGM - FIOCRUZ



Dr. Mitermayer Galvão dos Reis  
Pesquisador Titular  
CPqGM - FIOCRUZ



*“Talvez a esperança nos mostre que existe um grande mistério sobre o qual não temos controle. As vezes, nossa esperança é a cura.”*

*Patch Adams*

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

---

- Ao Dr. Mitermayer Galvão dos Reis, por toda orientação que me foi dispensada e sobretudo pela sua humildade perante seus orientandos.

## AGRADECIMENTOS

---

- A todos os voluntários que participaram deste estudo, tornando possível conhecer um pouco mais a realidade da infecção pelo vírus da hepatite C em nossa cidade.
- Ao Dr. Sergio Santana Filho e demais colegas do SEPAT/HA pelo apoio e amizade, imprescindíveis para conclusão deste trabalho.
- Ao Dr. Tarcisio Andrade, pela colaboração em grande parte deste estudo, sobretudo pela forma atenciosa e delicada a que sempre me recebeu.
- Ao Dr. Bernardo Galvão de Castro pela generosidade em disponibilizar a soroteca e os dados que nos possibilitaram realizar o estudo de prevalência entre os usuários de drogas intravenosas residentes em Salvador-Ba.
- A Equipe de Hepatites Virais do Lab. de Pat. e Biol. Molecular.
- As biólogas Itatiana Rodarte e Gisele Barreto pelo apoio técnico na realização dos exames, pelo carinho e sincera amizade.
- Ao MSc. Djanilson Barbosa pela consultoria em epidemiologia.
- A Fabiola Nascimento da Conceição, pelo auxílio na tradução de documentos científicos para o inglês.
- Ao LACEN pela realização das sorologias.
- Aos meus amigos sem os quais jamais sentiria prazer em alcançar meus objetivos.

## SUMÁRIO

---

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	8
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
2.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	13
2.2 CARACTERIZAÇÃO DO VHC.....	14
2.2.1 DIVERSIDADE DO VHC.....	16
2.3 IMUNOPATOLOGIA.....	17
2.3.1 HISTORIA NATURAL.....	19
2.3.2 HISTOPATOLOGIA.....	21
2.4 MECANISMOS DE TRANSMISSÃO.....	22
2.4.1 TRANSMISSÃO POR UDIs.....	23
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
<b>4 ARTIGO.....</b>	<b>27</b>
4.1 TABELAS .....	34
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>43</b>

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

---

Anti-VHC/anti-HCV	anticorpo contra o vírus da hepatite C
CHC	Carcinoma Hepatocelular
CDC	Centro para Controle e Prevenção de Doenças ( <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> )
EIA	Ensaio Imunoenzimático ( <i>Enzyme Immune Assay</i> )
HVR	Região Hipervariável ( <i>Hyper Variable Regions</i> )
NS	Não Estrutural
NANBH	Hepatite não-A não-B
NC	Não Codificante/ Não Traduzida
ORF	Fase Aberta de Leitura ("Open Reading Frame")
RIBA	Recombinant Immunoblot Assay
RNA	Ácido Ribonucléico
UDIs	Usuários de Droga Intravenosa
VHC	Vírus da Hepatite C
RFLPs	Polimorfismos de Fragmentos de Restrição ( <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> )

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

---

Figura 1. Esquema das Estruturas Secundárias e IRES no Genoma do VHC.....	15
Figura 2. Esquema da Organização Genômica do VHC.....	17
Tabela 1. Grau Histológico e Estadiamento da Hepatite C.....	25
Quadro 1. Soroprevalência do VHC entre UDIs no Mundo .....	28
Quadro 2. Soroprevalência do VHC entre populações distintas em Salvador–Ba, 2003 .....	28

## RESUMO

PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO VÍRUS DA HEPATITE C (VHC) EM USUÁRIOS DE DROGA INTRAVENOSA NA CIDADE DE SALVADOR-BAHIA. **MARIA BETÂNIA SOUZA DA SILVA.** O vírus da hepatite C (VHC) é um vírus RNA, considerado atualmente como o maior agente causador de doença hepática crônica e está associado com cirrose e câncer de fígado. A sua identificação em 1989, permitiu o desenvolvimento de um teste imunoenzimático para detecção de anticorpos contra o VHC e, portanto, o diagnóstico laboratorial específico, possibilitando a exclusão de doadores em bancos de sangue. Baseados nesses imunoenaios, sobretudo nas técnicas moleculares para detecção do VHC-RNA e VHC-genótipos, pode-se estimar a prevalência do VHC, que tem distribuição cosmopolita. Com aproximadamente 170 milhões de pessoas contaminadas no mundo. O VHC é difundido por transmissão parenteral de fluidos sanguíneos, principalmente sangue e hemoderivados, figurando o uso de drogas intravenosas como principal fator de risco. Com intuito de determinar a prevalência do VHC e seus genótipos entre os usuários de drogas injetáveis na cidade de Salvador-Bahia, Brasil, 398 amostras de sangue foram coletadas, nas áreas do Calabar, Engenho Velho da Federação e Ribeira e a prevalência foi estimada pela presença de anti-VHC detectados por ELISA 3ª geração e confirmada por RT-PCR. A prevalência e viremia entre estes indivíduos foram de 35,2 % e 83,8 % dos anti-VHC positivos respectivamente. As amostras VHC-RNA positivas foram genotipadas por RFLPs dirigido para região 5'NC do VHC. Os valores encontrados para os genótipos predominantes diferiram dos estudos iniciais, realizados na Europa em usuários de drogas intravenosas, contudo concorda com os dados mais recentes da literatura. Com 76,4 % o genótipo 1 foi mais prevalente neste estudo, diferindo do tipo encontrado no grupo de não-UDI que foi o 3. A prevalência neste grupo foi 5,3%, mais de duas vezes do encontrado na população em geral, descrito em estudo prévio. Este dado sugere a possibilidade de existir outros fatores paralelos ao uso de droga intravenosa contribuindo para transmissão do vírus.

## ***ABSTRACT***

PREVALENCE AND GENOTYPES IN HEPATITIS C VIRUS (HCV) AMONG INJECTING DRUG USERS FROM SALVADOR-BA, BRAZIL. **MARIA BETÂNIA SOUZA DA SILVA.** Hepatitis C virus (HCV) is an RNA virus, actually considered as the main agent of chronic liver disease, its have been associated with cirrhosis and primary liver cancer. Its identification in 1989 conduced to the development of enzyme immune assay to detect antibodies against the VHC, thus leading to the possibility of a specific laboratorial diagnosis and through this test to exclude donors from blood banks. Based in these immune assay and molecular techniques for the detection of HCV-RNA and HCV genotypes, the one can estimate the prevalence of the HCV, which has a worldwide distribution . It is estimated that there are about 170 million people infected around the world. The HCV spread by parenteral transmission of blood fluids, mainly blood or blood derivatives, appearing the use of injecting drug the main factors risk. With intention to determine the prevalence of HCV infection and its genotypes among injectable drug users in the city of Salvador-Bahia, Brazil, 398 samples of blood were collected among residents in the areas of Calabar, Ribeira and Engenho Velho da Federação. The prevalence was esteem by presence of anti-HCV detected by ELISA 3a generation and confirmed for RT-PCR. The prevalence and viremia (HCV-RNA) between these individuals had been of 35,2 % and 83,8 % of the anti-HCV positive respectively. Positive samples VHC-RNA were genotyped by RFLPs directed against the region 5'NC of the HCV. The values found for predominant genotypes were different from the studies initiate carried out in the in the European intravenous drugs users, but in accordance with the more recent data from the literature. The genotype 1 was more prevalent in this study with 76.4%, different of the type found in the group non-UDI. The prevalence this group was 5.3%, this is twice more, then found in the general population, as previously described. This data, suggests the possibility to exist other parallel factors to the use of intravenous drugs, which enhances the virus transmission.



## 1. INTRODUÇÃO

O vírus da hepatite C (VHC) é atualmente, um dos principais problemas de saúde pública em todo mundo. Com distribuição cosmopolita, o VHC tem um comportamento biológico que estimulou uma série de estudos no intuito de reconhecer seus mecanismos de transmissão, replicação, patogenicidade, escape e resistências a drogas terapêuticas. As agressões causadas pelo VHC nas células hepáticas, com destruição destas por diferentes mecanismos pode induzir uma resposta inflamatória como hepatite crônica e evolução para cirrose e hepatocarcinoma (13). Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil, atualmente são gastos de 5 a 10 mil reais por mês, no tratamento de cada paciente e estima-se que 2,4 milhões de pessoas estão infectadas, o que torna a infecção pelo VHC um importante problema de saúde pública para o país.

Considerando que não se dispõe de uma vacina até o presente momento, é importante o conhecimento adequado dos diferentes mecanismos de transmissão, possibilitando o seu controle, identificação e tratamento dos indivíduos infectados. O desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para os casos de resistência ao tratamento e estudos com a finalidade retardar a evolução para formas mais graves também são necessários. Avanços no controle da infecção pelo VHC foi alcançado com a realização de testes sorológicos, anti-VHC, nos bancos de sangue, diminuindo a incidência de hepatite pós-transfusional provocada pelo vírus C. Entretanto outras rotas de transmissão têm se mostrado importante na permanência ou até mesmo no aumento do número de novos casos de hepatite C a cada ano, a principal delas é o uso de drogas intravenosas (12).

O comportamento de risco, normalmente observado entre usuários de drogas intravenosas (UDIs), contribui para a disseminação do vírus e para o predomínio de um genótipo entre eles, sobretudo por compartilhar agulhas, seringas e aparatos para preparo e uso de drogas (26). Alguns indivíduos não param de usar droga injetável após o diagnóstico da hepatite C. Este comportamento tem interferido também no tratamento da hepatite C, com as drogas disponíveis no mercado como Interferon e Ribavirina, pois as infecções simultâneas, ou seguidas e a aquisição de outras doenças infecciosas como DSTs e Aids, podem retardar a terapêutica (27,28,104,108,110).

A falta de informação a respeito da hepatite C, sobretudo dos mecanismos de transmissão contribui para a contaminação entre estes indivíduos. Os genótipos neste grupo, têm variado no mesmo país, de localidade para localidade. Na Europa, existem países que tem UDIs com genótipo tipo 1, 3 e 4 (109,110,118,121) .

Outro fator contribuinte é a característica assintomática da infecção pelo vírus C da hepatite. Os indivíduos infectados, normalmente só são diagnosticados depois de um longo período de infecção, sendo assim, mantém uma conduta de um indivíduo sadio (não infectado) podendo transmitir o vírus compartilhando seringas e/ou agulhas entre usuários de drogas e possivelmente, em menor grau, através de atividades sexuais (96,129). A transmissão interdomiciliar também pode ocorrer, através do uso comum de escova de dente, alicate, tesourinha e cortador de unha. O indivíduo que desconhece que se encontra infectado, poderá acelerar as complicações da infecção pelo abuso de álcool.

O uso de droga intravenosa se constitui, atualmente, a principal rota de transmissão do VHC. Estimar a prevalência da infecção pelo VHC e o genótipo nos usuários de droga intravenosa, assim como avaliar características comportamentais desses indivíduos, poderão servir de subsídios para planejamento de medidas preventivas, adotadas pelo sistema de saúde, o que pode reduzir incidência de infecções pelo VHC.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) é um significativo problema de saúde pública em todo mundo, principalmente por ser a maior causa de hepatite crônica (1). A hepatite crônica pode evoluir para cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC), sendo, atualmente, responsável pela maioria dos casos de transplante hepático (2,3). Estima-se que mais de 170 milhões de pessoas estão infectadas, representando 3% da população mundial, 2,4 milhões só no Brasil (1,2,3). O VHC tem distribuição cosmopolita, com números que variam de 0,15 %, como ocorre na Escandinávia a 28 % visto no Egito (4,5). No Egito, a alta prevalência está associada às condições precárias na esterilização dos instrumentos, principalmente seringas e agulhas, utilizados no tratamento parenteral para *Schistosoma* (5). Na maior parte da Europa e América a prevalência está entre 1,0 % e 2,0% (6).

No Brasil, a prevalência da hepatite C na população em geral se encontra em torno de 1,3 %, variando de 1,2 a 2,4 % (7,8,9,10). A prevalência é maior em grupos sob condições de risco como hemodialisados e usuários de droga intravenosa (11). Na Bahia, o registro é de 1,5 % (dados não publicados).

A importância de se detectar o VHC deve-se a sua tendência a cronificar em até 75 %, sendo 85 % nos homens e 65 % em mulheres jovens e crianças (6,17). Estudos retrospectivos e de seguimento indicam que após 20 anos, entre 10% a 20 % desenvolvem cirrose e aproximadamente 10 % desenvolvem hepatocarcinoma. A faixa etária de maior prevalência nos Estados Unidos está entre 30 e 49 anos (1,6). No Brasil, em estudo com doadores de sangue a prevalência é mais alta nos indivíduos com idade igual ou maior que 30 anos (7).

## 2.2 CARACTERIZAÇÃO DO VHC

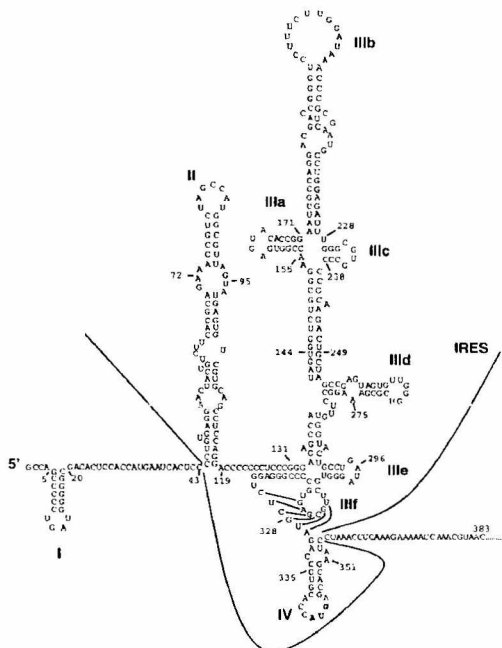
A partir de 1975, os casos de hepatite descritos após a transfusão sanguínea não identificada pelos marcadores sorológicos para os vírus da hepatite A e B, sugeria a existência de um novo vírus, que foi inicialmente designado vírus da hepatite nãoA-nãoB (NANBH). A identificação deste vírus foi realizada por Choo e col (14,15) através da inoculação de soro de indivíduos infectados com o vírus NANBH em chimpanzés. Este vírus foi denominado como vírus da hepatite C (VHC) (14,15,16). Este fato significou um grande avanço no que diz respeito a metodologia utilizada nos estudos experimentais.

Em 1990 os testes sorológicos foram definidos, posteriormente introduzidos no mercado, facilitando o diagnóstico de hepatite C, o que possibilitou a redução da incidência de hepatites pós-transfusionais, provocada pelo vírus C (17). O VHC é atualmente classificado como um flavivirus, da família Flaviviridae e subgenero Hepacivirus (19). Com genoma RNA de fita única, polaridade positiva, de aproximadamente 10 kb que codifica uma única poliproteína viral (1 ORF – "Open Reading Frame"). Flanqueando a ORF existem regiões não codificantes (NC) 5' e 3' terminais. A região 5'NC possui sítio de entrada no ribossoma (IRES), por onde se inicia o processo de síntese protéica e também apresenta formações de estruturas secundárias (figura-1) (19).

Durante a expressão do vírus, a poliproteína é clivada no citoplasma dos hepatócitos, originando as proteínas virais estruturais do envelope (E1 e E2/NS2) e do core, ou nucleocapsídeo, além de proteínas não estruturais (NS2 a NS5). Entre elas a helicases e RNA polimerase, envolvidas no processo de replicação viral (1,14,19). As proteínas do core, NS3, NS4 e NS5 são comumente usadas para diagnóstico do VHC pelos métodos de EIA e RIBA. A região 5'NC e os genes que codificam as proteínas do core, assim como outras regiões, são importantes para detecção do genoma e estudos de genotipagem (Tomoyoshi Ohno e cols., 1996). Alguns estudos sugerem uma associação das proteínas do core com supressão na transcrição de genes imunorreguladores, bem como supressão de mecanismos apoptóticos (19). Outras regiões como a NS5a tem sido alvo de estudos relacionados à resistência a terapia com interferon (ISDR) (18,19,20).

Algumas regiões do genoma do VHC são muito heterogêneas, a exemplo da região do envelope, onde se encontra a primeira região hipervariável do vírus (HVR1) localizada nos primeiros nucleotídeos (81 iniciais) da região E2 e apresenta a maior taxa de mutação (14). Geralmente é estimada para o VHC uma taxa de mutação de 10<sup>-5</sup> nucleotídeo/sítio-1/ano-1(19,21). As regiões não codificantes e do capsídeo (core) são as mais conservadas. Todas as regiões do genoma do VHC são empregadas nos estudos para o desenvolvimento de drogas terapêuticas, principalmente inibidores de helicases, polimerases que impossibilitam a transcrição de proteínas virais, ou até mesmo o uso de oligonucleotídeos que sejam complementares aos IRES, com objetivo de reduzir a síntese de proteínas virais estruturais e não estruturais (19). A maior dificuldade nos estudos com drogas está na ausência de sistema celular estável e modelo animal de pequeno porte (22).

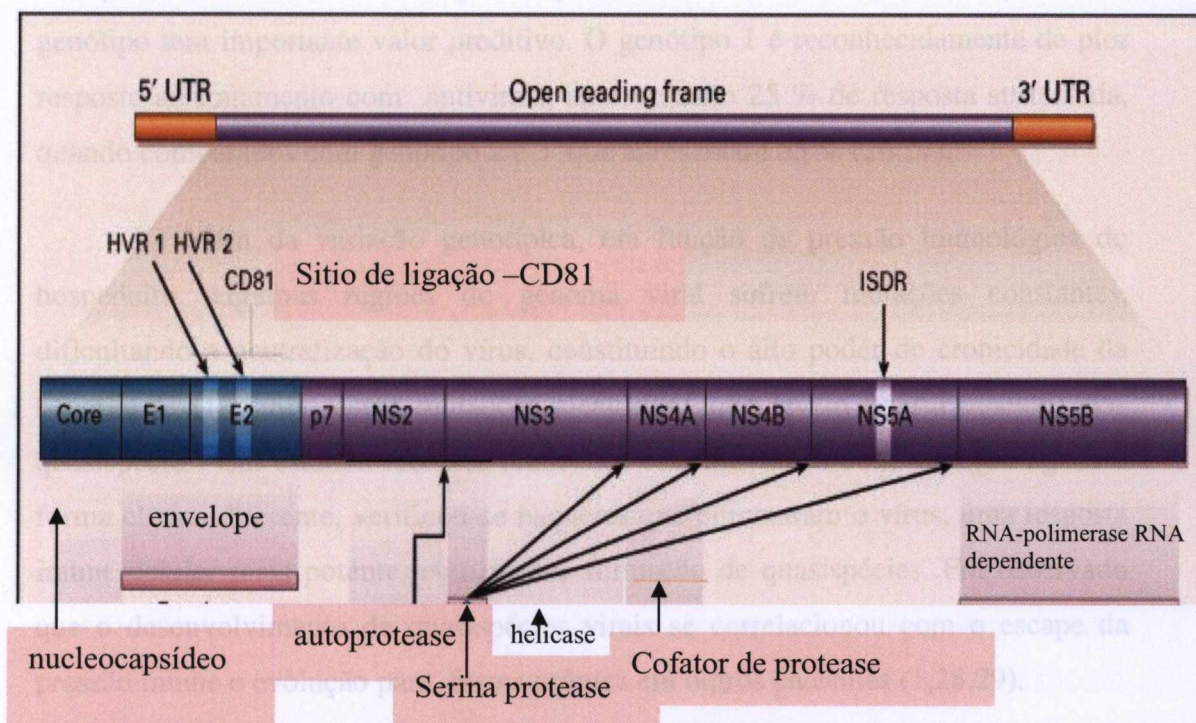
FIGURA 1 – ESTRURAS SECUNDARIAS E SITIO DE ENTRADA NO RIBOSSOMO NO GENOMA DO VHC.



Fonte: Bernard Fields



FIGURA 2 – ESTRUTURA GENÔMICA DO VHC



Fonte: Adaptado de Lauer and Walker. *N Engl. J Med*, 2001; 5(1):41

### 2.2.1 DIVERSIDADE DO VHC

O genoma do VHC apresenta aproximadamente 70 % de homologia total entre os isolados conhecidos, com níveis de variabilidade similares a outros Flavivirus. Atualmente se reconhecem 6 genótipos principais (numerados de 1 a 6) e mais de 80 subtipos diferindo entre si de 15% a 20 % no mesmo genótipo, e são classificados por letras do alfabeto (a, b, c etc.) (1,18). Além dos genótipos e subtipos existem as quasipécies que são populações heterogêneas do vírus com discretas variações na composição dos nucleotídeos, tais variações são da ordem de 1% a 2%. A distribuição genotípica no mundo é variável sendo os genótipos 1, 2 e 3 os mais encontrados nas Américas no Sul e Norte, Europa; o genótipo 4 e 5 na África e o 6 no Sudeste da Ásia (15). Os genótipos 1, 2 e 3 são largamente distribuídos em todo mundo, sendo o genótipo 3 o mais prevalente na Austrália e Sul da Ásia (12). No Brasil, os genótipos predominantes são: 1, 3 e 2 (23). Em Salvador, os genótipos do VHC observados em pacientes acompanhados nos ambulatórios e nos hospitais, coincidem com o do restante do país, com o predomínio do tipo 1(24). Entretanto, em estudo recente do nosso grupo, realizado

com base populacional, demonstrou não haver um predomínio do tipo 1 em relação ao tipo 3 (25 - submetido à publicação). Em relação a resposta terapêutica o genótipo tem importante valor preditivo. O genótipo 1 é reconhecidamente de pior resposta ao tratamento com antivirais, apresentando 25 % de resposta sustentada, quando comparados com genótipo 2 e 3 que apresentam 55 % (26,27).

Além da variação genotípica, em função da pressão imunológica do hospedeiro, algumas regiões do genoma viral sofrem mutações constantes, dificultando a neutralização do vírus, constituindo o alto poder de cronicidade da hepatite C (1). São essas mutações aleatórias que levam ao surgimento das quasispécies. Em estudos recentes realizados em indivíduos com infecção aguda e forma clínica diferente, verificou-se naqueles que eliminaram o vírus, uma resposta imune celular mais potente, com menor formação de quasispécies. Foi observado que o desenvolvimento de quasispécies virais se correlacionou com o escape da pressão imune e evolução para forma crônica em outros pacientes (1,28,29).

### 2.3 IMUNOPATOGENIA

O reconhecimento e interação entre o vírus e célula hospedeira são mediados pelas glicoproteínas do envelope do vírus (30). Recentemente foi descrita uma proteína, a CD81 (tetraspanina), que se ligaria à fração E2 (envelope do vírus), funcionando como um receptor ou co-receptor, encontrada tanto em hepatócitos como em linfócitos periféricos, identificando, dessa forma, uma provável via de neutralização do vírus (31). O provável mecanismo de ação lesiva do HCV baseia-se no fato dos hepatócitos infectados expressarem em sua membrana o antígeno FAS. Este antígeno pode ser reconhecido por células T citotóxicas, que apresentam o FASL, levando à eliminação da célula infectada através de mecanismo de apoptose. Acredita-se que a via apoptótica FAS-FASL, tem importante papel na lesão hepática. Outra proteína envolvida neste processo seria o marcador CD26, mostrando ser altamente expressivo na linhagem celular infectada. A forma na qual se dá a expressão das proteínas FAS e CD26 na membrana dos hepatócitos infectados ainda permanece obscura (32,33). A interação das proteínas de ligação virais com receptores celulares é altamente específica e por isso todos os vírus têm um espectro limitado de hospedeiros.

Não há evidências de integração do genoma do VHC ao genoma da célula infectada, portanto sua replicação ocorre no citoplasma da célula hospedeira (21,27). Para se replicar, o VHC usa as proteínas do envelope para aderir a superfície da célula hospedeira propiciando a sua internalização. Uma vez na célula, o RNA viral consegue se proteger através dessas proteínas. O vírus usa a célula para sintetizar as proteínas não-estruturais, RNA polimerase, helicase, e dessa forma gerar suas próprias cópias, através das proteínas estruturais formando um novo vírus. Os novos vírus ao serem liberados podem infectar outras células hepáticas. O mecanismo de replicação é bastante e, portanto, alguns eventos ainda não são bem entendidos.

Embora o VHC tenha tropismo primário para o fígado, ele também é encontrado nas células de medula óssea, monócitos e macrófagos (CD15), linfócitos B (CD19), granulócitos (CD15) e neurônio. A importância clínica dessa reserva extra-hepática como pool de replicação ainda não foi definida (33). Os mecanismos patogênicos para lesão hepática nas agressões aguda (hepatite aguda) pelo VHC não são claros, mas acredita-se que a resposta imune celular do hospedeiro pode estar envolvida. Nas agressões crônicas existe uma forte evidência que a resposta celular do hospedeiro está envolvida no controle da replicação viral e embora seja insuficiente para conter a viremia, é suficiente para o desenvolvimento de lesões hepatocelulares, através da elaboração de citocinas inflamatórias (36,38,39).

Estudos de imunofenotipagem das células presente no infiltrado inflamatório intrahepático, nas lesões provocadas pela infecção causada pelo VHC, mostram um predomínio de células T, com uma proporção significativa de CD4+ e CD8+, sugerindo que o sistema imune está envolvido na patogênese da doença hepática (1,35,36). As células Th1 secretam entre outras citocinas, a interleucina 2 (IL-2) e interferon gama (INF- $\gamma$ ), estimulando uma resposta contra o vírus. As células Th2 produzem interleucinas 4 e 10 (IL-2 e IL-10) que inibem os mecanismos de respostas Th1. Existem dados na literatura que sugerem um predomínio da resposta imunológica TH2 ao VHC (inibição da atividade de células efectoras), encontrando no sangue periférico um alto índice de IL-4 e IL-10. Entretanto outros dados mostram que a resposta TH2 se expressa em níveis normais, sendo a resposta TH1 diminuída e portanto inadequada (37,38). A



proliferação das células T efectoras parecem aumentar, bloqueando o receptor da IL-10, desencadeando mecanismos de ação anti-inflamatória e anti-fibrosante no fígado (28,35).

Em relação à memória imunológica, há evidências que os linfócitos T citotóxicos (CTLs) de memória, tem um papel protetor, essencial na hepatite C crônica (37). No entanto um relato de caso descrito por Proust, na França, em relação à resposta foi que uma infecção não confere proteção a infecções subseqüentes do vírus C. Neste relato, um paciente infectado com um genótipo tipo 1, após normalização de transaminases, teve uma segunda infecção com o tipo 3 (40). Muitos estudos estão sendo realizados para que se possa conhecer e entender melhor a resposta imunológica do hospedeiro ao VHC.

### *2.3.1 HISTORIA NATURAL*

Apesar dos inúmeros estudos, precisar a história natural da hepatite C ainda é difícil. A forma aguda da infecção é menos freqüente e de difícil diagnóstico podendo se apresentar de forma semelhante à hepatite A e B. Segundo o CDC a falta de marcadores sorológicos para hepatite C aguda é a principal dificuldade no diagnóstico (4).

Alguns autores em estudos retrospectivos estipulam o tempo médio para desenvolver hepatite crônica entre 10 a 13 anos de 65% a 85% dos indivíduos infectados, como citado anteriormente, sendo que aproximadamente 15-20% eliminam espontaneamente o vírus (1,2,6,13). A maioria dos indivíduos com hepatite C crônica têm histologicamente grau de lesão moderado. A cirrose pode se desenvolver em 15% a 20% dos infectados após 21 anos de exposição e o aparecimento de hepatocarcinoma após 29 anos (1,6). Essas alterações da arquitetura do fígado não são patognomônicos da infecção pelo VHC. Todavia a inflamação causada pelo VHC tende a evoluir de maneira lenta, mas em geral de forma progressiva para cirrose e falência hepática, dentro dos períodos citados acima. O método padrão ouro para avaliar o dano associado a hepatite viral é a biópsia hepática (41,42). Apesar da sua precisão para avaliar o dano hepático, muitos pacientes se recusam a fazer uma segunda biópsia e ainda pode-se ter muito

erro de amostragem, tais motivos tem estimulado a busca de fatores que possam prever o grau de fibrose hepática e de atividade inflamatória sem a biópsia, como o “fibrotest”, que possui sensibilidade de até 80 % (43,44,45). Este método, não invasivo, avalia os níveis de seis marcadores bioquímicos, bilirrubina total, gamma-glutamyl-transpeptidase,  $\alpha$ -2 macroglobulina, apolipoproteína A1, haptoglobina e ALT ajustando os valores dos “cut-of”, com análise algoritma patentada (43).

Co-fatores podem contribuir para alterar o período em que ocorre o dano e a progressão da doença, estes incluem sexo, idade a exposição, consumo excessivo de álcool, presença de agentes etiológicos competidores para doença hepática. Fatores genéticos dependentes do hospedeiro (especificamente HLA classe II) têm mostrado uma relação com a clearance viral (46). As diferenças hereditárias na expressão dos genes de citocinas podem ser responsáveis pela progressão da doença hepática, como o grau de inflamação e fibrose associado à expressão hepática de interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e receptor agonista para IL1, levando a aumentar a atividade de IL1 $\beta$  (46,47,48). Outros estudos associam o polimorfismo dos promotores interleucina 10 e polimorfismo do gene do TGF $\beta$  (Fator de Crescimento Transformador) com a susceptibilidade de evolução para forma crônica da hepatite C e intensidade de doença; pacientes que apresentavam maior grau de fibrose hepática apresentavam também polimorfismo do TGF- $\beta$ , quando comparados àqueles com grau de fibrose moderado (49,50). Essas associações não foram confirmadas em outros estudos (51,52). Correlações entre polimorfismo dos genes das citocinas e hepatocarcinoma em indivíduos infectados pelo vírus ainda não demonstram resultados conclusivos (48).

A lesão hepática parece ser semelhante independente do tipo de genótipo, embora alguns estudos venham sugerir o genótipo 1b como mais agressivo (1,35). Isto se explica, em parte, pelo fato do genótipo 1b apresentar pior resposta terapêutica em relação aos genótipos 1a, 2a, 2b e 3a (5,53). Outra observação é que o genótipo 1a apresenta melhor resposta a monoterapia com interferon que aqueles infectados com 1b, independente de idade e duração da doença (27,56). Outros fatores também podem estar envolvidos nos mecanismos de respostas ao tratamento como a cinética viral e etnia/raça como visto em estudos com caucasianos e afro-americanos infectados com genótipo 1 e que apresentaram diferentes respostas ao

tratamento (56,57). Em relação à carga viral, sua principal importância está em monitorar a eficácia da resposta terapêutica nos indivíduos em tratamento (29). Quando existe resposta virológica completa a carga viral reduz a níveis indetectáveis (57). Entretanto, não existe correlação entre carga viral inicial e grau de doença ou progressão (34,56), assim como ainda é controverso os estudos que avaliam o valor preditivo da carga viral em relação a resposta terapêutica (58,59,60).

### 2.3.2 HISTOPATOLOGIA

Dois aspectos principais são avaliados na histopatologia da hepatite C, o grau de atividade e da fibrose (41). A atividade é verificada observando a presença e a quantidade de células inflamatórias, infiltrado em área portal, e destruição de hepatócitos (64,65,66). A fibrose se limita às áreas portal e periportal, e em casos avançados ela se estende da área portal para outras áreas, formando as “bridging fibrosis”. Outras alterações como esteatoses micro e macrovacular também são encontradas. Segundo a literatura a presença de esteatose pode ter uma associação com o genótipo 3 (67).

Atualmente os aspectos histológicos encontrados na infecção pelo HCV são agrupados em sistemas numéricos semiquantitativo, para avaliar o grau de atividade da hepatite e o estagio (extensão) da fibrose hepática (69). Três sistemas de escore foram definidos para esta avaliação: o Index de Atividade Histológica - HAI (Histology Activity Index) (69) “Ishak Modified HAI” (70) e o METAVIR (71,72). Na classificação METAVIR o grau de fibrose é classificado de 0 a 4, seguindo os achados de ausência de Fibrose (grau 0), fibrose portal (grau 1), “bridging fibrosis” (graus 2 e 3) e cirrose (grau 4).

Fatores do hospedeiro como idade, consumo de álcool e sexo estão fortemente associados com progressão da fibrose (73,74,75). A fibrose hepática pode progredir para cirrose, se caracterizando por formação de nódulos e contração do fígado. A cirrose é encontrada em aproximadamente 29% dos casos de infecção por VHC (59).

A biopsia hepática é necessária para o diagnóstico e prognóstico da hepatite C. A avaliação do grau de atividade da hepatite e o estadiamento das lesões hepáticas biopsiadas são importantes, principalmente para pacientes que apresentam na biopsia inicial necroinflamação, fibrose septal, e regiões nodulares, o que constituem alto risco para o desenvolvimento de cirrose (61).

Tabela 1.0 - Grau Histológico e Estadiamento da Hepatite C

ESCALA	NECRO-INFLAMAÇÃO	FIBROSE	SCORE TOTAL
Index de			0 – 22
Actividade Histológica (HAI)	0 – 18	0 – 4	
Ishak Modificado	0 – 18	0 – 6	0 – 24
HAI			
METAVIR	0 – 3	0 – 4	0 – 7

Adaptado de Willian Carey, 2003. Clev. Clin. Med; 70(4):7-13

## 2.4 MECANISMOS DE TRANSMISSÃO

O vírus da hepatite C é difundido por transmissão parenteral, principalmente transfusão sanguínea antes de 1992, uso de drogas injetáveis, diálise renal, acidentes com material perfuro-cortante, uso de cocaína intranasal, uso de piercing e tatuagem. Outras vias como sexual e vertical são menos eficientes na transmissão do vírus (4,12).

Alguns dados são controversos em relação a transmissão intranasal do VHC. Enquanto o CDC atribui risco incerto ao uso de cocaína intranasal outro estudo registra 32 % a prevalência do VHC nos indivíduos que só usam cocaína intranasal (76). Em relação a via sexual, os números também tem variado (7,77,78). Estudo realizado na Itália traz sugestões importantes como a ausência de associações estatisticamente significantes (análise univariada) entre indivíduos que relataram uso de preservativo e parceiro único (marido ou não), quando comparados com aqueles com comportamento diferente. Isto contribui para confirmar a baixa infectividade da

rota sexual que circula em torno 3% quando comparado a outras vias (79). A infectividade se encontra aumentada nesta via quando há co-infecções, principalmente com o HIV (80,81). O mesmo ocorre com a transmissão vertical (82).

#### *2.4.1 TRANSMISSÃO ENTRE UDIs*

O uso de drogas intravenosas é atualmente considerada, como a via de transmissão mais comum no mundo, quando comparado a outras rotas (4,12,83,84,85), inclusive no Brasil (77,86,87). Comportamento de risco como promiscuidade sexual, compartilhar agulhas, seringas ou equipamentos para preparação de drogas, associados ao uso de drogas intravenosas aumentam o risco a infecção pelo VHC (88,89). Outro fator de risco nesse grupo deve-se a falta de informação sobre o VHC, levando a uma postura negligente dos usuários de drogas injetáveis (UDIs), em relação aos cuidados que deveriam adotar como portadores de outras doenças infecciosas (90,91). Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil o uso de equipamentos utilizados na auto-administração de drogas injetáveis é direta ou indiretamente responsável em até 25 % do total de casos de AIDs, sendo também característico nesta população, altas prevalências de doenças de transmissão sanguínea com hepatite C (92). Nos Estados Unidos, 60% da transmissão do VHC está atribuída ao uso de drogas injetáveis (4,94,95,96).

Os indivíduos usuários de drogas intravenosas (UDIs) apresentam uma alta prevalência de infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) em relação a outros grupos sob risco e população em geral em todo mundo (4,12,83,84,85), com números que variam entre 50 a 90 %. No Brasil os números registrados entre os UDIs atingem 74% (86,87).

Estudos populacionais baseados nas características epidemiológicas do VHC demonstram uma associação entre hepatite aguda, hepatite crônica, cirrose hepática ou hepatocarcinoma com VHC em 27 % dos indivíduos UDI estudados (95). No Peru, em estudo de coorte o risco de infecção pelo vírus C nos usuários de drogas injetáveis, foi até três vezes mais em relação aos indivíduos não usuários (97). Traçar as características epidemiológicas nesses indivíduos é difícil principalmente pela postura de não responder aos questionários aplicados nos

estudos (84). No Brasil, os dados do Ministério da Saúde revelam que existem cerca de 800.000 UDIs, com idade variando de 18 a 30 anos, e uma média de 16 anos para o primeiro contato com drogas injetáveis. Destes 85% relatam uso de drogas em grupo e 80% já foram detidos pelo menos uma vez, sendo a prevalência HIV 36, 5% e de VHC de 56, 4% (93).

A infecção pelo VHC entre UDIs é maior que pelo HIV, sugerindo que as medidas e campanhas de prevenção para AIDS não alcançam na mesma proporção a prevenção da Hepatite C, entretanto contribui de maneira indireta para um decréscimo na prevalência da hepatite C (98,99,100). Esses dados sugerem a necessidade da elaboração de campanha de saúde pública voltada para a transmissão da hepatite C e o uso de drogas ilícitas injetáveis no sentido de minimizar essa rota de transmissão, portanto medidas epidemiológicas preventivas.



QUADRO I – SOROPREVALÊNCIA DE VHC ENTRE UDIs NO MUNDO.

LOCALIDADE	PREVALENCIA	PREVALÊNCIA	REFERÊNCIA
	GERAL	EM UDIs	
EUA	1,7 – 2,0 %	90 %	Swan, 2003
ITALIA	3 – 8 %	74 %	Lugobone, 2003
AUSTRÁLIA	< 1%	80 %	Law & Batey, 2003
BRASIL	1,5 – 1,7 %	56,4 %	MS, 2003
CANADA	1,8%	85,3 %	CDC, 2003

QUADRO II – SOROPREVALÊNCIA DE VHC ENTRE POPULAÇÕES DISTINTAS EM SALVADOR – BAHIA, 2003.

POPULAÇÃO	SOPREVALENCIA(anti-VHC)	VIREMIA(VHC-RNA)
DOADORES IM:35,8 anos	1,5 %	52,7 %
UDIs IM:26 anos	35,2 %	83,8 %
FALCÊMICOS IM:20,5 anos	12,1 %	50 %
HEMOFÍLICOS IM:25,9 anos	42,3 %	77,4 %
HEMODIALISADOS IM:26 anos	8,9 %	55,9 %

### **3.OBJETIVOS**

Determinar a prevalência e a distribuição dos genótipos do VHC entre os usuários e ex-usuários de drogas intravenosas em três áreas, Calabar, Engenho Velho da Federação e Ribeira na cidade de Salvador- Bahia, onde existe intenso tráfico e uso de drogas.



#### 4. ARTIGO

PREVALENCE AND GENOTYPES OF THE HEPATITIS C VIRUS (HCV) AMONG INTRAVENOUS DRUG USERS FROM SALVADOR-BA, BRAZIL.

Silva, M. B.<sup>1</sup>; Andrade, T.M<sup>3</sup>; Silva, L.K.<sup>1</sup>; Rodart, I.F<sup>1</sup>; Lopes, G.B.<sup>2</sup>; Dourado, I.<sup>2</sup>; Reis, M. G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Pathology and Molecular Biology (LPBM), Gonçalo Moniz Research Center/FIOCRUZ, Salvador-BA, Brazil; <sup>2</sup> Public Health School, UFBA, Salvador-BA, Brazil; <sup>3</sup> Fatima Cavalcanti Harm Reduction Alliance - School of Medicine, UFBA.

E-mail: [miter@cpqgm.fiocruz.br](mailto:miter@cpqgm.fiocruz.br)

#### ABSTRACT

Hepatitis C virus (HCV) infection constitutes the major infectious disease among intravenous drug users (IDUs). The prevalence of HCV infection in this group has been estimated and ranges mostly from 60% to 80%. Exposure such as blood transfusions before 1992, intravenous drug use, and tattooing are well-established risk factors for HCV infection. In this study was determined the prevalence of HCV infection and genotypes among IDUs in an area of northeastern Brazil. Serum samples from 398 volunteers were collected in the localities of Engenho Velho da Federação, Calabar and Ribeira, in the city of Salvador, state of Bahia, using the so-called snowball technique. Serological anti-HCV antibody was detected by ELISA. Viral detection was performed using RT-PCR and HCV genotyping by RFLP. HCV genotypes were classified according to Simmonds' classification. Anti-HCV seroprevalence among IDUs was 35.2 % (69/194). Viremia was detected in 83.8% (57/68) of positive anti-HCV antibody

subjects. HCV genotype 1- with 76.4 % (39/51) - was the most prevalent, followed by genotype 3 with 19.6 % (10/51). These results show a higher prevalence of HCV among IDUs compared with other segments of the general population. However, the distribution of genotypes was similar to those in other areas of Brazil.

## INTRODUCTION:

Worldwide it is estimated that 170 million people are infected with the Hepatitis C Virus (HCV) with an additional 3 to 4 million new infections occurring each year (1). HCV is a major cause of acute hepatitis and chronic liver disease, including cirrhosis and liver cancer. In United States about 60% of the HCV transmission is attributed to the use of intravenous drugs (2). A high prevalence of HCV infection has been reported among intravenous drug users (IDUs) compared to other groups and the general population, with infection rates ranging from 50 to 90% among IDUs (3,4,5). The Hepatitis C virus is recognized as an important public health problem among the IDUs. As in other countries, the use of intravenous drugs has a strong connection with HCV infection in Brazil (7,8,9). Risky behaviors such as sexual promiscuity, sharing needles, syringes or equipment used in drug preparation is common among IDUs and HCV status knowledge increase the risk of Hepatitis C infection (10, 11,12).

The immunological window has indirect influence on the increase of the risk transmission, because individuals considered seronegatives (anti-HCV-negative), think that are healthy and do not realize the importance of repeat exams (13). Studies have appearing to guide HCV transmission prevention programs, witch has been proposed by the harm reduction programs (14,15,16).

The data from these studies have important implications for screening programs and document the need to prevent the spread of other blood-borne viruses with HCV among IDUs. Intravenous drug use represents a major risk factor for HCV transmission and accounts for the majority of new infections. In the present study, we sought to investigate the prevalence of HCV among IDU and the data may indirectly suggests that other factors can be important in preventing transmission among IDUs.

## **MATERIAL AND METHODS**

**Study Design and Study Population** –398 subjects were enrolled in this cross-sectional study, which included 198 intravenous drugs users (IDUs), 100 ex-users of intravenous drugs (Ex-IDUs) and 100 samples from non-drug users (Non-IDUs). This Non-IDU group (Non-IDUs) was selected using the same snowball method with questionnaire applicable, in some localities with IDUs and Ex-IDUs. A snowball sample is a judgment-based sample that is used to obtain information from populations with unique characteristics (17). Thus, the sample "snowballed" as participants identified other participants. A key aspect of the snowball technique is finding an appropriate set of initial participants (18). This investigation is part of a Brazilian multicenter study to determine the seroprevalence and pattern of HIV infection among IDUs in different regions of Brazil. Blood samples were collected in the localities of Engenho Velho da Federação, Calabar and Ribeira, in the city of Salvador, state of Bahia. All samples were collected in 2000. The three areas are characterized by an intense drug use and drug dealing, as previously described by Andrade et al (16,19) and were the locations of three Needle Exchange Program (NEP).

**Serology** –Serological tests for anti-HCV detection were performed using commercially available automated immunoassays (MEIA, Axym System, Abbott), at the Central Laboratory of Bahia (LACEN).

**Detection of HCV-RNA by RT-PCR** – Viral RNA was extracted by using 200  $\mu$ l serum and 200  $\mu$ l TRIZOL LS (Invitrogen, Ca, EUA). RT-CPR was carried out using primers pairs 939/209 and 940/211 (Invitrogen, Ca, EUA) as previously described (21). The PCR products were submitted to electrophoresis using gel agarose at 1,5% in TAE 1X and respective fragment of 256 pb were visualized.

**Genotyping and subtyping** – HCV genotyping was carried out using Realized by analysis Restriction Fragment Length Polymorphism analysis (RFLP), as described by Davidson (21), using restriction enzymes HaeIII-RsaI, MvaI-HinfI, BstUI and ScrFI (Invitrogen, Ca, EUA). Viral genotypes were classified according to Simmond's et al (22).

### **Data Analysis**

The data was analyzed using the Epi-info program version 6.0 (Centers For Disease Control and Prevention, USA), where all individuals from the study were registered. The statistical significance of the prevalence of infections obtained was tested using the Chi square test.

## **RESULTS**

The characteristics of the studied sample are shown in Table 1. The majority of the subjects were male: IDUs – 98.5%, Ex-IDUs – 89.7% and Non-IDUs – 80%, with an average age of  $26.6 \pm 7.7$  years (IDUs),  $27.8 \pm 6.9$  years (Ex-IDUs) and  $23.7 \pm 6.4$  years (Non-IDUs). The Table 2 summarize the results of anti-HCV, HCV-RNA and genotype in groups. Of the 383 subjects tested to anti-HCV, 35.2 % (59/194) were positive among IDUs, 28.9% (28/94) positive among ex-IDUs and 5.3% (5/95) positive

among non-IDUs. From the 69 anti-HCV positive IDUs, 83.8 %(57/68) presented HCV-RNA; one sample was insufficient for PCR analysis (IDU 7). Among anti-HCV positive Ex-IDU tested to HCV-RNA 76.9% were positive. All 5 anti-HCV positive non-IDU were tested positive for HCV-RNA.

Genotype 1 was the most prevalent among IDU 76.4%(39/51): subtype 1a= 69.4%(25/36); 1b=16.7 %(6/36) and 3a= 13.9%(5/36); follow by genotype 3=19.6% and mixed infection 1 and 3 were found in 3.9%. Among Ex-IDU the most prevalent genotype was the 1: subtype 1a=71.4%(5/17); 1b and 3a, both 14.3% (1/7) each one; follow by genotype 3 and Mix, both with 14.3(2/14). Among non-IDU the most prevalent subtype was 3, 60%(3/5) followed by 1 and Mix, both with 20% (1/5).

## **DISCUSSION**

The prevalence of HCV in IDUs in the city of Salvador (35.2%) was lower than usually described (1,3,4,5,6). This study confirms that the risk of HCV infection is high among IDUs when compared to non-IDUs. The level of seroprevalence found in our samples was lower than that mentioned in a study of IDUs in the cities of Santos (SP) and Rio de Janeiro (RJ), with 74% and 69.8%, respectively (7,8). The low prevalence observed in our study, may be related to the interference of the harm reduction program, in Salvador, once the sample collection were realized two years after it's implementation. Another important information refers to the differentiated behavior among the subjects who use intravenous drugs in the various Brazilian localities. According to the study of Oliveira, in Rio de Janeiro, the variable that measures the sharing of syringes corresponded to 73 %, whereas in Salvador this number is 17 % (7,4). The viremia in these individuals was significantly high, characterizing IDUs as important carriers of HCV also in Salvador and confirming the strong association

between HCV infection and intravenous drug use, when compared to the general population, in which the prevalence is 1.5% (23).

The high proportion of IDUs infected by HCV is frequently observed in individuals with a mean age varying from 24 to 35 years (7,9,11,14). In our group, the participants (IDUs) have a mean age of 26.6 ( $\pm 7.7$ ). The data described by Andrade et al., shows that the mean age at first intravenous drug use was of 15 years (16). Following the natural course of the disease in retrospective studies, this period (10-20 years) is stipulated to develop chronic hepatitis (1), which leads to an increase in government health costs, aggravated by the fact that this population is supposed to be active.

Genotypical distribution can vary from decade to decade, as it depends on the circulation of the genotype during a determined period (14,24,25,28). The most prevalent genotype in our group was 1, subtype 1a, followed by genotype 3, which is similar to the European distribution (26,27,28). The prevalence of the subtype 1a in this group differs from the population of the reference centers in Salvador, that is, ambulatory patients, where the genotype 1b (38.6%) is more prevalent than 1a (24%) (29). Interestingly, our results demonstrated that the genotype 1 is not predominant in the non-IDU group, where the HCV- 3 was the most frequent genotype. The date was similar to that observed in a population-based study in Salvador city (23). The HCV-1 too was most prevalent among IDU, in other study, which investigated HCV genotype distribution in Brazil (34). In Brazil, the most prevalent genotypes circulating in the general population are 1 and 3 (35).

The presence of multiple risk factors among IDUs (in addition to the main factor of sharing syringes/needles) including intranasal drugs use, tattooing, body/ear piercing among others, contributes to increased risk among IDUs (13,36), even within one year

of starting drug use (24,30). The level of information about HCV is still low among these individuals, leading to negligent behavior and contributing to an increase in the incidence of HCV infection (2,3). In countries such as England and Australia, the AIDS prevention programs and harm reduction favoured the decrease of the infection of HCV among the IDUs (43,44).

The results of our study suggest the need for a public health campaign focusing on the transmission of Hepatitis C, especially among illegal intravenous drugs users, aiming at minimizing this route of transmission, by providing epidemiologically preventive measures. We can mentioned the low prevalence as a Harm Reduction NEP consequence as documented by PN-DST/AIDS in Bahia.

Acknowledgements: Central Laboratory–LACEN, Virology Department for enabling the realization of serology tests, Dr. Bernardo Galvão and Noilson Lázaro Sousa Gonçalves, Public Health Advanced Laboratory (LASP)

**TABLES:**

**TABELA 1 – CHARACTERISTICS OF SUBJECTS ENROLLED IN THIS STUDY, IN SALVADOR-BAHIA, 2000.**

	IDU	EX-IDU	NON-IDU
<b>NUMBER</b>	<b>196</b>	<b>97</b>	<b>95</b>
<b>MEN AGE (years)</b>	<b>26,6 (± 7,7)</b>	<b>27,8 (6,9±)</b>	<b>23,7 (± 6,4)</b>
<b>SEX</b>			
<b>MALE</b>	<b>184 (93.87%)</b>	<b>87 (89.7 %)</b>	<b>76 (80 %)</b>

IDU- intravenous drug users; Ex-IDU- ex- intravenous drug users;

Non-IDU – non-intravenous drug users .

**TABLE 2 – SUMMARY OF RESULTS AMONG GROUPS.**

TEST	IDU	EX-IDU	NON-IDU
<b>ANTI-HCV POSITIVE</b>	<b>35.2 % (69/194)</b>	<b>28.9 % (28/94)</b>	<b>5.3 % (5/95)</b>
<b>HCV-RNA POSITIVE</b>	<b>83.8 % (57/68)</b>	<b>76.9 % (20/26)</b>	<b>100 % (5/5)</b>
<b>GENÓTYPE</b>			
<b>1</b>	<b>76.4 % (39/51)</b>	<b>85.7 % (12/14)</b>	<b>20 % (1/5)</b>
<b>3</b>	<b>19.6 % (10/51)</b>	<b>14.3 % (2/14)</b>	<b>60 % (3/5)</b>
<b>MIX</b>	<b>3.9 % (2/51)</b>	<b>14.3 % (2/14)</b>	<b>20 % (1/5)</b>
<b>SUBTYPO</b>			
<b>1A</b>	<b>69.4% (25/36)</b>	<b>71.4 % (5/7)</b>	<b>*</b>
<b>1B</b>	<b>16.7 % (6/36)</b>	<b>14.3 % (1/7)</b>	
<b>3A</b>	<b>13.9 % (5/36)</b>	<b>14.3 % (1/7)</b>	<b>60 % (3/5)</b>

\*samples were insufficient to HCV sub-type testing.



**REFERENCES:**

- 1 World Health Organization - Hepatitis C . 1 Fact sheet N°164. Revised October 2000
- 2 Patrizia Farci and Robert H Purcell – Clinical Significance of Hepatitis C Virus Genotypes and Quasispecies. *Semin Liver Disease* 2000; 20: 103-126
- 3 Holy Hagan and Don C. Des Jarlais – HIV and HCV Infection Among Injecting Drug Users. *Mt Sinai J Med* 2000;67 : 423-428.
- 4 Stein, MD; Maksad,J; Clarke, J – Hepatitis C Disease Among Injection Drug Users: Knowledge, Perceived Risk and Willingness to Receive Treatment. *Drug Alcohol Depend.* 2001;61(3):211-5
- 5 Thorpe, LE; Ouellet, LJ; Hershov et al. – Risk of Hepatitis C Virus Infection among Young adult Injection Drug Users Who Share Injection Equipment. *Am J Epidemiol.* 2002; 155: 645-53
- 6 Miller, CL; Johnston, C; Spittal, PM et al. – Opportunities for Prevention: Hepatitis C Prevalence and Incidence in a Cohort of Young Injection Drug Users. *Hepatology* 2002; 36: 737-42
- 7 Oliveira,M. L.A; Bastos, FI; Telles, PR et al. – Prevalence and Risk Factors For HBV, HCV and HDV Infections Among Injecting Drug Users From Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian J Med. and Biol. Research* 1999; 32: 1107-1114
- 8 De Carvalho, HB; Mesquita, F; Massad, E et al. – HIV and Infections of Similar Transmission Patterns in a Drug Injectors Community of Santos, Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996 ;12(1):84-92
- 9 Bastos FI; Lowndes CM, Castelo-Branco LR at al. – Sexual Behavior and Infection Rates for HIV, Blood-borne and Sexually Transmitted Infections among Patients attending Drug Treatment Centres in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J STD AIDS* 2000; 11: 383-92
- 10 Hagan, H; Hanne T; Weiss, MS et al. – Sharing of Drug Preparation Equipament as a Risk Factor For Hepatitis C. *Am J of Public Health* 2001; 91:, 42-46.
- 11 Kapadia, F; Vlahov, D; Des Jarlais at al. – Does Bleach Disinfection of Syringes Protect Against Hepatitis C Infection Among Young Adult Injection Drug Users? *Epidemiology* 2002; 13: 738-41

- 12 Vidal-Trecan, G; Coste, J; Varescon-Pousson, I et al. – HCV Status Knowledge and Risk Behaviours Amongst Intravenous Drug Users. *Eur J Epidemiol* 2000; 16: 439-45
- 13 Hahn, J.A; Page-Shafer, K; Lum,PJ at al. - Hepatitis C virus seroconversion among Young Injection Drug Users: Relationships and Risk. *J Infect Dis* 2002; 186: 1558-64
- 14 Crofts, N – Going Where the Epidemicis. Epidemiology and Control of Hepatitis C Among Injecting Drug Users. *Aust Fam Physician* 2001; 30: 420-425.
- 15 Harsch, HH; Pankiewicz, J; Rainey, C et al. – Hepatitis C Virus Infection in Cocaine Users – A Silent Epidemic. *Comm. M Health Journal* 2000; 6:225 – 233.
- 16 Andrade, T; Lurie, P; Medina, M G; Anderson, K; Dourado, I – The Opening of South Amacrica’s First Needle Exchange Program and an Epidemic of Crack Use in Salvador, Bahia-Brazil. *AIDS and Behavior* 2001; 5: 51-
- 17 Biernacki P, Waldorf D - Snowball sampling. *Social Methods Res.* 1981;10:141-63.
- 18 Frankel MR, Frankel LR - Some Recent Delopments in sample survey design. *J Mark Res.* 1977; 14:280-93.
- 19 Ministério da Saúde; 2001. Contribuição dos Estudos Multicêntricos Frente à Epidemia de HIV/Aids entre UDI no Brasil. Dez anos de Pesquisa em Redução de Danos. Brasília.. *Ministério da Saúde*
- 20 Ministério da Saúde, 2003 . A Política do Ministério da Saúde para a Atenção Integrada a Usuários de Álcool e outras Drogas – Ministério da Saúde, Secretaria Executiva, Secretaria Assistência a Saúde, Coordenação Nacional - DST/AIDS. 1ª Ed.- Brasília . *Ministério da Saúde, 2003. 56p – (Série E. Legislação de Saúde)*
- 21 Davison, F - *J. Gen Virol.* 1995; 76: 1197-205
- 22 Simmondss, P – Viral heterogeneity of the hepatitis C Virus. *J Hepatol.* 1999; 31( 1):54 – 60
- 23 Zarife, MA, Silva, LK; Silva, MB et al. – Prevalence of hepatitis C Vírus (HCV) in the Northeastern of Brazil: a population-based study. Submetido à publicação, 2003.

- 24 Pawlotsky, JM; Tsakiris, L; Roudot-Thoraval, F et al. – Relationship Between Hepatitis C Virus Genotypes and Sources of Infection in Patients with Chronic Hepatitis C. *Infect Dis.* 1996 ;173(2):509-12
- 25 Morice, Y; Roulot, D; Grando, S et al. – Phylogenetic Analyses Confirm the High Prevalence of Hepatitis C Virus (HCV) Type 4 in the Seine-Saint-Denis district (France) and Indicate Seven Different HCV-4 Subtypes Linked to Two Different Epidemiological Patterns. *J Gen Virol* 2001; 82:1001-1012
- 26 Krekulova, L; Rehak, V; Madrigal, N et al. – Genotypic and Epidemiologic Characteristics of Hepatitis C Virus Infections among Recent Injection Drug User and Nonuser Populations. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1435-8
- 27 Schreier, E; Roggendorf, M; Driesel, G et al. – Genotypes of Hepatitis C Virus Isolates from Different Parts of the World. *Arch Virol Suppl.* 1996;11:185-93
- 28 Bourliere, M; Barberin, JM; Guagliardo, V at al. – Epidemiological Chances in Hepatitis C genotypes in France : evidence in Intravenous Drug Users . *J Viral Hepat* 2002; 9: 62-70
- 29 Silva, L K; Parana, R; Souza, SP et al- Hepatitis C Virus (VHC) Genotypes in a Northeastern Area of Brazil (Salvador-Ba). *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62: 257-60.
- 30 Cochrane, A; Searle, B; Hardie, A et al. – A Genetic Analysis of hepatitis C Virus Transmission Between Injection Drug Users. *J. Inf. Disease* 2002; 186:1212-1221
- 31 Bronowicki, J-P; Venard, V; Botté, C et al.– Patient-to-Patient Transmission of Hepatitis C Virus during Colonoscopy. *N Engl J Med.* 1997;337(4):237-40.
- 32 Yee LJ; Weiss, H; Langner, RG et al.– Risk Factor for Acquisition of Hepatitis C Virus Infection: a Case Series and Potential Implications for Disease Surveillance. *BMC Infectious Disease* 2001; 1:8
- 33 Garden, RJ; Lai, S; Zhang, J et al. – Rapid Transmission of Hepatitis C Virus Among Young Injecting Heroin Users in Southern China. *IJE* 2003; 33: 182-188
- 34 Oliveira, MLA; Bastos, FI; Sabino et al. – Distribution of HCV Genotypes Among Different Exposure Categories in Brazil. *BJMBR* 1999; 32:279-282
- 35 Solange Busek and Guilherme Oliveira – Molecular Epidemiology of the Hepatitis C Virus in Brazil. *Genet. Mol. Res.* 2003; 2:117-123

- 36 Burattini, Mn, Massad, E, Rozman, M et al. Correlation between HIV and HCV in Brazilian prisoners: evidence for parenteral transmission inside prison. *Rev. Saúde Pública* 2000; 34 (5): 431-436
- 37 Habib, SE; Lovejoy, FH; Aspiin, C – Hepatitis C Prevalence and Risk Behavior of Injecting Drug Users in Sidney: a Continuing Concert. *Southeast Asian . J Trop Med Public Health* 2001; 32: 823-34
- 38 Hansurabhanon, T; Jiraphongsa, C; Tunsakun, P at al. – Infection With Hepatitis C Virus among Intravenous-drug Users: prevalence, genotypes and risk-factor-associated behavior patterns in Thailand. *Ann Trop Med Parasitol* 2002; 96: 615-625.
- 39 Norah A Terraut – Sexual Activity as a Risk Factor For Hepatitis C – *Hepatology* 2002; 36: 99-104.
- 40 Alter, HJ; Seeff, LB – Recovery, Persistence and Sequelae in Hepatitis C Virus Infection: a Perspective on long-term outcome. *Semin Liver Dis* 2000; 20:17-35
- 41 Dourado, I; Andrade, T; Carpenter, CL; Galvão-Castro, B – Risk Factor For Human T Cell Lymphotropic Virus Type I Among Injecting Drug Users in Northeast Brazil: Possibly Greater Efficiency of Male to Female Transmission. *Men Inst Oswaldo Cruz* 1999; 94 : 13-18.
- 42 Baveja UK, Chattopadhyaya D, Khera R, Joshi PM – A Cross Sectional Serological Study of the Co-infection of Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus and Human Immunodeficiency Virus Amongst a Cohort of IDUs at Delhi. *Indian J Med Microbiol* 2003; 21:280-283
- 43 Hope, VD; Judd, A; Hickman, M; Lamagni,T; Hunter, G; Stimson, GV; Jones, S, Donovan, L; Parry, JV; Gill, O - Prevalence of Hepatitis C Among Injection Drug Users in England and Wales: is Harm Reduction Working? *Am J Public Health*, 2001; 91:38-42.
- 44 MacDonald, MA; Wodak, AD, Dolan, KA, Beek, Igrid van; Cunningham, PH and John M Kaldor - Hepatitis C Virus Antibody Prevalence Among Injecting Drug Users at Selected Needle and Syringe Programs in Australia, 1995-1997. *MJA* 2000; 172:57-61

## 5. DISCUSSÃO

A prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C entre os usuários de drogas injetáveis na cidade de Salvador-Bahia, foi mais baixo que os números normalmente descritos em literatura e mais baixo que em dois grandes centros urbanos do país, Santos (69 %) e Rio de Janeiro (74%) (86,87). Isto pode sugerir um comportamento diferenciado entre os indivíduos que usam drogas injetáveis nas diversas localidades brasileiras. No estudo de Oliveira, no Rio de Janeiro a variável compartilhar agulhas/seringas correspondeu a 73 %, enquanto em Salvador este número é de 17 % (87,101). Em ambos estudos, as amostras foram selecionadas pelo mesmo método, “snowball” (102,103). Outro fator que pode ter influenciado na prevalência mais baixa em nosso meio, é a implantação, em 1995, do Programa de Redução de Danos pelo Ministério da Saúde em Salvador-Bahia, já que as amostras foram coletadas após a implantação deste programa (93).

A redução de danos é uma estratégia de saúde pública que tem como objetivo diminuir a disseminação do HIV/Aids e outras doenças de transmissão sangüínea entre os usuários de drogas injetáveis. Portanto, este programa contribui para não reutilização de seringas, bem como o seu compartilhamento entre os usuários. Na Austrália, após a implantação, em 1984, do programa de distribuição de seringas e agulhas entre os UDIs, observou-se um declínio na prevalência da infecção pelo VHC nos UDIs. A prevalência passou de 63 %, dados registrados em 1995, para 51% em 1996 e 48% em 1997. Este declínio também foi observado nos indivíduos que tinham três anos de uso de drogas injetáveis, passando de 22 %, para 13 % nos anos de 1996 e 1997 (104). Entretanto, em 2003, observou-se um aumento na infecção, apesar da atuação do programa; o que pode ser explicado pelo aumento do consumo de drogas pelos jovens (105).

Embora exista um registro anterior ao do nosso da soroprevalência de VHC em UDIs em Salvador, que corresponde a 77% (86), os testes foram realizados por ELISA de segunda geração, que tem sensibilidade e especificidade menor que o ELISA de terceira geração (106). Também não houve confirmação dos dados por RT-PCR. As amostras utilizadas faziam parte do Projeto- Brasil, 1998 na cidade de Salvador, estudo com enfoque nas características psicossociais e dos comportamentos de risco de HIV. Na amostra do Projeto-Brasil, os UDIs

entrevistados eram residentes ou freqüentadores do Centro Histórico, enquanto que no nosso estudo as amostras correspondiam aos bairros do Engenho Velho da Federação, Ribeira e Calabar, localidades residenciais, embora compartilhem características comuns com o Centro Histórico, sobretudo em relação consumo e tráfico de drogas. O programa de trocas de seringas por UDIs também foi implantado nestas localidades (93,101). Assim como no estudo com UDIs realizado no Rio de Janeiro (87), os indivíduos envolvidos no estudo do Projeto Brasil, também apresentavam outras variáveis que poderiam ter contribuído para prevalência mais alta como: compartilhar seringas/agulhas (63%), passagens por penitenciárias e atividades ilegais como principal fonte de renda (93,94).

Quando comparada a outras rotas de transmissão, o uso de drogas intravenosas ilícitas, representa atualmente a grande fonte de contaminação pelo vírus da hepatite C, (Quadro II) em todo o mundo, admitindo as outras vias como mais raras na Austrália (12,85), principalmente após a conduta rigorosa em relação à triagem nos bancos de sangue. Portanto, é reconhecida como importante fonte para elevar a incidência da hepatite C (105,107). Um dado do nosso estudo que contribui para confirmar o risco aumentado dos UDIs em relação à infecção pelo vírus da hepatite C, foi a prevalência mais baixa nos indivíduos identificados como ex-UDI (todos ex-UDIs tinham no mínimo seis meses sem uso de drogas injetáveis), o que também pode sugerir uma conduta menos negligente neste grupo. Embora o número de amostras positivas seja baixo, grupo de não-UDIs, significa 5,3% do total das amostras. No entanto é importante salientar que isto representa mais de duas vezes do valor encontrado para população em geral (25). Como o grupo de não-UDI compartilha do mesmo universo que o grupo UDI, é necessário verificar que outros fatores estão contribuindo para este aumento, ou ainda se no grupo de não-UDI existe algum fator de risco para infecção pelo VHC. Segundo a Organização Mundial de Saúde, atualmente são registrados 476 mil óbitos tendo a hepatite C como causa mortis.

Os UDIs apresentam maior risco para desenvolver doença hepática devido ao abuso de álcool e por apresentar co-infecção com outros vírus como HIV e vírus B da hepatite (80, 96,99,108). No nosso estudo 7,5 % mostraram testes positivos para HIV no estudo realizado por Andrade e colaboradores (88). Outra alerta, é o risco frequente de re-infecção que estes indivíduos estão suscetíveis,

levando a apresentação de quadro agudo da hepatite C, com registros de altos picos de transaminases (40,110). Os casos de infecções mista, em nosso estudo podem sugerir infecções sucessivas. As infecções sucessivas podem significar um avanço no que tange a prevenção da doença crônica, naqueles indivíduos que montam resposta do sistema imune de memória, por outro lado propicia a diversidade entre as espécies (21, 111,112). Essa diversidade pode levar a formação de isolados que podem apresentar comportamento diferentes do esperado em relação à terapêutica (40,113). As re-infecções e a falta de aderência ao tratamento têm servido de justificativas para o não tratamento em UDIs (114), embora, atualmente, existem grupos que admitem outra conduta, que deve ser avaliado caso-a-caso, pois existe registro de resposta virológica sustentada de 36 % (115,116).

Os primeiros estudos de hepatite C entre UDIs, realizados na Europa, sobretudo na França, sugeriam uma forte associação do genótipo 3 com uso de drogas ilícitas (117). No entanto, estudos posteriores mostraram genótipos diferentes predominando entre os UDIs, em distintas localidades da Europa e do mundo (84,110,111,112). Em 2001, o estudo de Morice e col. aponta o genótipo 4 como o mais prevalente entre este grupo, em Seine-Saint-Denis, distrito Francês, o que contribui para confirmar que não existe associação entre o uso de drogas ilícitas e genótipo do VHC e sim a dispersão de um tipo padrão, facilitado pelo compartilhamento de aparatos para o consumo da droga e embora em menor grau, o comportamento sexual entre estes indivíduos numa mesma comunidade (118). Outro estudo mais recente, também traz o genótipo 4 circulando entre os UDIs na Europa (119). É possível que a presença do genótipo 4 na Europa, se deva à proximidade com o continente Africano. Em Salvador, apesar na grande influência africana na origem da população, nenhum genótipo africano já foi registrado (120). A transmissão de UDI para UDI é fortemente sugerida com o predomínio de um genótipo e interessantemente difere do grupo de não-UDI onde o genótipo 3 corresponde a 60% das amostras genotipadas.

No estudo de distribuição genotípica entre diferentes categorias de exposição, realizado no Departamento de Hepatites Virais, do Instituto Oswaldo Cruz, um número proporcionalmente maior do genótipo 3 foi encontrado nos UDIs em relação a outras categorias como hemodialisados, doadores de sangue entre outros, contudo o genótipo 1 foi o mais prevalente (23). Cochrane e col., em 2002,

registra os genótipos 1 e 3 como os mais prevalentes entre os UDIs, e ainda sugere, com bases em análises da diversidade genética, que o genótipo 1 pode ter um caráter mais eficiente de transmissão (111). Até o momento não se tem registro do início da transmissão do VHC entre os UDIs.

Estudos de prevalência em grupos com maior exposição aos fatores de risco para hepatite C, como os usuários de drogas injetáveis levam a definir novos padrões epidemiológicos da hepatite C (121,122,124). A implantação de medidas de prevenção da toxicodependência e a redução do risco de transmissão, devem ser priorizadas pelo Sistema de Saúde, por todas as questões abordadas anteriormente, especialmente por sua contribuição para o aumento da incidência da hepatite C na população em geral e para o aumento da diversidade genética do vírus C. Estudo realizado na Inglaterra por Hope e col. (100) demonstrou que prevalência da hepatite C entre UDIs não segue o padrão dos outros países, com registros bem abaixo do normalmente encontrado. Acredita-se que as medidas adotadas para prevenção da infecção pelo HIV, tenham contribuído de forma indireta para prevenir a transmissão do HCV.

Os critérios estabelecidos pelos programas de redução de danos, devem focalizar também a prevenção da hepatite C. Enfatizando os riscos para aqueles que se contaminam com o vírus, sugerindo principalmente uma mudança no comportamento desses indivíduos. A mudança de conduta, sobretudo naqueles que compartilham aparatos para uso de drogas, favorece (de forma indireta) a redução da incidência da hepatite C. Estudos analíticos devem ser realizados para explicar a prevalência mais alta no grupo de não-usuários de drogas, quando comparados com a população em geral (25), assim como esclarecer o número maior do genótipo 3 neste grupo em relação ao UDI.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Patrizia Farci and Robert H Purcell – Clinical Significance of Hepatitis C Virus Genotypes and Quasispecies. *Semin Liver Dis.*, 2000; 20(1):103-126
2. Pessoa MG, Wright TL. Hepatitis C Infection in Transplantation. *Clin Liver Dis*, 1997;1:663-690
3. Alter, M. J.; Kruszon-Moran, D.; Nainan, O.V.; McQuillan, G. M.; Gao, F.; Moyer, L.A.; Kaslow, R. A.; Margolis, H. S. – The Prevalence of Hepatitis C Virus Infection in the USA, 1988 through 1994. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341:556-562
4. CDC. Recommendations for Prevention and Control of Hepatitis C Virus (HCV) Infection and HCV-Related Chronic Disease. *MMWR*, 1998/47 (RR19); 1-39
5. Frank, C; Mohamed, M K; Strickland, G T, Lavanchy, D; Arthur, R R; Magder, L S, Khoby, T El; Abdel-Wahab, Y; Aly Ohn, El S; Anwar, W; Ismail Sallam – The Role of Parenteral Antischistosomal Therapy in the Spread of Hepatitis C Virus in Egypt. *Lancet*, 2000; 355:887-891
6. Alter, HJ; Seeff, LB – Recovery, Persistence and Sequelae in Hepatitis C Virus Infection: a Perspective on Long-term Outcome. *Semin Liver Dis*, 2000; 20:17-35
7. Focaccia R, da Conceicao OJ, Sette H Jr, Sabino E, Bassit L, Nitrini DR, Lomar AV, Lorenzo R, Vieira De Souza F, Kiffer CR, Santos EB, Gonzales MP, Saez-Alquezar A, Riscal JR, Fischer D. – Estimated Prevalence of Viral Hepatitis in the General Population of the Municipality of São Paulo, Measured by a Serologic Survey of a Stratified, Randomized and Residence-Based Population. *Braz J Infect Dis.*, 1998;2(6):269-284.
8. Goncales Junior FL, Pedro Rde J, da Silva LJ, Boccato RS, Goncales NS. - [Post-transfusional hepatitis in the city of Campinas, SP, Brazil. II. Presence of anti-HBc and anti-HCV antibodies in blood donor candidates and

occurrence of post-transfusional hepatitis C in recipients of blood or derivatives]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 1993;35(1):63-71.

9. Martins RM, Porto SO, Vanderborgh BO, Rouzere CD, Queiroz DA, Cardoso DD, Yoshida CF. Short report: prevalence of hepatitis C viral antibody among Brazilian children, adolescents, and street youths. *Am J Trop Med Hyg.*, 1995;53(6):654-5.
10. Parolin MB, Russo AA, de Almeida PT, Baldanzi GR, Lopes RW. - [Multicenter study on the prevalence of hepatitis C virus infection in blood donors in the city of Curitiba, Brazil]. *Arq Gastroenterol.* 1999 ; 36(3):117-21
11. Mendes-Correia, MCJ; Barone, AA and Guastini, C – Hepatitis C Virus Soroprevalence and Risk Factors among Patients with HIV Infection. *Rev. Inst Med. Trop.*, 2001; 43(1):15-19
12. World Health Organization - Hepatitis C . 1 Fact sheet N°164 Revised October 2000
13. Jorge A. Marrero. Hepatocellular Carcinoma- *Curr Opin Gastroenterol*, 2003; 19:243-249
14. Choo, Q.L.; Kuo, G; Weiner, A J.; Overby, L.R.; Bradley, D.W.; Houghton, M.– Isolation of a cDNA Clone Derived from a Blood-borne non-A, non-B Viral Hepatitis Genome. *Science*, 1989; 224:359-362
15. Choo, K.L.; Richman, K. H.; Han, J. H. ;Berger, K.; Lee, C.; Dong, C.; Gallegos, C.; Medina-Self, D.; Barr, P. J.; G; Weiner, A.J.; Bradley, D. W; Kuo, G., and Houghton M.– Genetic Organization and Diversity of the Hepatitis C Virus. *Natl. Acad. Sci.*, 1991;88: 2451-2455
16. Kuo, G.; Choo, Q. L.; Alter, H. J.; Gitnick, G.L.; Redeker, A G.; Purcell, R. H.; Miyamura, T.; Dienstag, J.L.; Alter, M.J.; Stevens, C.E.; Tegtmeier, G.E.; Bonino, F.; Colombo, M.; Lee, W.S.; Kuo, C.; Berger, K.; Shuster, J.R., Overby, L.R., Bradley, D.W.; Houghton, M. – In Assay For Circulating Antibodies to a Major Etiologic Virus of Human Non-A, Non-B Hepatitis. *Science*, 1989;244:363-64

17. Alter, HJ; Purcell, RH; Shih, JW; Melpolder, JC; Houghton, M; Choo, QL and G Kuo- 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.*, 1989; 321(22):1494-1500
18. Enomoto, N., Sakuma, I., Asahina, Y., Kurosaki, M., Murakami, T., Yamamoto, C., Ogura, Y., Izumi, N., Marumo, F., and Sato, C. - Mutations in the Nonstructural Protein 5A Gene and Response to Interferon in Patients with Chronic Hepatitis C Virus 1b Infection. *N Engl. J. Med.*, 1996; 334:77-81
19. Kenneth E. Razan – Molecular Biology of Hepatitis C Infection – *Liver Transp*, 2000; 6:396-406
20. Shih-Yen Lo; Hans Hsiennhog Li – Variations Within Hepatitis C Virus E2 Protein and Response to Interferon Treatment. *Virus Research*, 2001;75:107-112
21. Stumpf, MPH and Pybus, OG – Genetic Diversity and Models of Viral Evolution for the Hepatitis C Virus. *FEMS Microbiology Letters*, 2002; 214:143-152
22. Dev, A ; Patel, K ; McHuthison, JG – Future Treatment of Hepatitis C: What's Around the Corner. *Infect Med*, 2004; 21(1):28-36
23. Oliveira, MLA; Bastos, FI; Sabino, RR; Paetzold, U; Schreier, E; Pauli and Yoshida, CFT – Distribution of HCV Genotypes Among Different Exposure Categories in Brazil. *BJMBR*, 1999; 32:279-282
24. Silva, L K, Parana, R; Souza, SP et al- Hepatitis C Virus (VHC) Genotypes in a Northeastern Area of Brazil (Salvador-Ba). *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62:257-60
25. Zarife, MA, Silva, LK; Silva, MB; Barreto, GL, Reis, MG – Prevalence of Hepatitis C Virus (HCV) in the Northeastern of Brazil: a population-based study. Submetido à publicação, 2003

26. Hepatite C – European Communicable Disease Bulletin – Euro Surveillance, 2003; 8 (5)
27. Georg M. Lauer and Bruce D. Walker – Hepatitis C Virus Infection. *N. Engl. J. Med.*, 2001; 345(1):41-52
28. Fried, MW – Side Effects of Therapy of Hepatitis C and their Management. *Hepatology.*, 2002; 36(suppl):237-244
29. Nezam H. Afdhal - Immunology and Pathogenesis of Hepatitis C Vírus - American Association for the Study of Liver Diseases 51st Annual Meeting and Postgraduate Course, 2000. Conferência.
30. Garcia, E. J; Puentes, A; Suárez, J; López, R; Vera, R; Rodriguez, L.E; Ocampo, M; Curtidor, H; Guzmán, Fanny; Urquiza, M; Patarroyo, M.E – Hepatitis C Virus (HCV) E1 and E2 Protein Regions that Specifically Bind to HepG2 Cells. *J Hepatol.*, 2002; 36:254-262
31. Pilere, P.; Uematsu, Y.; Campagnoli, S.; Galli, G.; Falugi, F.; Petracca, R.; Weiner, A.J.; Houghton, M.; Rosa, D.; Grandi, G.; Abrignani, S. – Binding of Hepatitis C Virus to CD81. *Science*, 1998; 282:938-941
32. Liam J. Fanning – The Iris Paradigm on the Natural Progression of Hepatitis C Virus Infection: An Investigation in a Homogeneous Patient Population Infected with HCV 1b (Review) – *I. J. Molecular Medicine*, 2002; 9:179-184
33. Abuaf N, Lunel F, Giral P, Borroto E, Laperche S, Poupon R, et al. Non-organ Specific Autoantibodies Associated With Chronic Hepatitis C Virus Hepatitis. *J Hepatol*, 1993;18:359-364
34. Poynard, T; Bedossa, P; Chevallier, M; Mathurin, P; Lemonnier, C; Trepo, C; Couzigou, P; Payen, JL; Sajus, M; Costa, JM; Vidau, M; Chaput, JC; - A Comparison of Three Interferon Alpha-2b Regimens for the Long-Term Treatment of Chronic Non-A, Non-B. *N. Engl. J. Med*, 1995; 332:1457-1462

35. EL, R. At all - Bloking of IL-10 receptor – A Novel Approach to Stimulate Virus Specific T Cell Reactivity in Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Hepatology*, 2000; 32:304
36. Johnson Yiu-Nam Lau – Mecanisms of Hepatic Toxicity IV. Pathogenetic Mechanisms Involved in Hepatitis C Virus-induced Liver Diseases. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 1998; 275(6):1217-1220
37. Shoukry, N. H; Grakoui, A; Houghton, M; Chien, D.Y; Ghrayeb, J; Reimann, K.A. and Christopher M. Walker - Memory CD8<sup>+</sup> T Cells Are Required for Protection from Persistent Hepatitis C Virus Infection . *J Exp Med.*, 2003 16;197(12):1645-1655
38. Onji, M., T. Kikuchi, I. Kumon, T. Masumoto, S. Ndano, K. Kajino, N. Horikee, and Y. Ohta - Intrahepatic Lymphocyte Subpopulations and HLA class I Antigen Expression by Hepatocytes in Chronic Hepatitis C. *Hepatogastroenterology*, 1992; 39 (4):340-343
39. Koziel MJ, Dudley D, Afdhal N, Grakoui A, Rice CM, Choo QL, Houghton M, Walker BD - HLA class I-restricted Cytotoxic T Lymphocytes Specific for Hepatitis C Virus. Identification of Multiple Epitopes and Characterization of Patterns of Cytokine Release. *J Clin Invest.*, 1995;96(5):2311-2321
40. Proust, B; Dubois, F; Bacq, Y; Pogam, SL; Rogez, S; Levillain, R and Alain Goudeau – Two Successive Hepatitis C Infections in an Intravenous Drug User. *J Clin. Microbiol.*, 2000; 38(8):3125-3127
41. Saadeh, S; Cammell, G; Carey, WD; Younossi, Z; Barnes, D; Easley, K. – The Role of Liver Biopsia in Chronic Hepatitis C. *Hepatology*, 2001; 33(1):196–200
42. Poynard, T; Bedossa, P and pierre Opolon – Natural History of Liver Fibrosis Progression in Patients with Chronic Hepatitis C. *Lancet*, 1997; 349 (9055): 825- 832

43. Albanis, E; Friedman, SL – Noninvasive Markers of Hepatic Fibrosis. *Clin Pers Gastroenterol.*, 2002; 5:182-187
44. Poynard, T; McHutchison, J; Manns, M; Myers, RB; Albrecht, J. – Biochemical Surrogate Markers of Liver Fibrosis and Activity in a Randomized Trial of Peginterferon alfa-2b and Ribavirin. *Hepatol*, 2003; 38:481-492
45. Poynard, T; Imbert-Bismut, F; Ratziu, V; Chevret, S; Jardel, C; Moussalli, J; Messous, D; Degos, F; GERMED cyt04 group.- Biochemical Markers of Liver Fibrosis in Patients Infected by Hepatitis C Virus: longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepat.*, 2002; 9 (2):128-33
46. Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, Clouston AD, Crawford DH, Shorthouse C, Purdie DM, Jonsson JR – Host Genetic Factors Influence Disease Progression in Chronic Hepatitis C. *Hepatology*, 2000; 31(4): 828-833
47. El-Nady,GM, Ling, R, Harrison, TJ – Gene Expression in HCV-Associated Hepatocellular Carcinoma - Upregulation of a Gene Encoding a Protein Related to the Ubiquitin-Conjugating Enzyme. *Liver Internat.*, 2003; 29(5):329-337
48. Bahr, M J; El Menuawy ,M; Boeker, KHW; Mushol, PBT; Manns, MP; Lichtinghagen, R – Cytokine Gene Polymorphisms and the Susceptibility to Liver Cirrhosis in Patients with Chronic Hepatitis C. *Liver Internat.* 2003; 23(6):420-425
49. Goyal, A; Kazim, SN; Sakhuja, P; Malhotra, V; Arora, N; Sarin, SK - Association of TNF-beta Polymorphism with Disease Severity among Patients Infected with Hepatitis C virus. *J Med Virol.* 2004 Mar;72(3):509
50. Abbott, WG; Rigopoulou, E; Haigh, P; Cooksley, H; Mullerova, I; Novelli, M; Winstanley, A; Williams, R; Naoumov, NV - Single Nucleotide Polymorphisms in the Interferon-gamma and Interleukin-10 genes do not Influence Chronic Hepatitis C Severity or T-cell Reactivity to Hepatitis C virus. *Liver Internat.*, 2004; 24 (2):90-97

51. Barrett, S; Collins, M; Kenny, C; Ryan, E; Keane, CO; Crowe, J. - Polymorphisms in Tumour Necrosis Factor-alpha, Transforming Growth Factor-beta, Interleukin-10, Interleukin-6, Interferon-gamma, and Outcome of Hepatitis C virus Infection. *J Med Virol.* 2003 Oct;71(2):212-218
52. Knapp, S; Hennig, BJW; Frondsham, AJ; Zhang, L; Hellier, S; Thomas, HC; Thursz, MR – Interleukin-10 Promoter Polymorphisms and the outcome of Hepatitis C virus Infection. *Immunogenetics*, 2003; 55:362-369
53. Kobayashi, M; Tanaka, E; Sodeyama, T; Urushihara, A; Matsumoto, A; Kiyosawa, K – The natural Course of Chronic Hepatitis C: a comparison between patients with genotypes 1 and 2 hepatitis C viruses. *Hepatology*, 1996; 23(4):696-699
54. Scott K. Fung; Anna S.F. Lok -Viral Hepatitis in 2003.*Curr Opin Gastroenterol*, 2004; 20(3):241-247
55. Rosen, H.R.; Miner, C.; Sasaki, AW.; Lewinsohn, D.M.; Conrad, A.J.; Bakke, A.; Archie Bouwer, and Hinrichs, D. – Frequencies of HCV-Specific effector CD4+ T Cells By Flow Cytometry: Correlation With Clinical Disease Stages. *Hepatology*, 2002;35:190-198
56. McHutchison, JG; Gordon, SC; Schiff, ER; Shiffman, ML; Lee, WM; Rustgi, VK; Goodman, ZD; Ling, MH; Cort, S; Albrecht, JK – Interferon Alpha-2b Alone or in combination With Ribavirin as Initial Treatment for Chronic Hepatitis C. *N.Engl. J Med.*, 1998; 339:1485-1492
57. Bain VG - Effect of HCV Viral Dynamics on Treatment Design: Lessons Learned from HIV. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(10):2818-2828
58. Mangia, A.; Spinzi, G; Vuturo, O; Pazienza, V; Iacobellis, A; Piattelli, M; A, Giacobbe; Leandro, G; Piermanni, V; Minoli, G; Montalto, G and A Andriulli - Viral Clearance in HCV Viraemic Patients With Normal Alanine Aminotransferase After Combination Therapy: A Controlled, Open-Labelled Study. *Aliment Pharmacol Ther*, 2004 19(3):331-337

59. Ward, R.P; Kugelmas, M; Libsch, K.D – Management of Hepatitis C: Evaluating Suitability for Drug Therapy. *Am. Fam. Physician*, 2004; 69 (6):1429-1438 NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002. *NIH Consens State Sci Statements*. 2002 ;19(3):1-46
60. Fried MW – Side Effects of Therapy of Hepatitis C and their Management. *Hepatology*., 2002; 36(suppl):237-244
61. Yano M, Kumada H, Kage M, et al. – The Long-term Pathological Evolution of Chronic Hepatitis C. *Hepatology*, 1996; 23:1334-1340
62. Pape. GR; Gerlach, TJ; Diepolper, HM – Role of the Specific T-cell Response for Clearance and Control of hepatitis C Virus. *J Viral Hepat*, 1999; 6 (1):36-40
63. Lyra, A; Braga, E; Lyra, L – Hepatite C: Da Transmissão ao Tratamento – *Moderna Hepatologia*, 2004; 30:11-19
64. Garcia, G; Keeffe, EB - Liver Biopsy in Chronic Hepatitis C: routine or selective. *Am J Gastroenterol.*, 2001; 96(11):3142-6
65. Maria Guido; Massimo Rugge - Liver Biopsy Sampling in Chronic Viral Hepatitis *Semin Liver Dis*, 2004 24(1):89-97
66. Brunt, EM – Liver Interpretation for the Gastroenterologist. *Curr gastroenterol. Rep*, 2000; 2:27-32
67. Rubbia-Brand, L; Leandro, G; Spahr, L; Giostra, E; Quard, R; PJ Male & F Negro. Liver Steatosis in Chronic Hepatitis C: a morphological sing suggesting infection with HCV genotype 3. *Histopathology*, 2001;39(2):119
68. Blingth, KJ; Kolykhalov, AA; Rice, CM – Efficient Initiation of HCV-RNA Replication in Cell Culture. *Science*, 2000; 2:27-32
69. Knodell, RG; Ishak, KG; Black, WC; Chen, TS; Craig, R; Kaplowitz, N; Kiernan, TW; Wollman, J – Formulation and Application of a Numerical



- Scoring System for Assessing Histological Activity in Asymptomatic Chronic Active Hepatitis. *J Hepatol.*, 2003; 38 (4):382-386
70. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, *et al.* Histological Grading and Staging of Chronic Hepatitis. *J Hepatol.*, 1995;22:696-9
71. The METAVIR Cooperative Group. Intra- and Inter-observer Variation in the Assessment of Liver Biopsy in Chronic Hepatitis C. *Hepatology*, 1994; 20:15-20
72. Poynard, T; Bedossa, P – An Algorithm for the Grading of Activity in Chronic Hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*, 1996; 24 (2):289-293
73. Befrits, R; Hedman, M; Blomquist, L; Allander, T; Grillner, L; Kinnman, N; Rubio, C; Hultcrantz, R – Chronic Hepatitis C in Alcoholic Patients: prevalence, genotypes and correlation to liver disease. *Scand J Gastroenterol.*, 1995; 30(11):1113-1118
74. Oliveira, LCM; Buso, AG; Oliveira, ATR; Arantes, CA, Borges, LV; Valente, SRG – Prevalence of Hepatitis B and Hepatitis C Markers in Alcoholics With and Without Clinically Evident Hepatic Cirrhosis. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 1999; 41(2)
75. Schiff, E – Hepatitis C and Alcohol. *Hepatology* 1997;26(3):39S-42S.
76. Gowdar IP, Shankar U, Ranjan D. - Higher Incidence of Hepatitis C in Young Patients Engaging in Intranasal Drugs and Commercial Tattooing in Appalachian Kentucky. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:S83
77. Bastos FI; Lowndes CM, Castelo-Branco LR; Linhares-de-Carvalho MI; O Elemann W; Bernier F; Morgado MG; Yoshida CF; Rozental T; alary M – Sexual Behavior and Infection Rates for HIV, Blood-borne and Sexually Transmitted Infections Among Patients atten Ding Drug Treatment Centres in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J STD AIDS*, 2000; 11(6):383-392

78. Weisbord, JS; Trepka, MJ; Zhang, G; Smith, IP and T Brewer - Sexual Transmission of HCV - Prevalence of and risk factors for hepatitis C virus infection among STD clinic clientele in Miami, Florida. *Sex Transm Inf*, 2003;79 :1e
79. Lugoboni, F; Pajusco, B; Sarti, M; Talamini, G; Mezzelani, P and D.C.DêsJarlais - Hepatitis C Virus Infection: Prevalence, Predictor Variables and Prevention Opportunities Among Drug Users in Italy. *J Viral Hepatology*, 2003; 10(5):394-400
80. Holy Hagan and Don C. Des Jarlais – HIV and HCV Infection Among Injecting Drug Users. *Mt Sinai J Med.*, 2000;67 (5):423-428
81. Mendes-Corrêa, MC; Barone, AA; Guastini, C – Hepatitis C Vírus and Factors Among Patients With HIV Infection. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 43: 15-19.
82. Ohto, H; Terazawa, S; Sasaki, N; Sasaki, N; Hino, K; Ishiwata, C; Kako, M; Ujiie, N; Endo, C; Matsui, A; Okamoto, H; Mishiro, S – Transimission of Hepatitis C Vírus from Mothers to Infants. *N Engl. J Med.*, 1994; 330 (11):744-750
83. Findor, JA; Sordá, JA, Daruich, J; Bruch Igartua, E; Manero, E; Avagnina, A; Benbassat, D; Rey, J; Nakatsuno, M – Distribución de los Genotipos del Virus de la Hepatitis C en una Población tina de Drogadictos Endovenosos. *Medicina*, 1999: 59(1):49-54
84. Krekulova, L; Rehak, V; Madrigal, N; Johnson, M; Killoran, P; Riley, LW – Genotypic and Epidemiologic Characteristics of Hepatitis C Virus Infections among Recent Injection Drug User and Nonuser Populations. *Clin Infect Dis*, 2001; 33 (8): 1435-1438
85. Robotin, MC; Copland, J; Tallis, G; Coleman, D; Giele, C; Carter, L; Spencer, J; Kaldor, JM; Dore, GJ – Surveillance for Newly Acquired Hepatitis C in Australia. *Gastroenterol Hepatol*, 2004; 19(3):283-288

86. De Carvalho HB, Mesquita F, Massad E, Bueno RC, Lopes GT, Ruiz MA, Burattini MN – HIV and Infections of Similar Transmission Patterns in a Drug Injectors Community of Santos, Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, 1996; 12(1):84-92
87. Oliveira, M. L.A; Bastos, FI; Telles, PR; Yoshida, CFT; Schatzmayr, HG; Paetzold, ; Pauli, and Schreier, E – Prevalence and Risk Factors For HBV, HCV and HDV Infections Among Injecting Drug Users From Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Med Biol Res*, 1999; 32(9):1107-1114
88. Hagan, H; Hanne T; Weiss, MS, Hopkins, SG, Duchin, JS, Alexander, R – Sharing of Drug Preparation Equipment as a Risk Factor For Hepatitis C. *Am J Public Health*, 2001; 91 (1):42-46.
89. Thorpe, LE; Ouellet, LJ; Hershow, R; Bailey, SL; Williams, IT; Williamson, J; Monterroso, ER; Garfein, RS – Risk of Hepatitis C Virus Infection among Young adult Injection Drug Users Who Share Injection Equipment. *Am J Epidemiol* 2002; 155(7):645-653
90. Stein, M.D; Maksad, J; Clarke, J – Hepatitis C Disease Among Injection Drug Users: Knowledge, Perceived Risk and Willingness to Receive Treatment. *Drug Alcohol Depend*, 2001;61(3):211-215
91. Vidal-Trecan, G; Coste, J; Varescon-Pousson, I; Christoforov, B; Boissonnas, A – HCV Status Knowledge and Risk Behaviours Amongst Intravenous Drug Users. *Eur J Epidemiol*, 2000; 16(5),439-445
92. Ministério da Saúde, 2003 - A Política do Ministério da Saúde para a Atenção Integrada a Usuários de Álcool e outras Drogas – Ministério da Saúde, Secretaria Executiva, Secretaria Assistência a Saúde, Coordenação Nacional - DST/AIDS. 1ª Ed.- Brasília . Ministério da Saúde, 2003. 56p – (Série E. Legislação de Saúde)
93. Ministério da Saúde; 2001. Contribuição dos Estudos Multicêntricos Frente à Epidemia de HIV/Aids entre UDI no Brasil. Dez anos de Pesquisa em Redução de Danos. Brasília. Ministério da Saúde.

94. Willian Carey – Test and Screening Strategies for the Diagnosis of Hepatitis C. *Cleveland Clin Med.*, 2003; 70(4):7-13
95. Herrine, SK; Weinberg, DS – Epidemiology of Hepatitis C Viral Infection. *Infect Med*, 1999; 16:111-117
96. CDC - Prevalence of Hepatitis C Virus Infection Among Clients of HIV Counseling and Testing Sites in ---Connecticut, 1999. *MMWR*, 2001; 50 (27):577-581
97. Sanchez, J.L; Sjogren, M. H; Callahan, J. D; Watts, D.M; Lucas, C; Abdel-Hamid, M; Constantine, N. T; Hyams, K. C; Hinostroza, S; Figueroa-Barrios, R and Judith C. Cuthie. – Hepatitis C in Peru: Risk Factors For Infection, Potential Latrogenic Transmission and Genotype Distribution. *Am. J.Trop. Med Hyg*, 2000; 63 (5,6):242-248
98. Dourado, I; Andrade, T; Carpenter, CL; Galvão-Castro, B – Risk Factor For Human T Cell Lymphotropic Virus Type I Among Injecting Drug Users in Northeast Brazil: Possibly Graater Efficiency of Male to Female Transmission. *Men Inst Oswaldo Cruz*, 1999; 94 (1):13-18
99. Baveja, UK; Chattopadhy, D; Khera, R; Joshi PM - A Cross Sectional Serological Study of the Co-infection of Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus and Human Immunodeficiency Virus Amongst a Cohort of IDUs at Delhi. *IJMM*, 2003; 21:280-283
100. Hope, VD; Judd, A; Hickman, M; Lamagni,T; Hunter, G; Stimson, GV; Jones, S; Donovan, L; Parry, JV; Gill, O - Prevalence of Hepatitis C Among Injection Drug Users in England and Wales: is Harm Reduction Working? *Am J Public Health*, 2001; 91:38-42.
101. Andrade, T; Lurie, P; Medina, M G; Anderson, K; Dourado, I – The Opening of South Amaeria’s First Needle Exchange Program and an Epidemic of Crack Use in Salvador, Bahia-Brazil. *AIDS and Behavior*, 2001; 5 (1):51-64 Biernacki P, Waldorf D. Snowball sampling. *Social Methods Res.* 1981;10:141- 63.

102. Frankel MR, Frankel LR. Some Recent Developments in sample survey design. *J Mark Res.* 1977; 14:280-93.
103. MacDonald, MA; Wodak, AD, Dolan, KA, Beek, Igrid van; Cunningham, PH and John M Kaldor - Hepatitis C Virus Antibody Prevalence Among Injecting Drug Users at Selected Needle and Syringe Programs in Australia, 1995-1997. *MJA* 2000; 172:57-61
104. Matthew G Law and Robert G Batey – Injecting Drug use in Australia: Needle/Syringe Programs Prove their Worth, but Hepatitis C Still on the Increase. *MJA*, 2003; 178 (5):197-198
105. Makris, K; Kouvelis, V; Drakopoulos, I; Oikonomou, E; Maniatis, A – Frequency and Characteristics of Post-transfusion Hepatitis in Greece with Emphasis on Hepatitis C: comparing second- and third-generation assays. *Transfus Med*, 1995;5(3):213-24
106. Patrick, DM; Tyndal, M WL; Cornelisse, PGA; Li, K; Sherlock, CH; Rekart, M L; Strathdee, S A; Currie, SL; Schechter, MT; O'Shaughnessy, M V – Incidence of Hepatitis C Virus Infection Among Injection Drug Users During an Outbreak of HIV Infection. *CMAJ*, 2001 ; 165 (7):889–895
107. van Beek, I; Dwyer, B; Dore, JG; Luo, K; Kaldor, JM - Infection with HIV and Hepatitis C Virus Among Injecting Drug Users in a Prevention Setting: Retrospective Cohort Study. *BMJ*, 1998; 317:433–437
108. Hepatitis C – European Communicable Disease Bulletin – *Euro Surveillanc*e, 2004; 8 (5)
109. Asselah, T; Vidaud, D; Doloy, A; Boyer, N; Martinot, M; Vidaud, M; Valla, D and Marcellin, P – Second Infection With a Different Hepatitis C Virus Genotype in a Intravenous Drug User During Interferon Therapy. *Gut*, 2003; 52:900-902
110. Cochrane, A; Searle, B; Hardie, A; Robertson, R; Delahooke, T; Cameron, S; Tedder, RS; Dusheiko, GM; Lamballerie, X and Peter Simmonds – A

- Genetic Analysis of hepatitis C Virus Transmission Between Injection Drug Users. *J. Inf. Disease*, 2002; 186:1212-1221
111. Martell, M; Esteban, JI; Quer, J; Genescà, J; Weiner, A; Esteban, R; Guardia, J and J Gómez – Hepatitis C virus (HCV) Circulates as a Population of Different but Closely Related Genomes: quasispecies nature of HCV genome distribution. *Virology*, 1992 ; 66(5): 3225–3229
112. Catherine Tamalet, Philippe Colson, Hervé Tissot-Dupont, Mireille Henry, Christian Tourres, Natacha Tivoli, Danielle Botta, Isabelle Ravaux, Isabelle Poizot-Martin, Nouara Yahi - Genomic and phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates: A survey of 535 strains circulating in southern France. *J Med Virology*, 2003: 71(3): 391-398
113. Tran, LC; Woods, AM; Herrera, JH - Treatment Guidelines Management of Hepatitis C Virus Infection. *Drug Benefit Trend*, 2004; 16(5):266-276
114. Dalgard, O; Bjoro, K; Hellum, K; Myrvang, B; Skaug, K; Gutigard, B; Bell H - Treatment of Chronic Hepatitis C in Injecting Drug Users: 5 years' follow-up. *Eur Addict Res* 2002 ; 8(1):45-49
115. Backmund, M; Meyer, K; von Zielonka, M; Eichenlaub, D. – Treatment of Hepatitis C Infection in Injection Drug Users. *Hepatology*, 2001; 34(1):188-193
116. Pawlotsky, JM; Tsakiris, L; Roudot-Thoraval, F; Pellet, C; Stuyver, L; Duval, J; Dhumeaux, D – Relationship Between Hepatitis C Virus Genotypes and Sources of Infection in Patients with Chronic Hepatitis C. *Infect Dis.*, 1996 ;173(2):509-12
117. Morice, Y; Roulot, D; Grando, Stirnemann, J; Gault, E; Jeantils, V; Bentata, M; Jarrousse, B; Lortholary, O; Pallier, C and Paul Dény – Phylogenetic Analyses Confirm the High Prevalence of Hepatitis C Virus (HCV) Type 4 in the Seine-Saint-Denis district (France) and Indicate Seven Different HCV-4 Subtypes Linked to Two Different Epidemiological Patterns. *J Gen Virology*, 2001; 82:1001-1012

118. Van Asten, L; Verhaest,I;Lamzira, S; Hernandez-Aguado, I; Zangerle, R; Boufassa, F; Rezza, G; Broers, B; Robertson, JR; Brettle,RP; McMEnamin, J; Prins, M; Cochrane, A; Simmonds, P; Coutinho,RA and Sylvia Bruisten – Spread of Hepatitis C Virus among European Injection Drug Users Infected with HIV: A Phylogenetic Analysis. *J Infec Diseases*, 2004; 189:292-302
119. Parana, R; Vitvitski, L; Berby, F; Portugal, M; Coltrim, H; Cavalcante, A; Lyra, L; Trepo, C - HCV Infection in Northeastern Brazil: unexpected high prevalence of genotype 3a and absence of african genotypes. *Arq. Gastroenterol.*, 2000; .37:.213-216
120. Crofts, N – Going Where the Epidemicis. Epidemiology and Control of Hepatitis C Among Injecting Drug Users. *Aust Fam Physician*, 2001;30(5):420-425.
121. Murray, KF; Richardson, LP; Morishima, C; Owens, JWM and David R. Gretch – Prevalence of hepatitis C Virus Infection and Risk Factors in an Incarcerated Juvenile Population: A Pilot Study. *PEDIATRICS*, 2003; 111(1):153-157
122. Scott K. Fung; Anna S.F. Lok -Viral Hepatitis in 2003.*Curr Opin Gastroenterol*, 2004; 20(3):241-247
123. Spaulding, AC; Lally, M; Rich, JD; Dieterich, DT - Hepatitis B and C in the Context of HIV Disease: Implications for Incarcerated Populations. *AIDS Read*, 1999; 9(7):481-491
124. Garden, RJ; Lai, S; Zhang, J; Liu, W; Chen, J; Vlahov, D and Xiao-Fang Yu – Rapid Trasmission of Hepatitis C Virus Among Youg Injecting Heroin Users in Souther China. *IJE*, 2003; 33:182-188
125. Nizar N. Zein - Clinical Significance of Hepatitis C Virus Genotypes.*Clin Microbiol. Rev*, 2000; 3(2):223-235
126. NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002.*NIH Consens State Sci Statements*. 2002 ;19(3):1-46

127. Kobayashi, M.; Tanaka, E.; Nakayama, Jun.; Furuwatari, C.; Katsuyama, T.; Kawasaki, S., and Kiyosawa, K. – Detection of Gb Virus-C/Hepatitis G Virus Genome in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Liver Tissue. *J.Med. Virology*, 1999;57:114-121.