

# INFEÇÃO FAMILIAR PELO VÍRUS DA HEPATITE C\*

HELENA P.MIRANDA, PAULA BATISTA, FÁTIMA OLIVEIRA, HENRIQUE BARROS

Serviço de Medicina Interna. Departamento de Medicina, Hospital Geral de Santo António.  
Serviço de Higiene e Epidemiologia. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Porto

## RESUMO

O objectivo do presente estudo foi determinar a prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em familiares de indivíduos com infecção crónica por esse vírus, e comparar as prevalências de infecção de acordo com os diferentes graus de parentesco. Estudaram-se 285 familiares (cônjuges, filhos, irmãos e pais) de 87 casos índice, anti-HCV positivo por ELISA e RIBA de segunda geração, identificados através do rastreio sistemático efectuado durante as dádivas de sangue. A prevalência global de anti-HCV, na amostra de familiares estudados, foi de 6,7%, mais alta nos cônjuges e mais baixa entre os filhos. A presença de RNA do HCV, detectada em 12 dos 45 casos índice em que foi pesquisada usando PCR (polymerase chain reaction), não se relacionou com um risco mais alto de infecção nos familiares. Num modelo de regressão logística, identificaram-se como factores significativamente associados com positividade anti-HCV a idade do caso índice e, em relação aos familiares, o sexo (masculino), a presença de marcadores de infecção pelo vírus da hepatite B e o facto de ser cônjuge do caso índice.

## SUMMARY

### Family aggregation of Hepatitis C

The aim of this study was to evaluate the prevalence of the antibody to hepatitis C virus (HCV) in the relatives of cases of asymptomatic chronic hepatitis C infection, detected during routine blood donation, and determine risk factors for the presence of the infection in the family setting. Two hundred and eighty-five relatives (spouses, offspring, siblings and parents) of 87 index cases were studied. Anti-HCV was detected using second generation ELISA and RIBA tests. The overall prevalence of anti-HCV in the studied population was 6.7%, higher in spouses (11.7%) and lower in the offspring (2.1%). The presence of HCV RNA was detected in 12 of 45 index cases, using nested PCR. No increased risk of infection was found in the relatives of cases with HCV-RNA positivity. Using a logistic regression model, four factors were identified as significantly associated with an increased risk of hepatitis C in the relatives: the age of the index case, and, as characteristics of the relatives, male gender, past or ongoing hepatitis B virus infection, and being a spouse of an index case.

\* Projecto Financiado pela Comissão de Fomento de Investigação em Cuidados de Saúde (106/93)

## INTRODUÇÃO

A identificação do material genético do vírus responsável pela maioria das hepatites não A - não B pós-transfusionais, tornou possível a caracterização epidemiológica e clínica das infecções que passaram a ser designadas como hepatites C<sup>1</sup>. No entanto, dados de investigação dos Centers for Disease Control (USA) tinham mostrado que só 5 a 10% dos doentes com hepatite não A, não B apresentavam história de transfusões e que em 40% dos casos de hepatite aguda não A - não B era impossível identificar uma via de transmissão<sup>2</sup>. O conjunto de estu-

dos realizados, nomeadamente recorrendo à análise retrospectiva de casos bem documentados de hepatite não A - não B, sugeriram que a infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) poderia ser transmitida por outras vias além da percutânea, como fora verificado em relação à hepatite B. O papel da transmissão materno-infantil, sexual ou pessoa a pessoa por via não sexual permanece contudo mal esclarecido e os resultados das investigações efectuadas são controversos<sup>3</sup>.

O presente estudo teve como objectivo determinar a prevalência de anti-HCV em familiares de indivíduos assintomáticos com infecção crónica pelo HCV, identifi-

cados através do rastreio sistemático efectuado aquando de dádiva de sangue, e avaliar o risco de infecção de acordo com os graus de parentesco.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os casos índice foram recrutados entre os dadores voluntários de sangue consecutivamente identificados como positivos para o anticorpo anti-HCV, durante os rastreios de rotina efectuados no Serviço de Sangue do Hospital Geral de Santo António. Foram incluídos no estudo 87 indivíduos, 13 mulheres e 74 homens com médias ( $\pm$  desvio padrão) de idade, respectivamente,  $38 \pm 10$  e  $36 \pm 11$  anos ( $p=0.322$ ). Todos eram repetidamente reactivos para o anti-HCV, em provas ELISA e RIBA (Recombinant Immunoblot Assay) de 2ª geração, realizadas com um intervalo de pelo menos 6 meses, e negativos para os vírus da imunodeficiência humana, tipo 1 e tipo 2.

Durante o período do estudo foram avaliados 285 familiares dos 87 casos índice, correspondendo a 89.6% dos 318 elegíveis. Os contactos familiares estudados (cônjuges-parceiros sexuais regulares, e parentes do primeiro grau) não eram diferentes dos que se recusaram a participar, em relação a variáveis sociais, demográficas, grau de parentesco e à presença de factores presumíveis de risco nos casos índice, excepto no facto dos irmãos respondentes serem significativamente mais velhos ( $31 \pm 10$  vs  $22 \pm 6$  anos,  $p=0.004$ ).

Os anticorpos para o vírus da hepatite C foram pesquisados por ELISA de 2ª geração e os casos repetidamente reactivos avaliados por RIBA (ORTHO Diagnostics) também de 2ª geração. Para 45 casos índice foi efectuada a pesquisa do ARN do vírus da hepatite C pelo método de *nested* PCR (Polymerase chain reaction), em amostras de soro<sup>4</sup>. A síntese de cDNA foi efectuada utilizando um *primer* externo *anti-sense*, à qual se seguiu a primeira PCR, efectuada com um *primer* externo *sense*, em 35 ciclos. Na segunda PCR utilizaram-se 5 l do produto da primeira reacção e um par de *primers* internos, em 25 ciclos. A revelação dos produtos de amplificação das amostras e dos respectivos controlos (água, negativo e positivo) foi efectuada em gel de agarose.

Os casos índice foram avaliados clínica e laboratorialmente. Em 56 foi realizada biópsia hepática por via intercostal, com anestesia local e após realização de ultrasonografia hepática. Os fragmentos de fígado foram processados de acordo com as rotinas do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Geral de Santo António e os achados histológicos classificados segundo as recomendações de um grupo internacional e pontuados pelo índice de actividade de Knodell<sup>5</sup>.

Os dados obtidos foram armazenados no programa Epi Info, versão 6.02. As médias foram comparadas pela prova t de Student ou as medianas pela prova de Mann-Whitney. As proporções foram comparadas pelas provas do chi-quadrado ou pela prova exacta de Fisher, e o grau de associação entre variáveis foi avaliado pelo cálculo de odds ratios (OR), em análise univariada ou por regressão logística não condicional, usando o programa EGRET. No modelo de regressão identificaram-se as variáveis

com contributo independente através da adição por passos das diferentes variáveis avaliadas. Retiraram-se aquelas que não tinham associação significativa com o resultado (infecção pelo HCV) ou não modificavam as estimativas do risco determinadas anteriormente, mantendo-se as restantes até um modelo final, ajustado para todas as variáveis retidas.

## RESULTADOS

Foram estudados 285 contactos familiares de 87 casos de infecção crónica assintomática pelo vírus da hepatite C. Entre eles, a prevalência de anti-HCV foi de 6,7% (19/285). Todos permaneciam positivos quando reavaliados seis meses depois da determinação inicial, pelos métodos ELISA e RIBA de segunda geração.

Os 19 casos anti-HCV positivo detectados entre os familiares analisados corresponderam a 16 casos índice. Como se pode verificar na *Quadro 1*, não havia diferenças significativas nas características dos casos índice com familiares infectados por comparação com aqueles para os quais não foi detectado nenhum outro caso de infecção na família. No entanto, notou-se tendência, manifestada no desvio dos intervalos de confiança dos OR, para ser mais frequente a presença de familiares com infecção quando o caso índice era uma mulher (OR=2,3), de classe social mais alta (OR=2,2) e com evidência de infecção pelo vírus da hepatite B (OR=1,8); pelo contrário a infecção familiar surgiu menos na presença de toxicod dependência nos casos índice (OR=0,6) ou entre os que tinham tatuagens (OR=0,3).

Os familiares estudados distribuíam-se pelos seguintes graus de parentesco: filhos (n=94), progenitores (n=45), irmãos (n=86) e cônjuges (n=60), sendo as prevalências de anti-HCV de 2,1% nos filhos, 6,7% nos progenitores, 8,1% nos irmãos e 11,7% nos cônjuges. A comparação bruta destas prevalências não mostrou diferenças significativas (chi-quadrado com 3 graus de liberdade=5,82;  $p=0.120$ ).

Entre os familiares, a prevalência de anti-HCV era significativamente mais alta em homens (11,6%, OR=3,6,  $p=0.014$ ) do que em mulheres (3,5%) sendo os familiares positivos para o anti-HCV significativamente mais velhos ( $42,6 \pm 18,5$  vs  $30,3 \pm 17,5$  anos,  $p=0.010$ ). Os cônjuges anti-HCV positivo eram significativamente mais velhos do que os negativos ( $48,3 \pm 14,1$  vs  $37,8 \pm 12,4$ ,  $p=0.041$ ), sendo maior o número de anos de duração dos seus casamentos ( $22,2 \pm 7,0$  vs  $14,8 \pm 9,2$ ,  $p=0.008$ ). Os irmãos anti-HCV positivo eram também significativamente mais velhos do que os que não apresentavam anticorpos ( $38,8 \pm 9,0$  vs  $30,6 \pm 9,8$ ,  $p=0.031$ ). Não se detectaram diferenças nas idades entre familiares positivos e negativos para os dois outros graus de parentesco avaliados.

Foi possível relacionar o resultado da PCR do caso índice com a presença de infecção num conjunto de 163 familiares, não se tendo detectado uma frequência significativamente diferente de infecção entre os familiares de casos ARN positivo (8/117; 6,8%) ou negativo (5/46; 10,9%,  $p=0.502$ ).

Num modelo de regressão logística foram estudadas as variáveis que se poderiam associar com risco de infecção entre os familiares dos casos índice. Avaliou-se o efeito

Quadro I – Comparação dos casos índice com e sem familiares infectados pelo vírus da hepatite C

Casos Índice	Com familiares anti-HCV-positivo	Sem familiares anti-HCV-positivo	OR (IC a 95%) p
Sexo			2,3 (0,4-10,0)
feminino	4	9	
masculino	12	62	0,247
Idade (média ± dp)	40,2 ± 10,8	35,7 ± 11,4	0,139
Classe social*			2,2 (0,6-8,2)
1-3	6	15	
4-5	10	56	0,200
Estado civil			1,4 (0,4-5,8)
casado	11	43	
outro	5	28	0,746
História de transfusões			1,8 (0,3-8,9)
sim	3	8	
não	13	63	0,417
História de DTS			0,5 (0,1-2,0)
sim	4	27	
não	12	44	0,487
Prisões			1,1 (0,0-12,0)
sim	1	15	
não	4	67	>0,995
Drogas iv			0,6 (0,2-2,0)
sim	6	36	
não	10	35	0,435
Transaminases (TGP)			1,0 (0,3-3,9)
normal	5	21	
anormal	11	50	>0,995
HBsAg e/ou Anti-HBc			1,8 (0,5-6,0)
sim	9	30	
não	7	41	0,460
PCR			0,8 (0,1-5,0)
positivo	7	26	
negativo	3	9	>0,995
Histologia Índice de Knodell (média ± dp)	4,6 ± 1,1 (n=6)	4,5 ± 2,5 (n=50)	0,936

\* Classes definidas de acordo com a profissão (17)

do grau de parentesco, do sexo e da idade dos familiares e dos casos índice, a classe social e a presença de marcadores de contacto com o vírus da hepatite B (HBsAg e/ou anti-HBc) nos familiares, e ainda o efeito de factores de risco detectados nos casos índice (como história de toxicod dependência de drogas iv, tatuagens e transfusões) ou o grau de actividade da eventual lesão hepática medida pela presença de transaminases anormais nos casos índice. Como se pode observar na *Quadro II*, foram apenas identificados quatro factores significativamente associados com esse risco. Das características dos familiares, tinham efeito independente: o sexo (masculino, OR=5,6), a presença de marcadores de infecção pelo vírus da hepatite B (OR=4,8), e ser cônjuge do caso índice (OR=8,7). Entre as variáveis relacionadas com o caso índice apenas a idade apresentou um contributo significativo para o risco de infecção familiar (OR=1,07).

## DISCUSSÃO

A forma reconhecida como mais eficaz para a transmissão do HCV é a exposição directa ao sangue por via percutânea. Contudo esta forma de transmissão, associada a transfusões e uso ilícito de drogas intravenosas, não deverá por si só justificar a prevalência da infecção na população geral.

Os estudos que examinaram a possibilidade de transmissão materno-infantil e sexual têm estado limitados por tamanhos amostrais insuficientes e, os iniciais, recorrem a provas de detecção do anti-HCV com baixa sensibilidade. Os resultados obtidos são contraditórios, tendo sido descrita agregação familiar da infecção<sup>6</sup>, transmissão horizontal ou materno-infantil<sup>7</sup> e transmissão sexual<sup>8</sup>, e descritas prevalências de infecção, determinadas pela presença de anti-HCV ou do ARN do HCV

detectado por PCR, tão altas como 32 % em cônjuges ou parceiros sexuais de casos índice<sup>9,10</sup>. Outros estudos, no entanto, não identificaram a transmissão sexual como via importante de infecção, concluindo que o contágio sexual seria muito improvável<sup>11,12</sup>.

Independentemente da presença de outros indicadores de risco, como o sexo, a positividade para marcadores de contacto com o vírus da hepatite B ou a idade do caso índice, neste estudo, os cônjuges apresentaram um risco significativamente mais elevado de infecção pelo HCV em comparação com os outros familiares, reforçando a ideia de um risco aumentado de transmissão sexual, sobretudo se a prevalência de infecção entre eles for comparada com a de 0.5% encontrada em indivíduos que no mesmo hospital fazem a sua primeira dádiva de sangue (H. Miranda, et al., resultados não publicados).

Entre os familiares estudados, os filhos apresentavam a mais baixa prevalência de infecção pelo HCV. A possibilidade de transmissão materno-infantil foi suspeitada ainda antes da identificação do HCV<sup>13</sup>, mas a generalidade das investigações entretanto efectuadas mostrou que, contrariamente ao que se passa com o vírus da hepatite B, esta via de transmissão não terá um papel de relevo, apesar de o número de recém-nascidos já estudados ser muito pequeno e os períodos de observação relativamente curtos<sup>14,15</sup>.

A presença de RNA do vírus nos casos índice, indicadora de replicação vírica activa, não se associou a uma prevalência mais elevada de infecção nos familiares. Este facto pode reflectir uma estimativa enviesada da associação, como consequência das dificuldades próprias da técnica de análise<sup>16</sup>, de que resulta uma proporção desconhecida de falsos positivos e falsos negativos. Dada a existência de múltiplos genótipos de HCV, é possível a não detecção de RNA do HCV em casos nos quais a viremia é real. No entanto, se a positividade para o RNA diminuir com a duração da infecção, podem os casos mais recentes ser preferencialmente os positivos e não terem existido as condições de contágio ou o tempo de exposição suficientes para ocorrer a transmissão do vírus aos conviventes familiares.

Em resumo, a prevalência do anti-HCV detectada nestes familiares de casos índice, mostra que a infecção tende a ser mais frequente no agregado familiar de indivíduos

os com infecção crónica assintomática e insuspeitada do que a observada na população geral. Este estudo permitiu igualmente a identificação de algumas características que se associam de forma significativa com o risco de infecção no agregado familiar. O seu conhecimento poderá ser útil para uma estratégia de actuação selectiva em relação com os conviventes em risco de contágio.

## BIBLIOGRAFIA

1. KUO G, CHOO Q-L, ALTER HJ, et al: An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362-4
2. ALTER MJ, HADLER SC, JUDSON FN, et al: Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. *JAMA* 1990; 264: 2231-5
3. SHAPIRO CN: Transmission of hepatitis viruses. *Ann Intern Med* 1994; 82-4
4. GARSON JA, TEDDER RS, BRIGGS M, et al: Detection of hepatitis C viral sequences in blood donations by "nested" polymerase chain reaction and prediction of infectivity. *Lancet* 1990; 335: 1419-22
5. KNOVELL RG, ISHAK KG, BLACK WC et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1: 431-5
6. IDÉO G, BELLATI G, PEDRAGLIO E, et al. Intrafamilial transmission of hepatitis C virus. *Lancet* 1990; 335: 353
7. AL-FALEH FZ, AYOOLA EA, AL-JEFFREY M, et al: Prevalence of antibody to hepatitis C virus among Saudi Arabian children: a community based survey. *Hepatology* 1991; 14: 215-8
8. TEDDER RS, GILSON RJC, BRIGGS M et al: Hepatitis C virus: evidence for sexual transmission. *Br Med J* 1991; 302: 1299-302
9. KAO JH, CHEN PJ, YANG PM, et al: Intrafamilial transmission of hepatitis C virus: the important role of infections between spouses. *J Infect Dis* 1992; 166: 900-3
10. OSMOND DH, PADIAN NS, SHEPPARD HW, et al: Risk factors for hepatitis C virus seropositivity in heterosexual couples. *JAMA* 1993; 269: 361-5
11. BRESTERS D, MAUSER-BUNSCHOTEN EP, REESINK HW, et al: Sexual transmission of hepatitis C virus. *Lancet* 1993; 324: 210-1
12. OSMOND DH, CHARLEBOIS E, SHEPPARD HW, et al. Comparison of risk factors for hepatitis C and hepatitis B virus infection in homosexual men. *J Infect Dis* 1993; 167: 66-71
13. WEJSTAL R, NORKRANS G: Chronic non-A, non-B hepatitis in pregnancy: outcome and possible transmission to the offspring. *Scand J Infect Dis* 1989; 21: 485-90
14. REINUS JF, LEIKIN EL, ALTER HJ, et al: Failure to detect vertical transmission of hepatitis C virus. *Ann Intern Med* 1992; 117: 881-6.
15. WEJSTAL R, WIDELL A, MANSSON A-S, HERMODSSON S, NORKRANS G: Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Ann Intern Med* 1992; 117: 887-90
16. ZAAIJER HL, CUYPERS HTM, REESINK HW, et al: Reliability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. *Lancet* 199; 341: 722-4