Hélio Ranes de Menezes Filho

**Avaliação do risco e causas de óbito entre indivíduos diagnosticados com hepatite
C através de exames de triagem para doação de sangue, no período de 1994 a 2016,
em um hemocentro de São Paulo-SP**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria Cássia Jacintho Mendes Corrêa

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Ana Luiza de Souza Bierrenbach

São Paulo

2019

Hélio Ranes de Menezes Filho

**Avaliação do risco e causas de óbito entre indivíduos diagnosticados com hepatite
C através de exames de triagem para doação de sangue, no período de 1994 a 2016,
em um hemocentro de São Paulo-SP**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria Cássia Jacintho Mendes Corrêa

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Ana Luiza de Souza Bierrenbach

São Paulo

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Menezes Filho, Hélio Ranes de
Avaliação do risco e causas de óbito entre
indivíduos diagnosticados com hepatite C através de
exames de triagem para doação de sangue, no período
de 1994 a 2016, em um hemocentro de São Paulo-SP /
Hélio Ranes de Menezes Filho. -- São Paulo, 2019.
Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.
Orientadora: Maria Cássia Jacintho Mendes Corrêa.
Coorientadora: Ana Luiza de Souza Bierrenbach.

Descritores: 1.Hepatite C 2.Mortalidade
3.Doadores de sangue 4.Hepatopatias 5.Carcinoma
hepatocelular

USP/FM/DBD-306/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Normalização Adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por me conceder a sabedoria e o conhecimento necessários ao meu progresso pessoal e profissional.

Aos meus pais, Hélio e Maria Lúcia, que são o meu alicerce e exemplos de caráter e retidão. Assim, não há palavras que sejam capazes de expressar todo o amor e gratidão que sinto por eles.

À minha irmã Ludmilla, cujo apoio e incentivo são muito importantes na minha caminhada e por ser a amiga com quem sempre posso contar.

À minha orientadora, Prof^a. Maria Cássia, pela oportunidade e pelos conhecimentos compartilhados. Serei eternamente grato.

À minha coorientadora, Prof^a. Ana Luiza, pela importante ajuda no delineamento e análise dos dados.

À amiga Lígia Capuani, cujo auxílio foi primordial em todas as etapas deste estudo.

À amiga Soraia Machado, pela ajuda no início deste trabalho e pela parceria em outros projetos.

Aos colaboradores que, apesar de não citados nominalmente, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste estudo.

Enfim, a todos os amigos e familiares que torcem pelo meu sucesso.

**“O SENHOR é o meu pastor, nada me faltará.
Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente
a águas tranquilas.
Refrigera a minha alma; guia-me pelas veredas da
justiça, por amor do seu nome.”**

Salmo 23: 1- 3.

Sumário

Listas de Figuras, Gráficos e Tabelas	
Listas de Abreviaturas e Siglas.....	
Resumo	v
Abstract	vi
1 Introdução	1
1.1 Agente etiológico.....	1
1.2 Modo de transmissão e Fatores de risco	2
1.3 Patogênese e História natural da doença	2
1.4 Manifestações clínicas	4
1.5 Diagnóstico e Tratamento.....	6
1.6 Epidemiologia.....	7
1.6.1 Prevalência do HCV	7
1.6.2 Mortalidade e HCV	8
1.6.3 Hepatite C e Doação de sangue	9
1.7 Prevenção e Controle.....	9
1.8 Sistema de Informação de Mortalidade - SIM.....	10
1.8.1. Criação e atribuições do SIM	10
1.8.2. Documento de Declaração de Óbito (DO)	11
2 Justificativa	14
3 Objetivos.....	16
4 Materiais e Métodos	19
4.1 Desenho do Estudo	19
4.2. Local de Estudo	19
4.3 População de Estudo.....	19
4.4 Definições e Conceitos (Definição de Exposição)	20
4.5 Seleção da Amostra	21
4.6 Critérios de inclusão e exclusão	21
4.7 Fontes dos dados e Variáveis de Estudo.....	22
4.8 Determinação da condição de morte	22
4.9 Análise dos desfechos da mortalidade.....	24
4.10 Análise Estatística.....	26

4.11 Aspectos Éticos.....	27
5 Resultados.....	29
6 Discussão.....	39
7 Conclusões	46
8 Referências	48
ANEXOS.....	59
ANEXO A – Tabela: Mortalidade conforme a causa de óbito, segundo status sorológico para HCV, São Paulo - SP, 2000-2016.....	60
ANEXO B – Tabela CID-10	61
ANEXO C – Artigo	67

Listas de Figuras, Gráficos e Tabelas

Figura 1 - Fluxograma de distribuição dos membros da coorte após aplicação dos critérios de exclusão	31
Gráfico 1 - Sobrevida em anos, segundo status sorológico para HCV e quando se consideraram todas as causas de óbito, São Paulo - SP, 1994-2016. $p < 0,001$	33
Gráfico 2 - Sobrevida em anos, segundo status sorológico para HCV e quando se consideraram apenas as causas associadas ou diretamente relacionadas ao HCV, São Paulo - SP, 1994-2016. $p < 0,001$	33
Tabela 1 - Características da população de estudo, segundo status sorológico para HCV, São Paulo - SP, 1994-2013.....	30
Tabela 2 - Mortalidade conforme a causa de óbito, segundo status sorológico para HCV, São Paulo - SP, 1994-2016.....	32
Tabela 3 - Mortalidade conforme a causa básica de óbito, segundo status sorológico para HCV, São Paulo - SP, 1994-2016.....	34
Tabela 4 - Mortalidade conforme a causa básica de óbito, segundo status sorológico para HCV e HIV, São Paulo - SP, 1994-2016.....	35
Tabela 5 - Mortalidade conforme a causa de óbito, segundo status sorológico para HCV e HBV, São Paulo - SP, 1994-2016.....	36
Tabela 6 - Mortalidade conforme a causa de óbito, segundo status sorológico para HCV e HTLV, São Paulo - SP, 1994-2016.....	37
Tabela 7 - Risco de óbito segundo a causa e status sorológico, São Paulo - SP, 1994-2016.	37

Listas de Abreviaturas e Siglas

Anti-HBc = Anticorpos produzidos contra antígenos do nucleocapsídeo (core) do vírus da Hepatite B
Anti-HBs = Anticorpos contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
Anti-HCV = Anticorpos contra o vírus da hepatite C
ARN = Ácido ribonucleico (*Ribonucleic Acid* = RNA)
C = Proteína do Core
CD = Cluster of Differentiation ou Grupamento de Diferenciação
CD81 = Cluster of Differentiation 81
CID-10 = Classificação Internacional de Doenças 10ª Ed.
DO = Declaração de Óbito
E1 = Proteína do Envelope 1
E2 = Proteína do Envelope 2
EIA = Ensaio Imunoenzimático
FPS = Fundação Pró-Sangue – Hemocentro de São Paulo
FTA-Abs = Anticorpo Treponêmico Fluorescente com Absorção (sigla inglesa para *Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test*)
HBsAg = Antígeno de superfície da hepatite B
HBV = Vírus da Hepatite B
HCV = Vírus da Hepatite C
HIV = Vírus da Imunodeficiência Humana
HR = *Hazard Ratio* (Taxa de Risco)
HTLV = Vírus Linfotrópico de Células T Humanas
IgG = Imunoglobulina G
IgM = Imunoglobulina M
NAT = Nucleic Acid Test
NS = Proteínas não estruturais
NS3 = Proteína não estrutural
NS4 = Proteína não estrutural NS4
NS5 = Proteína não estrutural NS5
OMS = Organização Mundial de Saúde
OPAS = Organização Pan-Americana de Saúde
RIBA = Recombinant Immunoblot Assay Teste
RL = *Record Linkage* (Pareamento de Registros Probabilístico)
SIAN = Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SIM = Sistema de Informação de Mortalidade
SIS = Sistema de Informação em Saúde
SNVE = Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica
SVS = Secretaria de Vigilância em Saúde
VDRL = sigla de *Venereal Disease Research Laboratory*

Resumo

Menezes Filho HR. *Avaliação do risco e causas de óbito entre indivíduos diagnosticados com hepatite C através de exames de triagem para doação de sangue, no período de 1994 a 2016, em um hemocentro de São Paulo-SP* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo; 2019.

Introdução: A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) é um importante problema de saúde pública e tem sido associada a um considerável risco de mortalidade. Assim, o objetivo deste estudo é investigar a contribuição da infecção pelo HCV na mortalidade por todas as causas e por causas hepáticas, em uma grande coorte de doadores de sangue no Brasil. **Métodos:** Trata-se de um estudo de coorte retrospectiva de doadores de sangue, no período de 1994 a 2016, na Fundação Pró-Sangue - Hemocentro de São Paulo (FPS). Esta coorte incluiu 2.892 e 5.784 doadores soropositivos e soronegativos para anticorpos do HCV, respectivamente. Os registros da base de dados da FPS e do Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM) foram vinculados por meio de um relacionamento probabilístico de registros. Os desfechos de mortalidade analisados foram definidos com base nos códigos da CID-10 (Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde) listados como a causa da morte na declaração de óbito. Hazard Ratios (HRs) foram estimados para os resultados usando modelos de regressão múltipla de Cox. **Resultados:** Quando se consideraram todas as causas de morte, identificaram-se 209 mortes entre doadores de sangue soropositivos e 190 entre doadores de sangue soronegativos. Os doadores soropositivos para infecção pelo HCV tiveram um risco 2,15 vezes maior de morte por todas as causas (IC 95%: 1,76–2,62; $p<0,001$). Quando consideradas apenas as causas hepáticas de morte, identificaram-se 73 mortes entre doadores de sangue soropositivos e apenas 6 entre doadores de sangue soronegativos. Os doadores soropositivos para infecção pelo HCV tiveram um risco 23,41 vezes maior de morte por causas relacionadas ao fígado (IC 95%: 10,15–53,94; $p<0,001$). Os doadores soropositivos para HCV tiveram 29,52 (IC 95%: 3,93–221,73), 2,75 (IC 95%: 1,38–5,47) e 1,86 (IC 95%: 1,17–2,97) vezes maior risco de morte por carcinoma hepatocelular, infecção e trauma, respectivamente, em comparação com doadores soronegativos nesta coorte. Em relação aos indivíduos coinfectados, HCV-HIV e HCV-HTLV, o risco de óbito por todas as causas foi ainda maior, correspondendo a um HR de 14,57 (IC 95%: 8,42–25,22) e 3,65 (IC 95%: 1,93–6,91), respectivamente. **Conclusões:** Nesta coorte retrospectiva, a taxa de mortalidade relacionada a todas as causas e às causas hepáticas foi maior entre doadores de sangue soropositivos para o HCV em comparação com a taxa de mortalidade entre doadores de sangue soronegativos. Além disso, aqueles indivíduos coinfectados, HCV-HIV e HCV-HTLV, apresentaram risco de óbito ainda maior. Nossos dados confirmam o HCV como uma causa relevante de mortes no Brasil e também sugerem que intervenções direcionadas ao seguimento destes pacientes, mesmo após o acesso ao tratamento medicamentoso específico, são urgentes e necessárias.

Descritores: Hepatite C; Mortalidade; Doadores de sangue; Hepatopatias; Carcinoma hepatocelular.

Abstract

Menezes Filho HR. *Risk assessment and causes of death among individuals diagnosed with hepatitis C through screening tests for blood donation from 1994 to 2016 at a hemocenter in São Paulo-SP* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2019.

Introduction: Hepatitis C virus (HCV) infection is a major health problem associated with considerable risk of mortality in different regions of the world. The purpose of this study was to investigate the contribution of HCV infection on all-cause and liver-related mortality, in a large cohort of blood donors in Brazil. **Methods:** This is a retrospective cohort study of blood donors from 1994 to 2013, at *Fundação Pró-Sangue - Hemocentro de São Paulo (FPS)*. This cohort included 2,892 and 5,784 HCV antibody seropositive and seronegative donors, respectively. Records from the FPS database and the Mortality Information System (SIM: a national database in Brazil) were linked through a probabilistic record linkage (RL). Mortality outcomes were defined based on ICD-10 (10th International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems) codes listed as the cause of death on the death certificate. Hazard ratios (HRs) were estimated for outcomes using Cox multiple regression models. **Results:** When all causes of death were considered, RL identified 209 deaths among seropositive blood donors and 190 among seronegative blood donors. Donors seropositive for HCV infection had a 2.15 times higher risk of death due to all causes (95% CI: 1.76–2.62; $p < 0.001$). When only liver-related causes of death were considered, RL identified 73 deaths among seropositive blood donors and only 6 among seronegative blood donors. Donors seropositive for HCV infection had a 23.4 times higher risk of death due to liver related causes (95% CI: 10.2–53.9; $p < 0.001$). Donors seropositive for HCV had a 29.5 (95% CI: 3.9–221.7), 2.8 (95% CI: 1.4–5.5) and a 1.9 (95% CI: 1.2–3.0) times higher risk of death due to hepatocellular carcinoma, infection or trauma, respectively compared to seronegative donors. Regarding co-infection, HCV-HIV and HCV-HTLV, the risk of death from all causes was even higher, corresponding to a HR of 14.57 (95% CI: 8.42–25.22) and 3.65 (95% CI: 1.93–6.91), respectively. **Conclusions:** In this retrospective cohort, all-cause and liver-related mortality was highest among blood donors seropositive for HCV compared with the mortality rate among seronegative blood donors. In addition, those co-infected individuals, HCV-HIV and HCV-HTLV, presented an even greater risk of death. Our data confirms HCV as a relevant cause of death in Brazil and also suggest that interventions directed at following patients even after access to specific drug treatment are urgent and necessary.

Descriptors: Hepatitis C; Mortality; Blood donors; Liver diseases; Carcinoma, hepatocellular.

1 INTRODUÇÃO

1 Introdução

1.1 Agente etiológico

O vírus da hepatite C (HCV) é um vírus de cadeia positiva, pequeno, envelopado, pertencente à família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus*¹. O genoma viral é composto por uma cadeia de RNA de fita simples e de sentido positivo, com um tamanho estimado de 9,6 kb. O genoma viral possui uma única fase de leitura aberta, dando origem a uma poliproteína de aproximadamente 3000 aminoácidos. A poliproteína, por sua vez, participa de uma cadeia complexa de eventos de clivagem, dando origem a proteínas estruturais e proteínas não estruturais do vírus^{1,2}.

As proteínas estruturais – proteína do Core (C), Proteína do Envelope 1 (E1) e Proteína do Envelope 2 (E2) - são clivadas da poliproteína pelas peptidases sinalizadoras do retículo endoplasmático. Após a maturação no retículo, servem como componentes para a montagem de novos vírions no interior celular. A proteína E1 parece servir como uma proteína de fusão durante a infecção, enquanto a proteína E2 é apontada como responsável pela ligação com CD81 celular, servindo como correceptor³.

As proteínas não estruturais (NS) são clivadas em NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B. Ainda, localizada na poliproteína, na junção das proteínas estruturais e não estruturais, há uma pequena proteína hidrofóbica denominada de p7. Sua função ainda é pouco elucidada, mas supõe-se que esteja envolvida na montagem viral. Acredita-se que as proteínas não estruturais compreendem o complexo de replicação viral^{1,3-5}.

O processamento proteolítico das proteínas não estruturais é complexo e requer duas proteases virais distintas. A proteína NS2, juntamente com a região amino-terminal da proteína NS3, constitui a proteinase NS2-NS3, que catalisa uma única clivagem autocatalítica entre NS2 e NS3, resultando na liberação de ambas ao final da reação catalítica. Os domínios amino-terminais das proteínas NS3 servem como serina-proteinases, que irão atuar na clivagem e liberação das demais proteínas não estruturais da poliproteína. A região carboxi-terminal da proteína NS3 compreende uma helicase de RNA⁶. A proteína NS4A serve como cofator que intensifica as atividades da NS3. A função da proteína de membrana integral hidrofóbica NS4B ainda é pouco elucidada, mas esta proteína parece interagir com a replicase viral. NS5A é uma proteína que existe em

múltiplos estados de fosforilação, e que apesar de ter sua estrutura cristalina conhecida, ainda possui suas funções pouco conhecidas. A proteína NS5B é a RNA polimerase dependente de RNA^{3,5}.

Na sequência base de sua variação, o HCV é dividido em pelo menos seis genótipos e cerca de 100 subtipos. Essa variação está associada ao manejo clínico e também ao desenvolvimento de vacinas. A distribuição é mundial, mas a prevalência varia em cada região⁷.

1.2 Modo de transmissão e Fatores de risco

A transmissão do HCV se dá principalmente através do sangue, portanto, usuários de drogas injetáveis correm maior risco de serem infectados^{8,9}. Assim, o uso de drogas injetáveis é considerado o fator de risco mais importante para a infecção pelo HCV com relatos de prevalência de 50% ou mais¹⁰⁻¹². Além disso, a transmissão pode correr através de procedimentos cirúrgicos ou outras formas de contato percutâneo e/ou endovenoso. Também é possível, mesmo que raramente, a ocorrência de transmissão do HCV através do uso de agulhas em salas de tatuagens, o que pode ocorrer por exemplo através do compartilhamento deste tipo de agulha entre pessoas privadas de liberdade^{13,14}.

Outras formas de transmissão reconhecidas são: através da relação sexual com maior incidência entre aqueles com múltiplos parceiros; pacientes em hemodiálise; pessoas vivendo com HIV; e crianças nascidas de mães infectadas pelo HCV (transmissão vertical)^{11,15}. As transfusões sanguíneas e de hemoderivados e mesmo transplantes de órgãos também podem ser identificados na cadeia de transmissão. No entanto, as transfusões deixaram de ser um fator de risco a partir da década de 1990 quando programas de triagem para o sangue doado foram implantados em vários países^{10,16-18}. No Brasil, a partir de 1993, há a obrigatoriedade dos testes sorológicos (anti-HCV) para os doadores de sangue. Assim, a hepatite pós-transfusional vem se tornando um evento raro no país¹⁹.

1.3 Patogênese e História natural da doença

O HCV causa doença inflamatória necrosante no fígado humano caracterizada, geralmente, pelo aumento das aminotransferases²⁰ e que pode se manifestar de duas formas, aguda ou crônica²¹. A transição do estado agudo para a cronicidade é usualmente subclínica e silenciosa^{22,23}. A histologia hepática na infecção crônica por HCV mostra

infiltração de células mononucleares nas áreas do parênquima hepático, necrose dos hepatócitos e fibrose²². Assim, cerca de 60 a 80% daqueles que evoluem para a infecção crônica não apresentam fibrose hepática, 20 a 40% desenvolvem cirrose hepática e, destes, 2 a 6% ao ano desenvolvem hepatocarcinoma^{22,23}. Alguns fatores associados com esta progressão para cirrose hepática são o consumo de álcool, obesidade e sexo masculino²⁴.

Altos níveis de replicação intra-hepática do HCV são geralmente tolerados pelo sistema imune do hospedeiro. Infiltrados linfo-mononucleares representados principalmente por células T CD8⁺ possuem um papel importante na contenção viral, embora outros subconjuntos, como células T CD4⁺, *natural killer* (NK), e células T reguladoras (Treg) também sejam considerados importantes²⁵. Apesar das células T CD4⁺ e T CD8⁺ intra-hepáticas serem capazes de reconhecer os antígenos estruturais e não estruturais do vírus, não é bem elucidado o porquê de na maioria dos pacientes a resposta imune não ser eficiente na erradicação da infecção²⁶.

A fibrose hepática é causada por células inflamatórias do infiltrado intra-hepático, devido à secreção de citocinas e quimiocinas que levam à ativação de células de Ito (também conhecidas como células estreladas hepáticas) que secretam colágeno. A lesão hepática provoca a transdiferenciação de tais células que estão em repouso ao seu fenótipo ativado, levando à uma reprogramação metabólica²⁷. Isso aumenta a autofagia (para alimentar as demandas metabólicas), a amplificação da lesão parenquimatosa e o desenvolvimento de características fenotípicas de células de Ito e miofibroblastos ativados. Através dessas mudanças, as células de Ito ativadas conduzem à fibrose e ao desenvolvimento de cirrose. À medida que a lesão hepática diminui, as células de Ito ativadas podem ser eliminadas por uma de três vias: apoptose, senescência ou reversão para um fenótipo inativado²⁶.

Durante a replicação viral, há necessidade de grande aporte de lipídeos para montagem de novas partículas. Tal demanda pode resultar na mudança do perfil lipídico do soro do paciente infectado, podendo resultar em esteatose²⁸. O quadro de esteatose está correlacionado com níveis mais elevados de RNA viral, podendo ser considerada um marcador da progressão da doença hepática e indício de resposta reduzida à terapia^{26,28}.

Ensaio moleculares indicaram a presença e replicação extra-hepática viral em diferentes células, sugerindo reservatórios virais após o tratamento. As células em que foram identificadas a presença viral foram monócitos, macrófagos, células B do linfoma

não-Hodgkin e células B do sangue periférico²⁹⁻³¹. O significado desses reservatórios de vírus extra-hepáticos não é bem compreendido, embora se possa especular que estes reservatórios representem uma via adicional pela qual o HCV pode manipular diretamente o sistema imunológico e também outro meio pelo qual o vírus evita a erradicação³².

1.4 Manifestações clínicas

Estima-se que cerca de 15 a 45% daqueles infectados pelo HCV eliminarão o vírus espontaneamente e 55 a 85% evoluirão para a cronicidade. Poucos serão identificados com a infecção em fase aguda¹¹, pois essa fase é frequentemente assintomática. No entanto, cerca de 30% daqueles com a infecção aguda podem apresentar sinais e sintomas inespecíficos como dor abdominal, febre, diarreia, mal-estar, náuseas e icterícia³³.

A forma aguda ictérica pode ser dividida em períodos: prodrômico, ictérico e de convalescença. O período prodrômico ou pré-ictérico ocorre, inicialmente, com sintomas inespecíficos. A seguir, no período ictérico se observa: hepatomegalia dolorosa e, ocasionalmente, esplenomegalia associada a alterações laboratoriais com elevação das bilirrubinas, principalmente a fração direta, e aminotransferases que podem variar de 10 a 100 vezes acima do limite superior de normalidade, enquanto a fosfatase alcalina e a gama glutamil transferase permanecem normais ou discretamente elevadas. Já no período de convalescença ocorre uma remissão gradual dos sintomas²³.

Tipicamente, os pacientes com hepatite C crônica são oligossintomáticos ou assintomáticos e quando presentes, os sintomas são geralmente inespecíficos, intermitentes ou brandos. O sintoma mais comum é a fadiga, mas anorexia, náusea, dor no quadrante superior direito do abdome e colúria podem ocorrer, especialmente se a doença é grave ou avançada. A maioria dos indivíduos continua a ter níveis aumentados de transaminases no soro, mas estes normalmente variam de 1,5 a 10 vezes acima do limite superior da normalidade²².

Deve-se destacar também que apesar de o HCV ser um vírus hepatotrópico, a infecção crônica pelo mesmo pode resultar em comprometimento sistêmico em que até 74% dos pacientes apresentam alguma forma de manifestação extra-hepática com sintomas de severidade variada. Numerosas manifestações sistêmicas já foram relatadas

como fadiga, náuseas, dor abdominal ou musculoesquelética, perda de peso, depressão, irritabilidade e mal-estar^{12, 14, 15, 16,17}.

As manifestações extra-hepáticas específicas podem ser divididas entre aquelas com elevado grau de associação com a hepatite C e aquelas de associação baixa ou moderada. A infecção por hepatite C pode causar uma vasta gama de síndromes hematológicas, neurológicas, renais e reumatológicas por meio de mecanismos imunológicos ainda incertos³⁷⁻³⁹. A crioglobulinemia e as consequências vasculares advindas dela têm prevalência significativa e alto grau de associação, ademais, outras manifestações como distúrbios linfoproliferativos, doença renal como glomerulonefrites, diabetes mellitus tipo II, eventos cerebrovasculares e cardiovasculares, além de porfiria cutânea, artralgia, líquen plano, linfoma não Hodgkin dentre outros são apontados como prevalentes em pacientes portadores de hepatite C ^{34,36,40,41}.

A crioglobulinemia apresenta-se em cerca de 90% dos casos de hepatite C crônica. Ela pode ser classificada em três tipos de acordo com o tipo de imunoglobulina envolvido. O tipo I é composto por apenas uma imunoglobulina monoclonal, em geral IgM ou IgG, enquanto aquelas do tipo II e III são conhecidas como crioglobulinas mistas, posto que se formam da mistura entre imunoglobulinas mono e policlonais. No geral, a hepatite C crônica está associada à crioglobulinemia do tipo II^{38,41} que, por se tratar de uma desordem imunomediada, pode se manifestar na pele como púrpuras palpáveis, resultar em artralgia em grandes articulações, desenvolvimento de artrite, acometer nervos periféricos e sistema nervoso central, além de causar doença renal como glomerulonefrite^{40,42,43}.

O surgimento de doenças renais é favorecido pela crioglobulinemia por causa da deposição de crioglobulinas e consequente espessamento da membrana basal glomerular, além da acentuada proliferação celular com infiltração de macrófagos circulantes levando à glomerulonefrite membranoproliferativa^{35,38}. No entanto, em sua maioria, pacientes com infecção pelo HCV têm doença renal assintomática e, assim, devem ser rastreados para tal diagnóstico⁴⁴. Clinicamente, as manifestações renais típicas nesses casos incluem proteinúria, hematúria microscópica, hipertensão, nefrite aguda e síndrome nefrótica. Também podem ocorrer glomerulonefrite membranoproliferativa sem crioglobulinemia e glomerulonefrite membranosa^{34,41,45}.

Existem ainda as manifestações cardiovasculares associadas à infecção por HCV que incluem arteriosclerose coronária e não coronária, sendo que a primeira pode causar

cardiomiopatia e miocardite. O risco de uma pessoa infectada por HCV desenvolver arteriosclerose é aumentado em comparação àquelas não infectadas. Além disso, a infecção pelo HCV estimula a inflamação hepática e sistêmica com produção de citocinas pró-inflamatórias que favorecem o processo de ruptura, erosão ou ulceração de placas coronarianas; entretanto, os mecanismos patogênicos de ligação entre a infecção pelo HCV e a aterogênese ainda não estão completamente esclarecidos. Além do mais, a infecção por HCV está associada a doenças metabólicas, em especial, ao aumento da resistência à insulina do tipo 2 que é uma condição pró-aterogênica^{34,46-48}.

São identificadas também manifestações dermatológicas na presença da infecção crônica por HCV. As principais doenças de pele associadas são porfiria cutânea, líquen plano e, principalmente, a púrpura palpável^{49,50}.

1.5 Diagnóstico e Tratamento

Os casos confirmados de infecção por HCV no Brasil são definidos quando apresentam anti-HCV reagente e RNA-HCV detectável por método de biologia molecular ou a detecção do antígeno ou RNA-HCV em tecido quando, em casos de óbito, quando não é possível a coleta do soro. Os anticorpos são considerados os marcadores de triagem para a infecção pelo HCV, no entanto, sua presença somente indica que houve contato prévio com o vírus, mas não informa se a infecção é aguda ou crônica, ou mesmo se já foi curada. Já o RNA-HCV pode ser detectado logo após uma ou duas semanas da infecção e é utilizado para confirmar infecção em casos agudos ou crônicos⁵¹.

O tratamento da hepatite C tem como objetivo principal a erradicação do vírus no indivíduo infectado o que, na prática clínica, é chamado de resposta virológica sustentada. Essa resposta é definida como a não detecção do RNA do HCV no sangue por um período determinado (12 ou 24 semanas após o tratamento). A obtenção dessa resposta correlaciona-se com a melhora nos resultados clínicos reduzindo os eventos hepáticos, a fibrose e a mortalidade por causas hepáticas e extra-hepáticas⁵²⁻⁵⁴.

Recentemente, houve a incorporação de novos medicamentos para o tratamento da hepatite C pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O novo tratamento composto por antivirais de ação direta (DAA) tem uma taxa de cura acima de 90%, significativamente maior do que todos os tratamentos utilizados previamente. O tratamento tem a duração de 12 a 24 semanas, contra as 48 semanas de duração da terapia anterior, com interferon

e ribavirina. Outra vantagem é que o tratamento é realizado por via oral, dando mais conforto ao paciente^{21,55}.

1.6 Epidemiologia

1.6.1 Prevalência do HCV

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), 71 milhões de pessoas no mundo apresentam infecção crônica pelo HCV⁵⁶, a qual é considerada um grande problema de saúde pública em todo o mundo que afeta não somente os países desenvolvidos, tais como os países da Europa Ocidental, com uma prevalência estimada de 2,4% da população total⁵⁷, mas também países da América do Sul, com prevalência variando de 1,2 a 1,6%^{2,24,34}. Estima-se que a prevalência da infecção por HCV seja mais alta no oriente médio e também na África e mais baixa em países da Europa e das Américas^{58,59}. Em revisão sistemática considerando os estudos que registraram a frequência de casos de HCV diagnosticados, tratados e curados, no período compreendido entre janeiro de 1990 a julho de 2013, foi identificada uma prevalência de 0,5% (0,1 – 0,7%) na Áustria, no ano de 2008, e 12,5% (11,2 – 13,7%) no Egito, no mesmo ano⁶⁰.

Em relação aos números brasileiros, um estudo recente demonstrou que em 2017 a prevalência de anti-HCV reagente era de 0,53% e que a estimativa de indivíduos com HCV-RNA detectável era de 632.000 (0,31% da população total)⁶¹.

Outro estudo que avaliou a população de 10 a 69 anos em todas as macrorregiões brasileiras, entre os anos de 2005 e 2009, encontrou uma prevalência nacional de anti-HCV reagente de 1,38% (IC 95% 1,12-1,64), sendo de 2,1% na região Norte, 1,3% na Centro-Oeste, 1,3% na Sudeste, 1,2% na Sul e 0,7% na Nordeste⁶².

O Boletim Epidemiológico brasileiro sobre hepatites virais (2019) mostra que de 1999 a 2018 foram notificados 359.673 casos de hepatite C (até 2014 era necessário que ambos os marcadores – anti-HCV e HCV-RNA – estivessem presentes; a partir de 2015 é necessário que apenas um deles esteja presente). Considerando as análises realizadas, a maioria dos casos ocorreu em indivíduos do sexo masculino (57,7%), na faixa etária de 60 anos de idade ou mais (20,9%), e nas regiões Sudeste (63,1%) e Sul (25,2%) do país⁶³.

Já a prevalência do HCV entre doadores de sangue varia de acordo com a localidade e depende diretamente da frequência desse vírus na população em geral⁶⁴. Estudo realizado no Brasil no período de 2007 a 2010 identificou um declínio na

prevalência de HCV entre doadores de sangue de primeira vez na região sudeste. As taxas foram inferiores às do país, porém, em comparação com países desenvolvidos a prevalência foi superior⁶⁵.

A prevalência de HCV entre doadores de sangue apresenta uma variação regional. Na região Sudeste, por exemplo, variou de 1,2% em 1996 a 0,31% em 2016. Já para a região Norte do país a prevalência variou de 2,1% a 0,63% de 2007 a 2016^{59,66-70}.

1.6.2 Mortalidade e HCV

O risco de morte está aumentado entre aqueles infectados pelo vírus da hepatite C principalmente devido a doenças relacionadas ao fígado, como cirrose hepática e carcinoma hepatocelular, que são condições associadas à morte prematura⁷¹⁻⁷⁴. Observa-se, assim, que a hepatite C crônica está associada a 350-400 mil mortes por ano em todo o mundo^{34,75-77}.

No Brasil, os óbitos por hepatite C são a maior causa de morte entre as hepatites virais. De 2000 a 2017, foram identificados 53.715 óbitos associados à hepatite C; destes, 53,7% (28.823) tiveram essa infecção como causa básica, verificando-se que 56,5% foram registrados no Sudeste, 23,7% no Sul, 10,7% no Nordeste, 4,8% no Norte e 4,3% no Centro-Oeste. Quanto ao coeficiente de mortalidade por hepatite C como causa básica, observou-se uma tendência de estabilização nos últimos dez anos. Entre 2007 e 2017, as regiões Sul e Sudeste apresentaram coeficiente de mortalidade superior à média nacional observada que foi de 0,8 óbito por 100.000 habitantes^{63,78}.

Sabe-se que a população infectada pelo HCV apresenta forte associação com o uso de drogas ilícitas, o tabagismo e o etilismo⁷⁹. Neste sentido, estudo recente, realizado no Reino Unido, identificou que aqueles indivíduos infectados pelo HCV apresentaram quase duas vezes mais risco de morte do que a população geral⁷⁰. O hepatocarcinoma, bem como comportamentos de risco (usuários de drogas injetáveis, ingestão alcoólica) e condições sociais mostraram associação com as taxas de mortalidade representando importantes determinantes modificáveis nessa população^{70,74,80}.

Outros estudos realizados nos Estados Unidos da América em 2008, já haviam sugerido que a mortalidade geral apresentou-se moderadamente aumentada entre indivíduos com hepatite C e que grande parte do aumento dessa elevação foi devido a óbitos por trauma, suicídio, abuso de drogas e álcool^{81,82}.

1.6.3 Hepatite C e Doação de sangue

O reconhecimento de portadores do vírus da hepatite C aparentemente são durante a triagem sorológica realizada no momento da doação de sangue, a partir do início da década de 90, possibilitou a oportunidade de identificar indivíduos infectados por este vírus e assintomáticos. Além da identificação desses pacientes, foi possível incluí-los num seguimento que permitiu o aprofundamento do conhecimento da história natural desta infecção, ou seja, a avaliação da proporção de clearance viral e cronificação da infecção⁸³. Foi possível também conhecer os fatores de risco para sua aquisição e cronificação e avaliação dos desfechos clínicos e histológicos a longo prazo. São dos estudos realizados a partir da análise de doadores de sangue sãos, assim como da análise de receptores de hemocomponentes contaminados, que provêm os *insights* relacionados à patogênese da hepatite C e que têm fornecido à comunidade científica conhecimentos para novas estratégias diagnósticas, terapêuticas e de vacinas^{23,33,60,78,84,85}.

O vírus da Hepatite C é o agente causal de mais de 90% das hepatites pós-transfusionais, por isso, todas as pessoas que receberam transfusão de sangue ou hemocomponentes até o início dos anos 90, com ou sem história de hepatite pós-transfusional, devem ser avaliadas para identificar provável contaminação^{16,64,85,86}.

De acordo com o Art. 130 da Portaria 158⁸⁷ do Ministério da Saúde do Brasil, a realização de exames laboratoriais de alta sensibilidade a cada doação é obrigatória para detecção de marcadores para infecções transmissíveis pelo sangue e, dentre elas, a hepatite C⁸⁷.

No Brasil, o teste para detecção de anti-HCV tornou-se obrigatório na triagem sorológica dos bancos de sangue em 1993, embora alguns hemocentros tenham introduzido esta rotina mais precocemente, em 1992⁸⁷.

1.7 Prevenção e Controle

Na ausência de uma vacina contra a hepatite C, a prevenção se baseia, principalmente, em se evitar o contato com sangue contaminado. Para isso podem ser adotadas medidas como: não compartilhar escovas de dentes, lâminas, tesouras ou outros objetos de uso pessoal; não compartilhar seringas e outros instrumentos usados na preparação e consumo de drogas injetáveis e inaláveis; testagem dos candidatos a

doadores nos bancos de sangue. Ademais, considerando-se a possibilidade de transmissão sexual, deve-se sempre estimular o uso de preservativos¹.

Já quando se fala sobre controle, pode-se dizer que as principais barreiras à eliminação do HCV na atualidade, especialmente nos países de baixa e média renda, incluem a ineficiência das medidas de prevenção primária, a caracterização deficiente da epidemiologia local do HCV e a baixa capacidade de realização de diagnósticos^{88,89}.

Além disso, um dos principais desafios é como tornar os tratamentos acessíveis e garantir que eles sejam disponibilizados a todos que deles precisam^{88,89}. Para isso, devem-se utilizar estratégias abrangentes de redução de preços para medicamentos e testes diagnósticos, o que pode incluir o incentivo ao desenvolvimento de genéricos e as negociações diretas de preço com fabricantes^{90,91}.

A resposta global no controle do vírus também pode buscar inspiração em programas bem-sucedidos de saúde pública em outras áreas, como HIV e tuberculose. Abordagens, como aquelas que oferecem cuidados e tratamento para populações marginalizadas e vulneráveis vivendo com HIV, podem ser adaptadas para atingir as populações-chave mais afetadas pelo HCV⁸⁹.

1.8 Sistema de Informação de Mortalidade - SIM

1.8.1. Criação e atribuições do SIM

O Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica (SNVE) foi criado em 1975 após a promulgação da Lei n.º 6.229 de 30 de outubro de 1975⁹² com o objetivo de nortear a padronização dos registros dos dados referentes à situação da saúde no Brasil⁹². Em decorrência dessa ação surgiu o Sistema de Informação em Saúde (SIS) para concentrar os dados de nascidos vivos, de internações hospitalares, de mortalidade e outros aspectos relevantes em saúde. Após a criação do SIS foi implantado um subsistema denominado Sistema de Informação de Mortalidade (SIM) que, hoje em dia, é gerido pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS)^{93,94}.

O Sistema de Informação de Mortalidade foi implantado devido à descoberta de que havia 43 modelos diferentes de declaração de óbito no país, além de sistemas variados de armazenamento e fluxo de envio de dados. Além de suprir as falhas no processo de

¹ Bio-Manguinhos/Fiocruz 2014. <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/hepatite-c-sintomas-transmissao-e-prevencao>

registro de mortalidade, o SIM foi criado também para produzir informações com relação ao perfil epidemiológico do país e, com isso, indicar uma direção padronizada para que as informações fossem adequadamente apuradas^{93,94}.

Para auxiliar nesse propósito, o Brasil adotou em 1976 um documento padronizado denominado Declaração de Óbito (DO) para ser utilizado em todo o território nacional que, por meio da Portaria n.º 20 de 03 de outubro de 2003⁹⁵, tornou-se obrigatório. Esse documento é baseado no modelo internacional proposto pela Organização Mundial de Saúde em 1948 quanto às condições mórbidas presentes ou preexistentes no momento da morte de acordo com a Classificação Internacional de Doenças (CID-10)^{94,96-98}.

1.8.2. Documento de Declaração de Óbito (DO)

Esse documento é distribuído gratuitamente para as secretarias estaduais de saúde. Elas são as responsáveis por encaminhar a DO às secretarias municipais de saúde. Já as secretarias municipais de saúde repassam a DO para os estabelecimentos de saúde, os Institutos Médico Legais, os serviços de verificação de óbitos e os Cartórios de Registro Civil.

A Declaração de Óbito é constituída de 3 vias autocopiativas e pré-numeradas sequencialmente. Cada uma delas é única no país e apresenta cores distintas. A primeira via é branca e é a que deve ser encaminhada ou recolhida pela secretaria municipal de saúde. A segunda via é de cor amarela e é entregue à família que a levará ao cartório para o registro do óbito. Já a terceira via é de cor rosa e fica arquivada no serviço de saúde onde ocorreu o óbito^{98,99}.

A adoção desse modelo padrão permite a uniformização dos dados referentes aos óbitos da população brasileira, incluso os óbitos fetais e maternos. A padronização representa um papel importante para o planejamento local, regional e nacional do país tendo em vista que auxilia no reconhecimento do perfil epidemiológico da população e, conseqüentemente, fornece subsídios para a elaboração de indicadores de saúde que identificam os grupos de risco que necessitam ser priorizados e na elaboração e implantação de programas especiais de saúde e de desenvolvimento.

Vale ressaltar que as informações contidas na DO são a única fonte de dados para as doenças crônicas não sujeitas à notificação compulsória. No caso das doenças

crônicas de notificação compulsória é necessário comparar as informações constantes da DO com outros bancos de registro para esses agravos, tais como o SINAN^{82-98,100}.

Para o correto preenchimento do SIM devem ser seguidas as orientações descritas no manual de instruções do CID-10⁹⁸. Os campos do SIM linhas A (1-4), B (1-4), C (1-4), D (1-4) se referem às informações da Parte I da declaração de óbito, ou seja, causas consequenciais de morte; os campos linha II (1-4) se referem às informações da Parte II da declaração (causa contribuinte de morte); e o campo Causa Básica refere-se à doença ou lesão que levou o paciente à morte.

Infelizmente, ainda hoje há problemas com as informações referentes ao SIM tais como subnotificações de registros, erro de preenchimento, falhas de cobertura do sistema e perdas na transmissão dos dados. Em todo caso, verifica-se uma melhoria do SIM, já que são menos frequentes a presença de informações ignoradas ou em branco. Portanto, levando em consideração a importância das informações obtidas pelas declarações de óbitos, ressalta-se que o adequado preenchimento dessas declarações é útil na definição das prioridades que compõem as políticas de saúde pública devendo assim se constituir como um instrumento de máxima amplitude, mesmo nas regiões mais remotas do país^{97,101,102}.

2 JUSTIFICATIVA

2 Justificativa

Conforme acima descrito, a Organização Mundial da Saúde estima que por ano ocorram cerca de 350.000 a 400.000 mortes decorrentes de doenças hepáticas associadas à hepatite C em todo o mundo, enquanto no Brasil, os óbitos associados a essa doença constituem a maior causa de morte entre todas as hepatites virais. Entre 2000 e 2017, no SIM, foram declarados 53.715 óbitos por hepatite C, sendo 53,7% como causa básica⁶³.

Complicações hepáticas como cirrose e hepatocarcinoma, e também outras não hepáticas, como doenças cardiovasculares, renais e metabólicas, parecem ser as principais causas de óbito associadas a essa infecção em diferentes partes do mundo⁷⁴⁻⁸¹.

No entanto, em nosso país, são escassos os dados relativos às causas de mortalidade nessa população.

No sentido de contribuir com informações relativas a esse respeito é que delineamos o presente estudo, que teve por objetivo detectar o risco de óbito deste grupo em relação ao grupo de não portadores da doença, buscando compreender também as diversas causas de óbito.

Acreditamos que essas informações possam contribuir para uma maior compreensão da dinâmica dessa infecção em nosso meio, assim como possam auxiliar no delineamento de intervenções específicas em relação ao manejo dessa infecção no nosso país.

3 OBJETIVOS

3 Objetivos

3.1 Geral

Comparar a mortalidade entre doadores de sangue, soropositivos e soronegativos para Hepatite C, da Fundação Pró-Sangue – Hemocentro de São Paulo (FPS), no período de 1994 a 2016.

3.2 Específicos

- a) Descrever o sexo, a faixa etária, o tipo de doação (voluntária, vinculada, específica ou autóloga) e a frequência de doação (1ª vez ou repetição) da população estudada;
- b) Comparar a mortalidade por todas as causas entre os doadores de sangue soropositivos e soronegativos para HCV;
- c) Comparar a mortalidade por causas associadas ou diretamente relacionadas ao HCV entre os doadores de sangue soropositivos e soronegativos para HCV;
- d) Comparar os diferentes grupos de causas básicas de óbito entre os doadores de sangue soropositivos e soronegativos para HCV;
- e) Comparar a mortalidade entre os doadores de sangue co-infectados (HCV/HIV, HCV/HBV e HCV/HTLV) e doadores soronegativos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4 Materiais e Métodos

4.1 Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo observacional longitudinal do tipo coorte retrospectiva, com componentes descritivo e analítico e com o objetivo de comparar a mortalidade e as causas de morte de doadores de sangue soropositivos e soronegativos para o HCV por um período máximo de 22 anos (1994 a 2016).

4.2. Local de Estudo

A Fundação Pró-Sangue (FPS) é ligada à Secretaria de Estado da Saúde e ao Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Além disso, é considerada referência para a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), Organização Mundial da Saúde (OMS) e para o Ministério da Saúde. Foi criada em 1984 e sua sede se localiza no 1º andar do Prédio dos Ambulatórios do Hospital das Clínicas, à avenida Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 155. Atualmente, possui cinco postos fixos para doação de sangue: no Hospital das Clínicas, no Hospital do Mandaqui, no Hospital Dante Pazzanese, no Hospital Regional de Osasco e no Hospital Municipal de Barueri. A cada mês, a FPS coleta e processa cerca de 12.000 bolsas de sangue destinadas ao atendimento de cerca de 100 instituições públicas da rede estadual de saúde, entre elas o Hospital das Clínicas, o Instituto do Coração, o Instituto do Câncer de São Paulo e o Hospital Dante Pazzanese. Assim, o volume de sangue coletado pela FPS equivale a aproximadamente 32% do sangue consumido em toda a Região Metropolitana de São Paulo¹⁰³.

4.3 População de Estudo

A população incluída nesse estudo de coorte compreendeu, no grupo de expostos, todos os doadores soropositivos para HCV de 1994 a 2013 e, no grupo de não expostos, doadores soronegativos para todos os testes de triagem realizados na FPS. Durante o período do estudo, a FPS realizou rotineiramente os seguintes testes de triagem sorológicos em todas as doações antes de liberar as unidades para transfusão: vírus da hepatite C (HCV), vírus da hepatite B (HBV), sífilis, vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus linfotrópico de células T humanas I e II (HTLV) e doença de Chagas⁹⁹.

4.4 Definições e Conceitos (Definição de Exposição)

Os testes de triagem laboratorial para pesquisa de doenças infecciosas em doadores de sangue normalmente são os ensaios imunoenzimáticos (EIA), além do *nucleic acid test* (NAT) para o HIV e HCV, sendo este último obrigatório somente após novembro de 2013. Caso haja um resultado reagente, metodologias secundárias distintas são utilizadas de acordo com cada agente. Assim, para a sífilis é realizado o FTA-Abs em conjunto com o VDRL, para doença de Chagas são realizadas a hemaglutinação e imunofluorescência indireta, para HTLV-I e II são realizadas a quimioluminescência e Western Blot, para o HIV são realizados o EIA e Western Blot, sendo o NAT adotado ao final de 2013. Para hepatite B são realizados o HBsAg e anti-HBc total. Em caso de triagem positiva para HCV, os possíveis testes confirmatórios são: até 2013 o imunoblot (RIBA 3.0) e a partir de então o NAT⁹⁹.

Em 2004, o anexo VIII da RDC 153 definiu um algoritmo para testagem laboratorial e liberação de bolsas de sangue ¹⁰⁴. O algoritmo se aplicava a todas as doenças descritas acima. Trata-se do seguinte protocolo: deve ser realizado um teste inicial para cada uma das doenças (teste imunoenzimático ou por quimioluminescência). Caso reagente, repetir-se-ia o teste inicial em duplicata. Caso reagente em um ou nos dois testes, descartava-se a bolsa e convocava-se o doador. Caso não-reagente nos testes, liberava-se a bolsa para uso.

Assim, neste estudo doadores positivos para HCV foram definidos como aqueles que tiveram os seguintes exames sorológicos: EIA positivo na primeira amostra de doação e posterior confirmação através de teste de imunoblot (RIBA), numa segunda amostra coletada, sendo este o protocolo seguido pela FPS à época das doações (1994 a 2013) ^{87,99}. Por sua vez, doadores soronegativos foram definidos como aqueles que tiveram exames sorológicos negativos para todas as doenças testadas através dos exames de triagem para doação de sangue.

Como esperado, havia alguns doadores positivos para o HCV que também eram reagentes para uma ou várias das outras infecções rastreadas. Eles foram, portanto, considerados coinfectados, com exceção daqueles que foram reagentes para HCV e anti-HBc total, mas negativos para HBsAg, que foram considerados infectados apenas com HCV com um marcador de infecção passada pelo HBV ¹⁰⁵.

4.5 Seleção da Amostra

Para o grupo de expostos (soropositivos para hepatite C) foram selecionados todos os doadores de sangue soropositivos para hepatite C no período de 1994 a 2013.

Para o grupo de não expostos (soronegativos para hepatite C) foi selecionada uma amostra aleatória de doadores que eram soronegativos para todos os testes de triagem realizados na FPS. Os participantes deste grupo foram pareados por ano de doação de sangue com os soropositivos numa proporção de 1:2.

O número mínimo de integrantes para cada um dos grupos foi calculado no software Stata, versão 14.0. Considerou-se um nível de significância de 95% ($\alpha = 0,05$), poder (*power*) estatístico de 80% ($\beta = 20\%$), razão de expostos/não expostos 1:2¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ e um risco relativo de 3,12 na mortalidade entre os indivíduos expostos (HCV +) e não expostos (HCV-)⁸¹. Assim, o universo amostral necessário foi de 350 indivíduos HCV+ e 700 HCV-.

4.6 Critérios de inclusão e exclusão

4.6.1 Critérios de inclusão

- Grupo de expostos:
 - Primeira e segunda análise: Doadores de sangue da FPS entre 1994 e 2013 com confirmação diagnóstica para hepatite C.
 - Terceira análise: Doadores de sangue da FPS entre 1994 e 2013 com confirmação diagnóstica para hepatite C e mais uma das seguintes doenças: hepatite B, infecção pelo HIV ou HTLV.
- Grupo de não expostos: Doadores de sangue da FPS entre 1994 e 2013 com todas as sorologias negativas.

4.6.2 Critérios de exclusão

- Grupo de expostos:
 - Primeira e segunda análises: Doadores de sangue da FPS entre 1994 e 2013 soropositivos para hepatite C, mas que sejam soropositivos para alguma das demais doenças testadas.
 - Terceira análise: Doadores de sangue da FPS entre 1994 e 2013 coinfectados (HCV-HIV, HCV-HBV, HCV-HTLV), mas com dados inconsistentes.

- Grupo de não expostos: Doadores de sangue da FPS entre 1994 e 2013 com todas as sorologias negativas, mas com dados inconsistentes.

4.7 Fontes dos dados e Variáveis de Estudo

O estudo utilizou as duas bases de dados individuais citadas anteriormente: a FPS e a base de dados nacional do SIM. O banco de dados da FPS continha informações nominais para todos os sujeitos, ou seja, continha variáveis de identificação como nome, nome da mãe, data de nascimento, endereço e outros. Para o banco de dados do SIM as informações nominais só foram disponibilizadas pelo Ministério da Saúde do Brasil para os registros que correspondiam aos registros da FPS durante a primeira rodada dos procedimentos de vinculação de registros, conforme descrito abaixo.

Para além das variáveis de informação nominal, a base de dados da FPS continha as seguintes variáveis: resultados dos testes sorológicos, sexo, idade, data da doação, se era a primeira doação ou doou mais de uma vez e se a doação era voluntária / espontânea, vinculada, específica ou autóloga. A doação voluntária ou espontânea é aquela em que o doador se apresenta para doar por sua livre escolha, enquanto a vinculada tem o objetivo de repor o sangue que já foi utilizado ou quando se tem o nome de um possível receptor. A doação específica ocorre quando uma pessoa realiza doação para um determinado receptor e a doação autóloga, por sua vez, é quando alguém realiza a doação para si mesmo².

Quanto ao banco de dados do SIM, além das variáveis nominais de informação, ele continha as seguintes variáveis: sexo, idade, data da morte e códigos da Classificação Internacional de Doenças, 10ª Edição (CID-10) para as causas básicas e associadas de morte. Os dados do SIM possuem cobertura nacional representando quase a totalidade dos óbitos ocorridos no Brasil. A qualidade dos dados vem melhorando constantemente nas últimas duas décadas ^{109,110}.

4.8 Determinação da condição de morte

A fim de identificar os doadores de sangue que morreram durante o período de acompanhamento foi realizado uma *linkage* para vincular registros dos bancos de dados

² www.famema.br/hemocentro/tipo.ht.

da FPS e do SIM. Dada a ausência de um número de identidade nacional, foi utilizado um procedimento de *linkage* em duas etapas. Primeiro, um algoritmo de ligação interna foi desenvolvido por funcionários do Ministério da Saúde do Brasil em que a probabilidade de dois registros pertencerem ao mesmo paciente foi baseada no nome e na data de nascimento. Para cada registro um “filtro Bloom” foi construído seguindo os métodos desenvolvidos por Schnell *et al.* (2009)¹¹¹. Como esta etapa teve alta sensibilidade alcançada em detrimento da baixa especificidade, foi necessário realizar uma segunda etapa para aumentar a especificidade das correspondências encontradas utilizando o primeiro passo. A segunda etapa foi realizada pelos pesquisadores do estudo usando o software de código aberto Reclink III ¹¹². O nome do paciente, o nome da mãe e a data de nascimento foram escolhidos como as variáveis correspondentes. Três estratégias de etapas de bloqueio foram utilizadas a partir de uma combinação dos códigos fonéticos das variáveis nome, sobrenome e gênero. A primeira etapa de bloqueio usou o nome do código fonético, o código fonético do sobrenome e o gênero. O segundo passo de bloqueio utilizava apenas o código fonético do primeiro nome e o gênero, e o terceiro passo de bloqueio usava apenas o código fonético do último nome e o gênero. O procedimento de *linkage* utilizado pelos pesquisadores do estudo foi validado em publicação anterior em que os resultados da articulação de sistemas foram comparados para doadores de sangue com status vital conhecido ⁸⁴. Nesse estudo a sensibilidade aferida foi de 94% (95% CI, 90-97%) e a especificidade de 100% (95% CI, 98% -100%).

Infelizmente, o banco de dados do SIM continha apenas informações nominais a partir de 2000. Dessa forma, não foi possível realizar *linkage* entre os bancos da FPS e do SIM nos anos anteriores. Para a coorte que doou sangue em 1994, perdeu-se os primeiros seis anos de acompanhamento, para a coorte de 1995 perdeu-se os primeiros cinco anos e assim por diante. Em outras palavras, independentemente do status da sorologia para o HCV, não foi possível saber se aqueles que doaram sangue em 1994, por exemplo, morreram no período de 1994 a 1999. No entanto, com base nos achados de soropositivos e soronegativos que doaram sangue em 1999 e para quem só foram perdidas as mortes que poderiam ter acontecido durante o ano da doação de sangue, descobriu-se que as mortes eram extremamente raras no primeiro ano após a doação. Devido a essa descoberta e com o objetivo de contornar essa limitação de dados, fez-se a suposição analítica de que ninguém na coorte faleceu nos anos de 1994-1999. A fim de verificar se essa suposição poderia realmente ser feita, também foi realizada uma análise de

sensibilidade em que se repetiram os modelos de regressão logística retirando os anos incluídos na coorte em análise, ou seja, considerando-se apenas o período de 2000 a 2016. (ANEXO A).

4.9 Análise dos desfechos da mortalidade

Os doadores entraram na coorte na data de sua doação e foram seguidos até a data de suas mortes ou, se sobreviveram, até 31 de dezembro de 2016 que era a última data disponível de óbito na base de dados do SIM.

Assim, na primeira análise, em que se compararam os óbitos entre monoinfectados para hepatite C e soronegativos para todas as doenças, os desfechos de mortalidade foram definidos com base nos códigos da CID-10 listados como causa básica ou como qualquer uma das outras causas de morte na parte I da declaração de óbito ^{113,114}.

O desfecho primário foi:

- Morte por todas as causas.

O desfecho secundário foi:

- Mortes por causas associadas ou diretamente relacionadas ao HCV: códigos B17.1 (hepatite C aguda), B18.2 (hepatite C viral crônica), B18.8 (outras hepatites virais crônicas), B18.9 (hepatite viral crônica, não especificada), B19.0 (hepatite viral não especificada com coma hepático), B19 (hepatite viral não especificada), C22.0 (carcinoma de células hepáticas), C22.9 (neoplasia maligna do fígado, não especificada), I85.0 (varizes esofágicas com sangramento), K72.0 (insuficiência hepática aguda e subaguda), K72.1 (insuficiência hepática crônica), K72.9 (insuficiência hepática não especificada), K73.0 (hepatite persistente crônica não classificada em outra parte), K73.1 (hepatite lobular crônica não classificados em outra categoria), K73.2 (hepatite ativa crônica não classificada em outra parte), K73.8 (outras hepatites crônicas, não classificadas em outra parte), K73.9 (hepatite crônica não especificada), K74.0 (hepatite fibrosa), K74.1 (esclerose hepática), K74.2 (fibrose hepática com esclerose hepática), K74.6 (outras cirroses não especificadas do fígado), K75.9 (doença hepática inflamatória, sem outra especificação), K76.6 (hipertensão portal), K76.9 (doença hepática, não especificada).

Já na segunda análise, considerando-se ainda monoinfectados para hepatite C e soronegativos para todas as doenças, foram definidos grupos de causas de morte a fim de se comparar os resultados encontrados com os de um estudo similar de Guiltinan et al.

(2008)⁸¹. No presente estudo pequenas alterações foram realizadas na divisão dos grupos, a saber: juntou-se o acidente vascular encefálico com outras doenças do sistema nervoso e criou-se o grupo doenças neurológicas; com base nas manifestações extra-hepáticas mais comuns da hepatite C criaram-se outros dois grupos – doenças renais e Diabetes Mellitus. Para esta análise foram observados exclusivamente os códigos da CID-10 listados como causa básica, podendo-se observar no ANEXO B a divisão dos códigos por grupos, os quais são listados a seguir:

- HCV
- Outras hepatites virais
- Doença hepática
- Câncer de fígado
- Câncer – excluindo fígado
- Cardiovascular
- Pulmonar
- Trauma
- Suicídio
- Drogas / álcool
- Doenças neurológicas
- Infecção
- Outro / desconhecido - Doenças renais
- Outro / desconhecido - Diabetes mellitus
- Outro / desconhecido – Outro

Por fim, na terceira análise, cujas comparações foram realizadas entre indivíduos coinfectados (HCV-HIV, HCV-HBV, HCV-HTLV) e soronegativos para todas as sorologias, observaram-se os óbitos por todas as causas e por causas associadas ou diretamente relacionadas à infecção pelo HCV. Para isso, foram considerados os códigos da CID-10 listados como causa básica ou como qualquer uma das outras causas de morte na parte I da declaração de óbito.

Portanto, é possível resumir as análises dos desfechos de mortalidade da seguinte forma: na primeira análise foram comparados os óbitos de doadores soropositivos para HCV com aqueles que foram soronegativos para todos os outros testes de rastreamento. Na segunda análise, as causas básicas de morte foram comparadas entre os dois grupos e,

por fim, na terceira análise compararam-se os desfechos de mortalidade de doadores coinfectados (HCV-HIV, HCV-HBV, HCV-HTLV) com aqueles que foram soronegativos para todos os outros testes de rastreamento.

4.10 Análise Estatística

As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste Qui-quadrado de Pearson ou teste de Fisher. As variáveis contínuas foram comparadas usando-se os testes *t* de Student ou os testes de *Wilcoxon-Mann-Whitney*, conforme apropriado.

Hazard Ratios (HRs) não ajustadas e ajustadas foram estimadas para os resultados estudados usando modelos de regressão múltipla de Cox. Para a HR ajustada as covariáveis sexo, idade, tipo de doador e tipo de doação foram testados como potenciais confundidores e modificadores de efeito em todos os modelos. A idade foi analisada como uma variável contínua e as demais variáveis binárias. Estas foram as únicas variáveis disponíveis para análises no banco de dados da FPS. Procedimentos de seleção reversa foram usados para determinar quais das covariáveis deveriam permanecer nos modelos. Comparando as *Hazard Ratios* (HRs) ajustadas e não ajustadas para cada covariável avaliou-se o confundimento. Os testes da Razão de Verossimilhança avaliaram a contribuição de cada uma delas e seus efeitos na modificação para os modelos. A hipótese dos riscos proporcionais foi testada estatisticamente com base nos resíduos de Schoenfeld e verificando o paralelismo das curvas nos gráficos log-log. Consistentemente, os resultados indicaram nenhuma evidência de violação da suposição. Curvas de Kaplan-Meier foram utilizadas para analisar as diferenças de sobrevida relacionadas às variáveis de exposição e as diferenças estatísticas testadas com o teste de Log-rank. Dadas as comparações múltiplas, o método de correção de Bonferroni foi usado para definir o nível de significância a ser usado.

Como mencionado, uma análise de sensibilidade foi feita para comparar os riscos de morte que restringem os anos incluídos em nossas coortes. Em outras palavras, realizamos dois conjuntos de análises, uma considerando o período de 1994 a 2016, e a outra considerando apenas de 2000 a 2016.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa STATA versão

4.11 Aspectos Éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, HC-FMUSP (CAAE: 62572616.5.0000.0065). O Comitê determinou que era desnecessário obter o consentimento informado de cada indivíduo para revisar os registros médicos, dada a dificuldade de obter tal consentimento e porque o estudo foi conduzido usando dois bancos de dados retrospectivos. Os identificadores individuais foram removidos do banco de dados após a realização do pareamento de registros probabilísticos.

5 RESULTADOS

5 Resultados

No período de 1994 a 2013 foram identificados 2.892 doadores soropositivos para Hepatite C (HCV+) na Fundação Pró-Sangue - Hemocentro de São Paulo (FPS). Eles foram pareados por ano de doação com 5.784 doadores não expostos que não apresentaram positividade para nenhuma das sorologias de triagem (HCV-) (Tabela 1).

Do total de 8.676 sujeitos, 5.832 (67,2%) eram do sexo masculino enquanto 2.844 (32,8%) eram do sexo feminino. Em relação à faixa etária houve um predomínio de indivíduos com idades entre 17 a 29 anos (46,8%) seguidos por aqueles com 30 a 39 anos (27,4%). Quanto ao tipo de doação destacou-se aquela do tipo voluntária (51,6%) e o tipo de doador mais frequente foi o de primeira vez (63,6%).

Em relação ao ano de doação, observa-se que 1996 foi o ano com o maior número de ingressantes na coorte, 1.353 (15,6%), refletindo assim um maior número de indivíduos diagnosticados com hepatite C através dos exames de triagem, 451 (15,6%).

Tabela 1 - Características da população de estudo, segundo status sorológico para HCV, São Paulo - SP, 1994-2013

	Todos os sujeitos N = 8 676		Soropositivos N = 2 892		Soronegativos N = 5 784		Valor-p
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Sexo							< 0,001
Masculino	5 832	(67,2)	1 878	(64,9)	3 954	(68,4)	
Feminino	2 844	(32,8)	1 014	(35,1)	1 830	(31,6)	
Faixa etária (anos)							<0,0001
17-29	4 061	(46,8)	1 181	(40,8)	2 880	(49,8)	
30-39	2 381	(27,4)	709	(24,5)	1 670	(28,9)	
40-49	1 581	(18,2)	687	(23,8)	894	(15,5)	
>50	644	(7,4)	310	(10,7)	334	(5,8)	
Inválido	9	(0,1)	5	(0,2)	4	(0,1)	
Ano de Doação							1,000
1994	9	(0,1)	3	(0,1)	6	(0,1)	
1995	18	(0,2)	6	(0,2)	12	(0,2)	
1996	1 353	(15,6)	451	(15,6)	902	(15,6)	
1997	1 254	(14,5)	418	(14,5)	836	(14,5)	
1998	1 101	(12,7)	367	(12,7)	734	(12,7)	
1999	1 149	(13,2)	383	(13,2)	766	(13,2)	
2000	1 002	(11,5)	334	(11,5)	668	(11,5)	
2001	960	(11,1)	320	(11,1)	640	(11,1)	
2002	636	(7,3)	212	(7,3)	424	(7,3)	
2003	225	(2,6)	75	(2,6)	150	(2,6)	
2004	15	(0,2)	5	(0,2)	10	(0,2)	
2005	213	(2,5)	71	(2,5)	142	(2,5)	
2006	276	(3,2)	92	(3,2)	184	(3,2)	
2007	45	(0,5)	15	(0,5)	30	(0,5)	
2008	18	(0,2)	6	(0,2)	12	(0,2)	
2009	168	(1,9)	56	(1,9)	112	(1,9)	
2010	138	(1,6)	46	(1,6)	92	(1,6)	
2011	57	(0,7)	19	(0,7)	38	(0,7)	
2012	30	(0,3)	10	(0,3)	20	(0,3)	
2013	9	(0,1)	3	(0,1)	6	(0,1)	
Tipo de Doação							<0,0001
Voluntária	4 481	(51,6)	1 399	(48,4)	3 082	(53,3)	
Vinculada	4 173	(48,1)	1 487	(51,4)	2 686	(46,4)	
Específica	22	(0,3)	6	(0,2)	16	(0,3)	
Autóloga	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	
Tipo de Doador							<0,0001
1ª vez	5 516	(63,6)	2 763	(95,5)	2 753	(47,6)	
Repetição	3 160	(36,4)	129	(4,5)	3 031	(52,4)	

Para a análise das taxas e causas de mortalidade foram excluídos 6 indivíduos devido a dados inconsistentes, sendo 4 entre os soropositivos e 2 entre os soronegativos. Para a primeira e segunda análises, também foram excluídos 236 doadores do grupo de soropositivos por apresentarem alguma outra sorologia reagente dentre os exames de triagem. Assim, restaram 8.434 sujeitos no total, sendo 2.652 soropositivos e 5.782 soronegativos (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma de distribuição dos membros da coorte após aplicação dos critérios de exclusão

A tabela 2 mostra que no período de 1994 a 2016, quando se consideram todas as causas de óbito, houve 399 óbitos entre os dois grupos analisados, dos quais 209 pertenciam aos HCV+ (taxa de mortalidade de 483,73 óbitos por 100.000 pessoas-ano) e 190 aos HCV- (taxa de mortalidade de 195,78 óbitos por 100.000 pessoas-ano), obtendo-se assim um *Hazard Ratio* (HR) não ajustado de 2,5, IC de 95%: 2,06-3,05 ($p < 0,001$) e um HR ajustado = 2,15, IC de 95%: 1,76-2,62 ($p < 0,001$). Para as causas de óbito relacionadas diretamente ao HCV e para aquelas associadas à infecção pelo vírus observou-se que houve 73 óbitos no grupo HCV+ (taxa de mortalidade de 168,96 óbitos por 100.000 pessoas-ano) e 6 no grupo HCV- (taxa de mortalidade de 6,18 óbitos por 100.000 pessoas-ano) chegando-se, dessa forma, a um HR não ajustado = 27,55, IC de

95%: 11,98-63,35 ($p < 0,001$) e a um HR ajustado = 23,41, IC de 95%: 10,15-53,94 ($p < 0,001$).

Tabela 2 - Mortalidade conforme a causa de óbito, segundo status sorológico para HCV, São Paulo - SP, 1994-2016

Definições de caso	Número de mortes		Taxa de Mortalidade 100,000 PA *** (IC95%)		HR# bruto (IC95%)	HR# ajustado& (IC95%)
	Soro+* N=2.652	Soro-** N=5.782	Soro+ 43.206,366 PA	Soro- 97.047,702 PA	Valor - p	Valor - p
Mortes por todas as causas	209	190	483,73 (422,4 - 553,96)	195,78 (169,83- 225,69)	2,50 (2,06- 3,05) <0.001	2,15 (1,76- 2,62) <0.001
Mortes por causas associadas ou diretamente relacionadas ao HCV	73	6	168,96 (134,32 - 212,52)	6,18 (2,78 - 13,76)	27,55 (11,98 - 63,35) <0.001	23,41 (10,15 - 53,94) <0.001

*Soro+: Soropositivo apenas para HCV

***PA: Pessoas-ano

**Soro-: Soronegativo para todas as infecções testadas

#HR: Hazard Ratio

&HR ajustado por sexo, idade, tipo de doação e tipo de doador

Na análise de sensibilidade realizada para comparar os riscos de morte restringindo os anos incluídos em nossas coortes apenas para aqueles de 2000 a 2016, os resultados obtidos foram bastante semelhantes aos da tabela 2 (ANEXO A).

Os gráficos 1 e 2 demonstram a curva de sobrevida conforme a causa de óbito. Foi possível verificar maior sobrevida para o grupo soronegativo em ambos os casos.

Gráfico 1 - Sobrevida em anos, segundo status sorológico para HCV e quando se consideraram todas as causas de óbito, São Paulo - SP, 1994-2016. $p < 0,001$

Gráfico 2 - Sobrevida em anos, segundo status sorológico para HCV e quando se consideraram apenas as causas associadas ou diretamente relacionadas ao HCV, São Paulo - SP, 1994-2016. $p < 0,001$

Já na tabela 3 encontramos os dados relativos às causas básicas de óbito que foram agrupadas em categorias. Logo, nota-se que além de um predomínio de óbitos para a maior parte das causas no grupo soropositivo, esse grupo também se destacou de forma estatisticamente significativa quando se considerou as seguintes causas: todas as causas hepáticas (HR ajustado = 24,06, IC de 95%: 10,45-55,39), com destaque para doença

hepática (HR ajustado = 15,22, IC de 95% = 5,34-43,37) e hepatocarcinoma (HR ajustado = 29,52, IC de 95%: 3,93-221,73); trauma (HR ajustado = 1,86, IC de 95%: 1,17-2,97) e infecção (HR = 2,75, IC de 95%: 1,38-5,47). Avaliando-se as causas básicas de óbito relacionadas à infecção, observa-se que no grupo de soropositivos para HCV as principais foram tuberculose e pneumonia, enquanto entre os soronegativos destacou-se a pneumonia.

Tabela 3 - Mortalidade conforme a causa básica de óbito, segundo status sorológico para HCV, São Paulo - SP, 1994-2016

Causa Básica da Morte	HCV+*	HCV-**	HR ajustado [#]	IC95%	Valor-p
	N = 2 652	N = 5 782			
Todas as causas	75	6	24,06	(10,45-55,39)	<0,001
hepáticas					
HCV	23	0	∞	-	-
Outras hepatites virais	4	1	7,10	(0,78 – 64,52)	0,082
Doença Hepática	30	4	15,22	(5,34 – 43,37)	<0,001
Câncer hepático	18	1	29,52	(3,93 – 221,73)	0,001
Câncer não-hepático	28	48	1,00	(0,62 – 1,60)	0,992
Cardiovascular	17	29	1,03	(0,56 – 1,88)	0,931
Pulmonar	9	8	2,32	(0,89 – 6,06)	0,086
Trauma / suicídio	32	45	1,66	(1,05 – 2,61)	0,029
Trauma	32	40	1,86	(1,17 – 2,97)	0,009
Suicídio	0	5	∞	-	-
Drogas / álcool	2	0	∞	-	-
Doenças neurológicas	7	13	0,90	(0,36 – 2,28)	0,830
Infecção	20	14	2,75	(1,38 – 5,47)	0,004
Outras / desconhecidas	19	27	1,39	(0,77 – 2,52)	0,277
Doenças renais	3	4	1,26	(0,28 – 5,72)	0,761
Diabetes Mellitus	1	5	0,33	(0,38 – 2,87)	0,315
Outras	15	18	1,74	(0,87 – 3,47)	0,117
Total de mortes	209	190	2,15	(1,76 – 2,62)	<0,001

*HCV+: Soropositivo apenas para HCV. **HCV-: Soronegativo para todas as infecções testadas. [#]HR: Hazard Ratio ajustado por sexo, idade, tipo de doação e tipo de doador. IC: Intervalo de Confiança

Adicionalmente, foram comparadas as taxas de mortalidade entre doadores coinfectados (soropositivos pra HCV/HIV, HCV/HBV e HCV/HTLV) e doadores soronegativos para as demais doenças testadas nos exames de triagem da FPS (Tabelas 4, 5 e 6).

A tabela 4 mostra que no período de 1994 a 2016, quando se considera todas as causas de óbito, houve 204 óbitos entre os dois grupos analisados, dos quais 14 pertenciam aos HCV/HIV+ (taxa de mortalidade de 2.635,21 óbitos por 100.000 pessoas-ano) e 190 aos soronegativos para todas as doenças (Soro-) (taxa de mortalidade de 195,78 óbitos por 100.000 pessoas-ano), obtendo-se assim um *Hazard Ratio* (HR) não ajustado de 13,45 IC de 95%: 7,81-23,17 ($p < 0,001$) e um HR ajustado = 14,57, IC de 95%: 8,42-25,22 ($p < 0,001$). Para as causas de óbito relacionadas diretamente ao HCV e para aquelas associadas à infecção pelo vírus observou-se que houve 3 óbitos no grupo HCV/HIV+ (taxa de mortalidade de 564,69 óbitos por 100.000 pessoas-ano) e 6 no grupo Soro- (taxa de mortalidade de 6,18 óbitos por 100.000 pessoas-ano) chegando-se, dessa forma, a um HR não ajustado = 88,91, IC de 95%: 22,19-356,14 ($p < 0,001$) e a um HR ajustado = 95,76, IC de 95%: 23,54-389,52 ($p < 0,001$).

Tabela 4 - Mortalidade conforme a causa básica de óbito, segundo status sorológico para HCV e HIV, São Paulo - SP, 1994-2016

Definições de caso	Número de mortes		Taxa de Mortalidade 100,000 PA *** (IC95%)		HR [#] bruto (IC95%)	HR [#] ajustado ^{&} (IC95%)
	Soro+* N=36	Soro-** N=5.782	Soro+ 531,27 PA	Soro- 97.047,702 PA	Valor - p	Valor - p
Mortes por todas as causas	14	190	2.635,21 (1.560,71 - 4.449,48)	195,78 (169,83- 225,69)	13,45 (7,81- 23,17) <0.001	14,57 (8,42- 25,22) <0.001
Mortes por causas associadas ou diretamente relacionadas ao HCV	3	6	564,69 (182,12 – 1.750,86)	6,18 (2,78 – 13,76)	88,91 (22,19 – 356,14) <0.001	95,76 (23,54 – 389,52) <0.001

*Soro+: Soropositivo para HCV e HIV

***PA: Pessoas-ano

**Soro-: Soronegativo para todas as infecções testadas

[#]HR: Hazard Ratio

[&]HR ajustado por sexo, idade, tipo de doação e tipo de doador

Já a tabela 5 mostra que no período de 1994 a 2016, quando se considera todas as causas de óbito, houve 191 óbitos entre os dois grupos analisados, dos quais 1 pertencia aos HCV/HBV+ (taxa de mortalidade de 274 óbitos por 100.000 pessoas-ano) e 190 aos soronegativos para todas as doenças (Soro-) (taxa de mortalidade de 195,78 óbitos por 100.000 pessoas-ano), obtendo-se assim um Hazard Ratio (HR) não ajustado de 1,39 e um HR ajustado = 0,97, porém sem significância estatística. Para as causas de óbito relacionadas diretamente ao HCV e para aquelas associadas à infecção pelo vírus observou-se que houve 1 óbito no grupo HCV/HBV+ (taxa de mortalidade de 274 óbitos

por 100.000 pessoas-ano) e 6 no grupo Soro- (taxa de mortalidade de 6,18 óbitos por 100.000 pessoas-ano) chegando-se, dessa forma, a um HR não ajustado = 43,35, IC de 95%: 5,45-376,99 ($p = 0,001$) e a um HR ajustado = 33,67, IC de 95%: 3,91-289,86 ($p < 0,001$).

Tabela 5 - Mortalidade conforme a causa de óbito, segundo status sorológico para HCV e HBV, São Paulo - SP, 1994-2016

Definições de caso	Número de mortes		Taxa de Mortalidade 100,000 PA *** (IC95%)		HR# bruto (IC95%) Valor - p	HR# ajustado& (IC95%) Valor - p
	Soro+* N=21	Soro-** N=5.782	Soro+ 364,96 PA	Soro- 97.047,702 PA		
Mortes por todas as causas	1	190	274 (39 - 1.945,1)	195,78 (169,83- 225,69)	1,39 (0,20- 9,93) =0,742	0,97 (0,14- 6,96) =0,978
Mortes por causas associadas ou diretamente relacionadas ao HCV	1	6	274 (39 - 1.945,1)	6,18 (2,78 - 13,76)	43,35 (5,45 - 376,99) =0,001	33,67 (3,91 - 289,86) =0,001

*Soro+: Soropositivo para HCV e HBV

***PA: Pessoas-ano

**Soro-: Soronegativo para todas as infecções testadas

#HR: Hazard Ratio

&HR ajustado por sexo, idade, tipo de doação e tipo de doador

A tabela 6, por sua vez, mostra que no período de 1994 a 2016, quando se considera todas as causas de óbito, houve 200 óbitos entre os dois grupos analisados, dos quais 10 pertenciam aos HCV/HTLV+ (taxa de mortalidade de 976,96 óbitos por 100.000 pessoas-ano) e 190 aos soronegativos para todas as doenças (Soro-) (taxa de mortalidade de 195,78 óbitos por 100.000 pessoas-ano), obtendo-se assim um Hazard Ratio (HR) não ajustado de 4,96, IC de 95%: 2,62-9,36 ($p < 0,001$) e um HR ajustado = 3,65, IC de 95%: 1,93-6,91 ($p < 0,001$). Para as causas de óbito relacionadas diretamente ao HCV e para aquelas associadas à infecção pelo vírus observou-se que houve 3 óbitos no grupo HCV/HTLV+ (taxa de mortalidade de 293,01 óbitos por 100.000 pessoas-ano) e 6 no grupo Soro- (taxa de mortalidade de 6,18 óbitos por 100.000 pessoas-ano) chegando-se, dessa forma, a um HR não ajustado = 47,13, IC de 95%: 11,78-188,52 ($p < 0,001$) e a um HR ajustado = 35,44, IC de 95%: 8,71-144,21 ($p < 0,001$).

Tabela 6 - Mortalidade conforme a causa de óbito, segundo status sorológico para HCV e HTLV, São Paulo - SP, 1994-2016

Definições de caso	Número de mortes		Taxa de Mortalidade 100,000 PA *** (IC95%)		HR# bruto (IC95%)	HR# ajustado& (IC95%)
	Soro+* N=62	Soro-** N=5.782	Soro+ 1.023,58 PA	Soro- 97.047,702 PA	Valor - p	Valor - p
Mortes por todas as causas	10	190	976,96 (525,7 - 1.815,7)	195,78 (169,83- 225,69)	4,96 (2,62- 9,36) <0.001	3,65 (1,93- 6,91) <0.001
Mortes por causas associadas ou diretamente relacionadas ao HCV	3	6	293,01 (94,5 - 9.087,4)	6,18 (2,78 - 13,76)	47,13 (11,78 - 188,52) <0.001	35,44 (8,71 - 144,21) <0.001

*Soro+: Soropositivo para HCV e HTLV

***PA: Pessoas-ano

**Soro-: Soronegativo para todas as infecções testadas

#HR: Hazard Ratio

&HR ajustado por sexo, idade, tipo de doação e tipo de doador

Por fim, a tabela 7 resume os principais resultados encontrados neste estudo:

Tabela 7 - Risco de óbito segundo a causa e status sorológico, São Paulo - SP, 1994-2016

Status Sorológico	Todas as causas	HCV ou causas associadas
	HR# ajustado& (IC95%)	HR# ajustado& (IC95%)
	Valor-p	Valor-p
HCV monoinfectados X Soronegativos	2,15 (1,76-2,62) <0.001	23,41 (10,15 – 53,94) <0.001
HCV-HIV X Soronegativos	14,57 (8,42-25,22) <0.001	95,76 (23,54 – 389,52) <0.001
HCV-HBV X Soronegativos	0,97 (0,14-6,96) =0,978	33,67 (3,91 – 289,86) =0.001
HCV-HTLV X Soronegativos	3,65 (1,93-6,91) <0.001	35,44 (8,71 – 144,21) <0.001

#HR: Hazard Ratio

&HR ajustado por sexo, idade, tipo de doação e tipo de doador

6 DISCUSSÃO

6 Discussão

Os dados deste estudo de coorte retrospectiva mostram que a taxa de mortalidade por causas hepáticas e não hepáticas, em um período de 22 anos, foi maior entre doadores de sangue soropositivos para HCV em relação aos doadores soronegativos. O hepatocarcinoma esteve associado a um risco quase 30 vezes maior de mortalidade entre os doadores de sangue HCV-positivos. Além disso, o trauma e a infecção como causas básicas de óbito estiveram associados a um risco de morte praticamente duplicado entre indivíduos infectados pelo HCV. Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores em diferentes contextos e populações, demonstrando que a infecção pelo HCV aumenta o risco de morte quando comparada com indivíduos soronegativos para este vírus^{57,71-73,81,116,117}.

As causas hepáticas de morte são as mais comuns entre os indivíduos infectados pelo HCV^{57,71-73,81,116,117}. No entanto, nos grupos em que o uso de drogas intravenosas é o provável mecanismo de transmissão do vírus, outras causas de morte podem se destacar. Dessa forma, sugere-se que a mortalidade associada ao HCV pode ser dividida em duas fases. Na primeira fase, a morte ocorre mais frequentemente em jovens e está intimamente associada ao estilo de vida, como por exemplo o de uso de drogas; na segunda fase está principalmente relacionada à doença hepática crônica induzida pelo HCV⁵⁷.

Os mecanismos de transmissão do HCV parecem ter mudado nos últimos anos no Brasil. Antes do início da triagem de doadores de sangue no início dos anos 90, a transfusão de sangue e hemoderivados era a via predominante de transmissão do HCV⁸³. O uso de drogas injetáveis também foi um importante modo de transmissão^{59,83}. Desde então, novos protocolos de rastreamento tornaram o suprimento de sangue seguro¹¹⁸. Além disso, uma redução significativa no uso de drogas injetáveis e no compartilhamento de agulhas foi observada^{8,9,32}. Hoje em dia, a transmissão nosocomial (particularmente a hemodiálise), bem como a transmissão através do reaproveitamento de agulhas em ambientes não médicos parecem ser responsáveis pela maioria dos novos casos relatados de hepatite C^{44,119}. Corroborando tais informações, devem-se destacar os números encontrados no presente trabalho, em que se observa, com o passar dos anos, uma redução do número de diagnósticos de hepatite C entre os doadores de sangue. Dessa forma, em

meados da década de 90 houve um pico no número de diagnósticos, regredindo para apenas 3 casos no ano de 2013. Tal achado demonstra, assim, que a partir do momento em que se passa a triar os doadores de sangue nota-se, paralelamente, uma redução de casos novos de hepatite C, confirmando a importância da transfusão de sangue e hemoderivados como forma de transmissão do vírus antes dos anos 90.

Uma associação entre a infecção pelo vírus da hepatite C e sintomas neuropsiquiátricos, principalmente depressão, tem sido debatida há alguns anos³². Uma metanálise recente indicou que a depressão é a manifestação extra-hepática associada ao HCV mais prevalente (24,5% nos indivíduos positivos para o HCV vs. 17,2% nos indivíduos HCV negativos)³². Os transtornos depressivos maiores têm sido associados a um risco aumentado de lesões não intencionais e diferentes tipos de trauma¹²⁰. O aumento da mortalidade associada ao trauma nos indivíduos HCV-positivos observado no presente estudo poderia estar associado, de certa forma, a uma maior taxa de comportamentos de risco entre ex-usuários de drogas injetáveis e/ou pessoas com transtornos psiquiátricos, sendo que estes últimos estão particularmente relacionados a eventos como quedas e lesões por entorse. Tal fato foi demonstrado em estudo envolvendo indivíduos com sofrimento psíquico vivendo em comunidade, cujos resultados demonstraram associação à lesão não ocupacional não intencional e a magnitude da associação aumenta com a gravidade do sofrimento¹²¹. Dessa forma, esses dados demonstram a importância de se buscar a presença de distúrbios psiquiátricos entre indivíduos infectados pelo vírus da hepatite C, para que assim possam ser trabalhadas medidas de prevenção para eventos que podem, como visto, levarem a um incremento da morbimortalidade.

No presente estudo, as infecções estiveram associadas a um risco quase três vezes maior de morte em indivíduos positivos para o HCV. Uma associação entre a infecção pelo HCV e risco aumentado para infecções bacterianas já foi relatada anteriormente¹²²⁻¹²⁶. Tuberculose, pneumonia adquirida na comunidade ou infecções bacterianas entre pacientes em hemodiálise são muito mais frequentes em indivíduos infectados pelo HCV¹²²⁻¹²⁶. A coinfeção com o HIV e o uso de drogas injetáveis também são mais comuns em pacientes infectados pelo HCV e podem levar a maiores taxas de mortalidade por sepse¹⁵. As infecções bacterianas entre pacientes cirróticos também são comuns, particularmente naqueles descompensados, e são responsáveis por uma mortalidade significativa¹²⁷. A disfunção hepática leva ao comprometimento da

imunidade humoral e mediada por células, o que resulta em uma diminuição da capacidade de proteger o hospedeiro de infecções, bacterianas ou não^{127,128}.

Como visto anteriormente, a infecção pelo HCV pode estar relacionada a um maior risco de tuberculose (TB), a qual apresenta grande impacto em termos de saúde pública, tendo em vista que em 2015 cerca de 10,4 milhões de pessoas desenvolveram a doença no mundo e 1,4 milhões de pessoas morreram em consequência da mesma. Por sua vez, o Brasil está entre os 30 países de alta carga para TB que são considerados prioritários pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para o controle da doença no mundo. Em 2017, o número de casos notificados no país foi de 72.770 e no ano de 2016, foram notificados 4.483 óbitos por TB¹²⁹. Dessa forma, observa-se que a tuberculose pode representar grande impacto como causa de óbito quando se considera um grupo de indivíduos infectados pelo HCV vivendo em um país endêmico, como o Brasil, para a doença causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*.

Em oposição a outros estudos sobre mortalidade relacionados à infecção pelo HCV, não encontramos dados estatisticamente significantes quanto a um maior risco de óbitos por causas cardiovasculares, renais, neurológicas ou metabólicas (p. ex.: Diabetes Mellitus), o que pode ser explicado pelo grande número de indivíduos jovens que participaram da coorte, tendo em vista que a faixa etária predominante foi aquela de 17 a 29 anos de idade.

Sobre o aumento do risco de óbito entre indivíduos coinfectados (HCV-HIV, HCV-HTLV) também houve correspondência com a literatura, que descreve maior taxa de mortalidade nessas populações^{57,71-73, 81,116}. No entanto, quando se considerou a morte por todas as causas entre aqueles coinfectados HCV-HBV o HR foi menor que 1, achado esse que não demonstrou significância estatística, o que pode ser explicado pelo baixo número de indivíduos que apresentaram tal coinfecção no presente estudo. Neste sentido, sabe-se que cada um desses vírus, individualmente, pode levar a um aumento da morbimortalidade, tanto por causas relacionadas à própria infecção quanto por outras causas. Tal situação é muito bem estudada, por exemplo, entre pessoas vivendo com HIV (PVHIV), sendo que alguns estudos mostram, por exemplo, que a mortalidade desses indivíduos é maior mesmo entre aqueles com supressão viral eficaz, visto que nem a terapia antirretroviral é capaz de restaurar e expectativa de vida a um nível comparável a pessoas que não são infectadas pelo HIV¹³¹. Portanto, é esperado que a coexistência de infecções, que por si só são capazes de elevar o risco de óbito, seja capaz de potencializar

ainda mais esses números, corroborando as elevadas taxas de mortalidade que foram encontradas no presente estudo para indivíduos coinfectados, especialmente para a associação HCV-HIV.

Como já comentado previamente, no período estudado foi utilizado o seguinte protocolo para a confirmação laboratorial da infecção pelo HCV: EIA positivo na primeira amostra de doação e posterior confirmação através de teste de imunoblot (RIBA), numa segunda amostra coletada. Apesar de, atualmente, serem utilizados testes moleculares para realizar tal confirmação, sabe-se que durante muitos anos os testes suplementares (p. ex.: RIBA) foram utilizados com este objetivo, inclusive com o respaldo de agências internacionais como o *Center of Disease Control and Prevention* (CDC)^{132,133}. Por conseguinte, apesar de haver a possibilidade de um pequeno número de pessoas incluídas no grupo de HCV reagentes não apresentarem viremia, tendo em vista que não se realizava testes moleculares para confirmação diagnóstica àquela época, tal fato não minimiza o elevado risco de óbito que foi detectado em relação aos HCV não reagentes. Na verdade, isso nos permite inferir que a história de infecção prévia pelo HCV, independente da evolução (cronicidade sem tratamento, cura espontânea ou cura por tratamento), esteve relacionada a uma maior mortalidade, o que pode ser explicado pelas comorbidades e hábitos de vida desses indivíduos.

Algumas limitações do presente estudo devem ser reconhecidas. Uma delas é o fato de não ter sido possível determinar a duração da infecção em doadores de sangue soropositivos para o HCV, ou seja, não foi possível verificar se eles permaneceram assintomáticos ou se eliminaram espontaneamente o vírus. Além disso, não dispúnhamos de dados sobre outros comportamentos de risco à saúde, tais como o uso de tabaco, álcool ou a presença de outras comorbidades, como diabetes mellitus e obesidade, não apenas no momento inicial, mas também durante todo o período do estudo para ambos os grupos. No entanto, tais exposições, provavelmente, foram semelhantes em ambos os grupos analisados e, embora estudos adicionais sejam necessários para verificação, o efeito dessa limitação metodológica sobre os achados aqui apresentados provavelmente foi mínimo. O acesso às informações sobre o status socioeconômico dos sujeitos nessa coorte também não foi possível. Como o nível socioeconômico mais baixo está associado a taxas de mortalidade mais altas, essa omissão pode ter influenciado, até certo ponto, as diferenças de sobrevida observadas.

Por outro lado, uma vantagem deste estudo é que foi analisada uma coorte de doadores de sangue. Estes são, geralmente, pessoas saudáveis e que se expõem a um menor risco de adquirirem doenças de transmissão parenteral e sexual. Além disso, o tempo de seguimento dessa população foi bastante longo, chegando a 22 anos. Assim, estes fatores contribuem para a validação da análise da mortalidade associada ao HCV nesta população.

Destaca-se aqui, porém, que a ausência de dados de mortalidade para os anos de 1994 a 1999 impossibilitou identificar se os doadores dessa coorte morreram durante este período, o que pode ter afetado, de certa forma, os resultados. Em contrapartida, mortes precoces após doação de sangue não são frequentes, como observado para aqueles na coorte que doaram a partir de 1999. Na análise de sensibilidade restringindo o período de estudo para 2000 a 2016, os resultados produzidos foram semelhantes aos encontrados para 1994 a 2016.

Também é importante reconhecer que a taxa de mortalidade associada à infecção pelo HCV pode permanecer maior do que na população geral, mesmo após essa infecção ter sido tratada com sucesso. Complicações tardias da doença hepática crônica, como carcinoma hepatocelular e descompensação hepática, assim como suicídios e traumas podem persistir como causas básicas de morte mesmo naqueles que alcançaram resposta virológica sustentada^{70,134}.

O Ministério da Saúde tem investido muitos recursos para diagnosticar e eliminar a infecção pelo HCV no Brasil. Um grande volume de recursos financeiros, principalmente destinado à aquisição dos antivirais de ação direta (DAA), tem sido disponibilizado nos últimos anos⁹¹. Entretanto, acredita-se que os dados apresentados neste estudo, revelando que a mortalidade geral é maior na população infectada pelo HCV, aponta para a necessidade de ações abrangentes adicionais em conjunto com o uso de medicamentos. Em termos de saúde pública, é necessário estabelecer uma estratégia de monitoramento contínuo da população infectada pelo HCV, mesmo após a cura virológica. Por conseguinte, esta estratégia pode focar, principalmente, naqueles pacientes já identificados com doença hepática avançada, com comorbidades significativas ou com história de distúrbios neuropsiquiátricos. A educação continuada do médico e do paciente sobre os riscos de morbimortalidade hepática relacionados à infecção pelo HCV também será necessária.

Em conclusão, nesta coorte retrospectiva, a taxa de mortalidade por todas as causas esteve aumentada entre os doadores de sangue soropositivos para HCV em comparação com os doadores soronegativos. Entre as causas básicas de morte identificadas no grupo HCV-positivo, as complicações por doença hepática avançada, infecções e trauma demonstraram maior risco quando comparadas ao grupo de não expostos. Portanto, tais dados confirmam que as consequências da infecção pelo HCV são importantes causas de morte no Brasil e sugerem que o acompanhamento desses indivíduos após a administração do tratamento específico é necessário para melhorar a sobrevida dos mesmos.

7 CONCLUSÕES

7 Conclusões

Os dados obtidos neste estudo sugerem que:

1. A hepatite C é responsável por significativo número de óbitos em nosso país;
2. A taxa de mortalidade por causas hepáticas entre doadores de sangue soropositivos para HCV, quando comparada com doadores soronegativos, é significativamente maior;
3. A taxa de mortalidade por causas não hepáticas entre doadores de sangue soropositivos para HCV, quando comparada com doadores soronegativos, também é significativamente maior, especialmente quando se consideram as seguintes causas: trauma e infecção;
4. O adequado manejo da população infectada pelo HCV exige estratégias de monitoramento contínuo desses indivíduos, mesmo após a obtenção da cura virológica, no sentido de se estabelecer melhor controle das comorbidades a eles associadas.

8 REFERÊNCIAS

8 Referências

1. Samreen B, Khaliq S, Ashfaq UA, Khan M, Afzal N, Shahzad MA, et al. Hepatitis C virus entry: Role of host and viral factors. *Infect Genet Evol.* 2012 Dec;12(8):1699–709.
2. Wang H, Tai AW. Mechanisms of Cellular Membrane Reorganization to Support Hepatitis C Virus Replication. *Viruses.* 2016;8(5).
3. Bartenschlager R, Penin F, Lohmann V, André P. Assembly of infectious hepatitis C virus particles. *Trends Microbiol.* 2011 Feb;19(2):95–103.
4. Wang H, Tai AW. Mechanisms of Cellular Membrane Reorganization to Support Hepatitis C Virus Replication. *Viruses.* 2016;8(5).
5. Mauger DM, Golden M, Yamane D, Williford S, Lemon SM, Martin DP, et al. Functionally conserved architecture of hepatitis C virus RNA genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Mar 24;112(12):3692–7.
6. Lorenz IC, Marcotrigiano J, Dentzer TG, Rice CM. Structure of the catalytic domain of the hepatitis C virus NS2-3 protease. *Nature.* 2006 Aug 23;442(7104):831–5.
7. Arshad A, Ashfaq UA. Epidemiology of Hepatitis C Infection in Pakistan: Current Estimate and Major Risk Factors. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2017;27(1):63–77.
8. Oliveira MLA, Yoshida CFT, Telles PR, Hacker MA, Oliveira SAN, Miguel JC, et al. Trends in HCV prevalence, risk factors and distribution of viral genotypes in injecting drug users: findings from two cross-sectional studies. *Epidemiol Infect.* 2009 Jul 15;137(7):970–9.
9. Guimarães ML, Marques BCL, Bertoni N, Teixeira SLM, Morgado MG, Bastos FI, et al. Assessing the HIV-1 Epidemic in Brazilian Drug Users: A Molecular Epidemiology Approach. Carr JK, editor. *PLoS One.* 2015 Nov 4;10(11):e0141372.
10. Moyer VA, U.S. Preventive Services Task Force. Screening for Hepatitis C Virus Infection in Adults: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med.* 2013 Sep 3;159(5):349.
11. Chan J. Hepatitis C. *Dis Mon.* 2014 May;60(5):201–12.
12. Cousien A, Leclerc P, Morissette C, Bruneau J, Roy É, Tran VC, et al. The need

- for treatment scale-up to impact HCV transmission in people who inject drugs in Montréal, Canada: a modelling study. *BMC Infect Dis*. 2017 Dec 21;17(1):162.
13. Calles DL, Collier MG, Khudyakov Y, Mixson-Hayden T, VanderBusch L, Weninger S, et al. Hepatitis C virus transmission in a skilled nursing facility, North Dakota, 2013. *Am J Infect Control*. 2017 Feb 1;45(2):126–32.
 14. Grebely J, Dore GJ, Morin S, Rockstroh JK, Klein MB. Elimination of HCV as a public health concern among people who inject drugs by 2030 - What will it take to get there? *J Int AIDS Soc*. 2017;20(1):22146.
 15. Medrano J, Álvaro-Meca A, Boyer A, Jiménez-Sousa MA, Resino S. Mortality of patients infected with HIV in the intensive care unit (2005 through 2010): significant role of chronic hepatitis C and severe sepsis. *Crit Care*. 2014 Aug 27;18(4):475.
 16. Biadgo B, Shiferaw E, Woldu B, Alene KA, Melku M. Transfusion-transmissible viral infections among blood donors at the North Gondar district blood bank, northwest Ethiopia: A three year retrospective study. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180416.
 17. Kakchapati S, Maharjan M, Rawal BB, Dixit SM. Social determinants and risk behaviors associated with prevalent Hepatitis C and HIV/HCV co-infection among male injection drug users in Nepal. *Arch Public Health*. 2017;75:39.
 18. Tavousi SH, Ahmadabadi A, Sedaghat A, Khadem-Rezaian M, Yaghoubi Moghaddam Z, Behrouzian MJ, et al. Blood transfusion in burn patients: Triggers of transfusion in a referral burn center in Iran. *Transfus Clin Biol*. 2018 Feb;25(1):58–62.
 19. Strauss E. Hepatite C. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001 Feb;34(1):69–82.
 20. Sagnelli E, Santantonio T, Coppola N, Fasano M, Pisaturo M, Sagnelli C. Acute hepatitis C: clinical and laboratory diagnosis, course of the disease, treatment. *Infection*. 2014 Aug 12;42(4):601–10.
 21. MS. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções [Internet]. Brasília; 2015.
 22. Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology*. 2002 Nov;36(5B):s21–9.
 23. Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol*. 2014 Nov;61(1 Suppl):S58–68.
 24. Dirchwolf M, Marciano S, Mauro E, Ruf AE, Rezzonico L, Anders M, et al. Clinical epidemiology of acute hepatitis C in South America. *J Med Virol*. 2017 Feb;89(2):276–83.

25. Spengler U, Nattermann J. Immunopathogenesis in hepatitis C virus cirrhosis: Figure 1. *Clin Sci*. 2007 Feb 1;112(3):141–55.
26. Morozov VA, Lagaye S. Hepatitis C virus: Morphogenesis, infection and therapy. *World J Hepatol*. 2018 Feb 27;10(2):186–212.
27. Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story. *Gut*. 2015 May;64(5):830–41.
28. Dyal HK, Aguilar M, Bhuket T, Liu B, Holt EW, Torres S, et al. Concurrent Obesity, Diabetes, and Steatosis Increase Risk of Advanced Fibrosis Among HCV Patients: A Systematic Review. *Dig Dis Sci*. 2015 Sep 3;60(9):2813–24.
29. Zehender G, De Maddalena C, Bernini F, Ebranati E, Monti G, Pioltelli P, et al. Compartmentalization of hepatitis C virus quasispecies in blood mononuclear cells of patients with mixed cryoglobulinemic syndrome. *J Virol*. 2005 Jul 15;79(14):9145–56.
30. Galossi A, Guarisco R, Bellis L, Puoti C. Extrahepatic manifestations of chronic HCV infection. *J Gastrointest Liver Dis*. 2007 Mar;16(1):65–73.
31. Grignoli R, Goossens N, Negro F. Extrahepatic manifestations of HCV. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2015;61(1):31–8.
32. Younossi Z, Park H, Henry L, Adeyemi A, Stepanova M. Extrahepatic Manifestations of Hepatitis C: A Meta-analysis of Prevalence, Quality of Life, and Economic Burden. *Gastroenterology*. 2016 Jun;150(7):1599–608.
33. Millman AJ, Nelson NP, Vellozzi C. Hepatitis C: Review of the Epidemiology, Clinical Care, and Continued Challenges in the Direct Acting Antiviral Era. *Curr Epidemiol reports*. 2017 Jun;4(2):174–85.
34. Cacoub P, Comarmond C, Domont F, Savey L, Desbois AC, Saadoun D. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection. *Ther Adv Infect Dis*. 2016 Feb 28;3(1):3–14.
35. Gill K, Ghazinian H, Manch R, Gish R. Hepatitis C virus as a systemic disease: reaching beyond the liver. *Hepatol Int*. 2016 May;10(3):415–23.
36. Tang L, Marcell L, Kottlil S. Systemic manifestations of hepatitis C infection. *Infect Agent Cancer*. 2016;11:29.
37. Poynard T, Ratziu V, Benhamou Y, Opolon P, Cacoub P, Bedossa P. Natural history of HCV infection. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2000 Apr;14(2):211–28.
38. Guo Q-Y, Wu M, Wang Y-W, Sun G-D. Hepatitis C virus-associated cryoglobulinemia with membrano-proliferative glomerulonephritis treated with prednisolone and interferon: A case report. *Exp Ther Med*. 2017 Aug;14(2):1395–

- 8.
39. Polo ML, Laufer N. Extrahepatic manifestations of HCV: the role of direct acting antivirals. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2017 Aug 3;15(8):737–46.
40. Minopetrou M, Hadziyannis E, Deutsch M, Tampaki M, Georgiadou A, Dimopoulou E, et al. Hepatitis C virus (HCV)-related cryoglobulinemia: cryoglobulin type and anti-HCV profile. *Clin Vaccine Immunol*. 2013 May;20(5):698–703.
41. Gill K, Ghazinian H, Manch R, Gish R. Hepatitis C virus as a systemic disease: reaching beyond the liver. *Hepatol Int*. 2016 May;10(3):415–23.
42. Rostaing L, Izopet J, Kamar N. Hepatitis C virus infection in nephrology patients. *J Nephropathol*. 2013 Oct;2(4):217–33.
43. Tampaki M, Koskinas J. Extrahepatic immune related manifestations in chronic hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2014 Sep 21;20(35):12372–80.
44. Carvalho-Filho RJ, Feldner ACCA, Silva AEB, Ferraz MLG. Management of hepatitis C in patients with chronic kidney disease. *World J Gastroenterol*. 2015 Jan 14;21(2):408–22.
45. Meyers CM, Seeff LB, Stehman-Breen CO, Hoofnagle JH. Hepatitis C and renal disease: an update. *Am J Kidney Dis*. 2003 Oct;42(4):631–57.
46. Enger C, Forssen UM, Bennett D, Theodore D, Shantakumar S, McAfee A. Thromboembolic events among patients with hepatitis C virus infection and cirrhosis: a matched-cohort study. *Adv Ther*. 2014 Aug 22;31(8):891–903.
47. Olubamwo OO, Aregbesola AO, Miettola J, Kauhanen J, Tuomainen T-P. Hepatitis C and risk of coronary atherosclerosis – A systematic review. *Public Health*. 2016 Sep;138:12–25.
48. Zheng Z, Sze CW, Keng CT, Al-Haddawi M, Liu M, Tan SY, et al. Hepatitis C virus mediated chronic inflammation and tumorigenesis in the humanised immune system and liver mouse model. *PLoS One*. 2017;12(9):e0184127.
49. Patel P, Malik K, Krishnamurthy K. Cutaneous Adverse Events in Chronic Hepatitis C Patients Treated With New Direct-Acting Antivirals: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Cutan Med Surg*. 2016 Jan 10;20(1):58–66.
50. Sayiner M, Golabi P, Farhat F, Younossi ZM. Dermatologic Manifestations of Chronic Hepatitis C Infection. *Clin Liver Dis*. 2017 Aug;21(3):555–64.
51. MS. Protocolo n.º 34 de 28 de setembro de 2007 [Internet]. Brasília; 2007.
52. Lee M-H, Yang H-I, Lu S-N, Jen C-L, You S-L, Wang L-Y, et al. Chronic hepatitis C virus infection increases mortality from hepatic and extrahepatic diseases: a

- community-based long-term prospective study. *J Infect Dis.* 2012 Aug 15;206(4):469–77.
53. Bian D-D, Zhou H-Y, Liu S, Liu M, Duan C, Zhang J-Y, et al. Current treatment status and barriers for patients with chronic HCV infection in mainland China: A national multicenter cross-sectional survey in 56 hospitals. *Medicine (Baltimore).* 2017 Aug;96(34):e7885.
 54. Carter W, Connelly S, Struble K. Reinventing HCV Treatment: Past and Future Perspectives. *J Clin Pharmacol.* 2017 Mar;57(3):287–96.
 55. MS. Manual de Orientações para Promoção da Doação Voluntária de Sangue [Internet]. Brasília; 2015.
 56. WHO. Global Hepatitis Report, 2017. Executive Summary WHO/HIV/2017.06 [Internet]. Geneva, Switzerland; 2017.
 57. Kristiansen MG, Løchen M-L, Gutteberg TJ, Mortensen L, Eriksen BO, Florholmen J. Total and cause-specific mortality rates in a prospective study of community-acquired hepatitis C virus infection in northern Norway. *J Viral Hepat.* 2011 Apr;18(4):237–44.
 58. WHA. Viral Hepatitis: Global Policy [Internet]. 2010.
 59. Kretzer IF, do Livramento A, da Cunha J, Gonçalves S, Tosin I, Spada C, et al. Hepatitis C worldwide and in Brazil: silent epidemic--data on disease including incidence, transmission, prevention, and treatment. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:827849.
 60. Bruggmann P, Berg T, Øvrehus ALH, Moreno C, Brandão Mello CE, Roudot-Thoraval F, et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. *J Viral Hepat.* 2014 May;21 Suppl 1:5–33.
 61. Benzaken AS, Girade R, Catapan E, Pereira GFM, Almeida EC de, Vivaldini S, et al. Hepatitis C disease burden and strategies for elimination by 2030 in Brazil. A mathematical modeling approach. *Brazilian J Infect Dis.* 2019 May 27;
 62. Pereira LM, Martelli CM, Moreira RC, Merchan-Hamman E, Stein AT, Cardoso RMA, et al. Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis.* 2013 Dec 1;13(1):60.
 63. MS. Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde – Brasil [Internet]. Brasília; 2019.
 64. Farshadpour F, Taherkhani R, Tajbakhsh S, Gholizadeh Tangestani M, Hajiani G, Sharifi N, et al. Prevalence and Trends of Transfusion-Transmissible Viral Infections among Blood Donors in South of Iran: An Eleven-Year Retrospective Study. Paul R, editor. *PLoS One.* 2016 Jun 16;11(6):e0157615.

65. Levi JE, Lira SM, Bub CB, Polite MB, Terzian CC, Kutner JM. Contrasting HCV and HIV seroepidemiology in 11 years of blood donors screening in Brazil. *Transfus Med*. 2017 Aug;27(4):286–91.
66. CAMINADA S. Hepatites Virais B e C e Rede de Cuidados no Estado de São Paulo [Internet]. São Paulo; 2016.
67. Mendes-Oliveira F, Bolina-Santos E, Salomon T, Miranda C, Cioffi J, Sabino E, et al. Hepatitis C: Prevalence of serologic markers and risk factors in blood donors at a large blood centre in South-eastern Brazil (2007-2010). *Transfus Apher Sci*. 2015 Oct;53(2):238–41.
68. Brandão ABM, Fuchs SC. Risk factors for hepatitis C virus infection among blood donors in southern Brazil: a case-control study. *BMC Gastroenterol*. 2002 Aug 8;2:18.
69. Torres KL, Malheiro A, Tateno A, de-Lima TA, Viana-Maia LP, Diniz-Pimentel JP, et al. Hepatitis C virus in blood donors, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2009 Apr;15(4):676–8.
70. Innes H, McDonald S, Hayes P, Dillon JF, Allen S, Goldberg D, et al. Mortality in hepatitis C patients who achieve a sustained viral response compared to the general population. *J Hepatol*. 2017 Jan;66(1):19–27.
71. Amin J, Law MG, Bartlett M, Kaldor JM, Dore GJ. Causes of death after diagnosis of hepatitis B or hepatitis C infection: a large community-based linkage study. *Lancet*. 2006 Sep 9;368(9539):938–45.
72. Duberg A-S, Törner A, Daviðsdóttir L, Aleman S, Blaxhult A, Svensson Å, et al. Cause of death in individuals with chronic HBV and/or HCV infection, a nationwide community-based register study. *J Viral Hepat*. 2008 Jul;15(7):538–50.
73. Neal KR, Trent Hepatitis C Study Group, Ramsay S, Thomson BJ, Irving WL. Excess mortality rates in a cohort of patients infected with the hepatitis C virus: a prospective study. *Gut*. 2007 Aug;56(8):1098–184.
74. Ford MM, Desai PS, Maduro G, Laraque F. Neighborhood Inequalities in Hepatitis C Mortality: Spatial and Temporal Patterns and Associated Factors. *J Urban Health*. 2017 Oct;94(5):746–55.
75. Sangiovanni A, Prati GM, Fasani P, Ronchi G, Romeo R, Manini M, et al. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: A 17-year cohort study of 214 patients. *Hepatology*. 2006 Jun;43(6):1303–10.
76. Stroffolini T, Sagnelli E, Almasio PL, Andriulli A, Smedile A, Pirisi M, et al. Etiological factors of chronic hepatitis in Italy: a 2014 national survey. *Eur J*

- Gastroenterol Hepatol. 2017 Sep;29(9):994–7.
77. WHO. Global Hepatitis Report, 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. [Internet]. Geneva, Switzerland; 2017.
 78. MS; CONITEC. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções [Internet]. 2018.
 79. Vigani AG, Tozzo R, Quezada A, Diaz AC, Mendes L, Lopes I, et al. Chronic hepatitis C virus infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2014 Mar;26(3):313–8.
 80. Hallager S, Brehm Christensen P, Ladelund S, Rye Clausen M, Lund Laursen A, Møller A, et al. Mortality Rates in Patients With Chronic Hepatitis C and Cirrhosis Compared With the General Population: A Danish Cohort Study. *J Infect Dis*. 2017 Jan 15;215(2):192–201.
 81. Guiltinan AM, Kaidarova Z, Custer B, Orland J, Strollo A, Cyrus S, et al. Increased all-cause, liver, and cardiac mortality among hepatitis C virus-seropositive blood donors. *Am J Epidemiol*. 2008 Mar 15;167(6):743–50.
 82. Wise M, Bialek S, Finelli L, Bell BP, Sorvillo F. Changing trends in hepatitis C-related mortality in the United States, 1995-2004. *Hepatology*. 2008 Apr 19;47(4):1128–35.
 83. Toledo AC, Greco DB, Felga M, Barreira D, Gadelha M de FS, Speranza FAB. Seroprevalence of hepatitis B and C in Brazilian army conscripts in 2002: a cross-sectional study. *Braz J Infect Dis*. 2005 Oct;9(5):374–83.
 84. Capuani L, Bierrenbach AL, Abreu F, Takecian PL, Ferreira JE, Sabino EC. Accuracy of a probabilistic record-linkage methodology used to track blood donors in the Mortality Information System database. *Cad Saude Publica*. 2014 Aug;30(8):1623–32.
 85. Eder AF, Menitove JE. Blood donations’ past, present, and future: TRANSFUSION’s golden anniversary. *Transfusion*. 2010 Jul 27;50(9):1870–7.
 86. Seeff LB. The history of the “natural history” of hepatitis C (1968-2009). *Liver Int*. 2009 Jan;29 Suppl 1(0 1):89–99.
 87. MS. Portaria n.º 158 de 04 de fevereiro de 2016 [Internet]. Brasília; 2016.
 88. Cottrell EB, Chou R, Wasson N, Rahman B, Guise J-M. Reducing Risk for Mother-to-Infant Transmission of Hepatitis C Virus: A Systematic Review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2013 Jan 15;158(2):109–13.
 89. Lanini S, Easterbrook PJ, Zumla A, Ippolito G. Hepatitis C: global epidemiology and strategies for control. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Oct;22(10):833–8.

90. Chhatwal J, Kanwal F, Roberts MS, Dunn MA. Cost-Effectiveness and Budget Impact of Hepatitis C Virus Treatment With Sofosbuvir and Ledipasvir in the United States. *Ann Intern Med*. 2015 Mar 17;162(6):397.
91. Chaves GC, Castro CGSO de, Oliveira MA. Public procurement of hepatitis C medicines in Brazil from 2005 to 2015. *Cien Saude Colet*. 2017 Aug;22(8):2527–38.
92. Brasil. Lei n.º 6.259 de 30 de outubro de 1975 [Internet]. Brasília; 1975.
93. Felix JD, Zandonade E, Amorim MHC, Castro DS de. Avaliação da completude das variáveis epidemiológicas do Sistema de Informação sobre Mortalidade em mulheres com óbitos por câncer de mama na Região Sudeste: Brasil (1998 a 2007). *Cien Saude Colet*. 2012 Apr;17(4):945–53.
94. Jorge MHP de M, Laurenti R, Gotlieb SLD. Análise da qualidade das estatísticas vitais brasileiras: a experiência de implantação do SIM e do SINASC. *Cien Saude Colet*. 2007 Jun;12(3):643–54.
95. MS; SVS. Portaria n.º 20 de 03 de outubro de 2003 [Internet]. Brasília; 2003.
96. Felix JD, Zandonade E, Amorim MHC, Castro DS de. Avaliação da completude das variáveis epidemiológicas do Sistema de Informação sobre Mortalidade em mulheres com óbitos por câncer de mama na Região Sudeste: Brasil (1998 a 2007). *Cien Saude Colet*. 2012 Apr;17(4):945–53.
97. Macedo CPC de, Barca DAAV, Valcácio F das C, Dantas J de A, Freitas M do LF, Costa I do CC. Análise de dados do sistema de informação de mortalidade (sim) e Comitê De Mortalidade Materna (CMM) no Rio Grande do Norte - doi: 10.5020/18061230.2012.p413. *Rev Bras em Promoção da Saúde*. 2013 Jul 2;25(4):413–9.
98. MS, SVS, DASS. Manual de Instruções para o Preenchimento da Declaração de Óbito [Internet]. Brasília; 2011.
99. MS, SVS, DVE. DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS: GUIA DE BOLSO. 3ª Ed. Vol. II [Internet]. Brasília; 2004.
100. MS. Mortalidade (SIM) e Nascidos Vivos (Sinasc) para os profissionais do Programa Saúde da Família SISTEMAS DE INFORMAÇÕES SISTEMAS DE INFORMAÇÕES [Internet]. Brasília; 2004.
101. Frias PG de, Pereira PMH, Andrade CLT de, Szwarcwald CL. Sistema de Informações sobre Mortalidade: estudo de caso em municípios com precariedade dos dados. *Cad Saude Publica*. 2008 Oct;24(10):2257–66.
102. Haraki CAC, Gotlieb SLD, Laurenti R. Confiabilidade do Sistema de Informações sobre Mortalidade em município do sul do Estado de São Paulo. *Rev Bras*

- Epidemiol. 2005 Mar;8(1):19–24.
103. FPS. Manual de Transusão [Internet]. São Paulo; 2018.
 104. ANVISA M. Legislação em Vigilância Sanitária _Resolução - RDC n.º 153 de 4 de junho de 2004 [Internet]. Brasília; 2004.
 105. Domingues CMAS, Teixeira AM da S, Carvalho SMD. National immunization program: vaccination, compliance and pharmacovigilance. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2012 Oct;54(suppl 18):22–7.
 106. Charan J, Biswas T. How to calculate sample size for different study designs in medical research? *Indian J Psychol Med*. 2013 Apr;35(2):121.
 107. Cai J, Zeng D. Sample Size/Power Calculation for Case-Cohort Studies. *Biometrics*. 2004 Dec;60(4):1015–24.
 108. Rosner B. Fundamentals of Biostatics. 7th ed. Rosner B, editor. Boston, MA; 2011. 888 p.
 109. França E, de Abreu DX, Rao C, Lopez AD. Evaluation of cause-of-death statistics for Brazil, 2002-2004. *Int J Epidemiol*. 2008 Aug;37(4):891–901.
 110. Cunha CC da, Teixeira R, França E, Cunha CC da, Teixeira R, França E. Avaliação da investigação de óbitos por causas mal definidas no Brasil em 2010. *Epidemiol e Serviços Saúde*. 2017 Jan;26(01):19–30.
 111. Schnell R, Bachteler T, Reiher J. Privacy-preserving record linkage using Bloom filters. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2009 Aug 25;9:41.
 112. Camargo Jr. KR de, Coeli CM. Reclink: aplicativo para o relacionamento de bases de dados, implementando o método probabilistic record linkage. *Cad Saude Publica*. 2000 Jun;16(2):439–47.
 113. WHO, editor. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision [Internet]. 2010th ed. WHO; 2011. 201 p.
 114. WHO. Guidelines for the Screening, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis C Infection [Internet]. 2016.
 115. StataCorp. Stata Statistical Software: Release 13 [Internet]. College Station, TX: StataCorp LP; 2013.
 116. Yu A, Spinelli JJ, Cook DA, Buxton JA, Krajden M. Mortality among British Columbians testing for hepatitis C antibody. *BMC Public Health*. 2013 Apr 2;13(1):291.
 117. Grebely J, Raffa JD, Lai C, Kerr T, Fischer B, Krajden M, et al. Impact of hepatitis C virus infection on all-cause and liver-related mortality in a large community-based cohort of inner city residents. *J Viral Hepat*. 2011 Jan;18(1):32–41.

118. ANVISA. 4º Boletim de PRODUÇÃO HEMOTERÁPICA: Hemoprod 2014 e 2015. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, Brasil; 2017.
119. da Silva NMO, Germano FN, Mendoza-Sassi RA, Seuánez HN, Soares MA, de Martinez AMB. Evidence of association between hepatitis C virus genotype 2b and nosocomial transmissions in hemodialysis centers from southern Brazil. *Virol J*. 2013 May 29;10(1):167.
120. Hung C-I, Liu C-Y, Yang C-H. Unintentional Injuries among Psychiatric Outpatients with Major Depressive Disorder. Xia Y, editor. *PLoS One*. 2016 Dec 16;11(12):e0168202.
121. McAninch J, Greene C, Sorkin JD, Lavoie M-C, Smith GS. Higher psychological distress is associated with unintentional injuries in US adults. *Inj Prev*. 2014 Aug;20(4):258–65.
122. Marrie TJ, Tyrrell GJ, Majumdar SR, Eurich DT. Concurrent Infection with Hepatitis C Virus and *Streptococcus pneumoniae*. *Emerg Infect Dis*. 2017 Jul;23(7):1118–23.
123. de Oliveira Uehara SN, Emori CT, Perez RM, Mendes-Correa MCJ, de Souza Paiva Ferreira A, de Castro Amaral Feldner AC, et al. High incidence of tuberculosis in patients treated for hepatitis C chronic infection. *Brazilian J Infect Dis*. 2016 Mar;20(2):205–9.
124. Wu P-H, Lin Y-T, Hsieh K-P, Chuang H-Y, Sheu C-C. Hepatitis C Virus Infection Is Associated With an Increased Risk of Active Tuberculosis Disease: A Nationwide Population-Based Study. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Aug;94(33):e1328.
125. Chebrolu P, Colombo RE, Ryan Gallaher T, Atwater S, Kintziger KW, Baer S, et al. Bacteremia in Hemodialysis Patients With Hepatitis C. *Am J Med Sci*. 2015 Mar;349(3):217–21.
126. Jackson ML, Neuzil KM, Thompson WW, Shay DK, Yu O, Hanson CA, et al. The burden of community-acquired pneumonia in seniors: results of a population-based study. *Clin Infect Dis*. 2004 Dec 1;39(11):1642–50.
127. Arvaniti V, D'Amico G, Fede G, Manousou P, Tsochatzis E, Pleguezuelo M, et al. Infections in patients with cirrhosis increase mortality four-fold and should be used in determining prognosis. *Gastroenterology*. 2010 Oct;139(4):1246–56, 1256.e1-5.
128. Jalan R, Fernandez J, Wiest R, Schnabl B, Moreau R, Angeli P, et al. Bacterial infections in cirrhosis: a position statement based on the EASL Special Conference 2013. *J Hepatol*. 2014 Jun;60(6):1310–24.

129. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigil. Brasília; 2018.
130. Guiltinan AM, Kaidarova Z, Custer B, Orland J, Strollo A, Cyrus S, et al. Increased all-cause, liver, and cardiac mortality among hepatitis C virus-seropositive blood donors. *Am J Epidemiol.* 2008 Mar 15;167(6):743–50.
131. de Coninck Z, Hussain-Alkhateeb L, Bratt G, Ekström AM, Gisslén M, Petzold M, et al. Non-AIDS Mortality Is Higher Among Successfully Treated People Living with HIV Compared with Matched HIV-Negative Control Persons: A 15-Year Follow-Up Cohort Study in Sweden. *AIDS Patient Care STDS.* 2018 Aug;32(8):297–305.
132. CDC. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm reports Morb Mortal Wkly report Recomm reports.* 1998 Oct 16;47(RR-19):1–39.
133. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L, Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm reports Morb Mortal Wkly report Recomm reports.* 2003 Feb 7;52(RR-3):1–13, 15; quiz CE1-4.
134. van der Meer AJ, Feld JJ, Hofer H, Almasio PL, Calvaruso V, Fernández-Rodríguez CM, et al. Risk of cirrhosis-related complications in patients with advanced fibrosis following hepatitis C virus eradication. *J Hepatol.* 2017 Mar;66(3):485–93.

ANEXOS

ANEXO A – Tabela: Mortalidade conforme a causa de óbito, segundo status sorológico para HCV, São Paulo - SP, 2000-2016.

Definições de caso	Número de mortes		Taxas de Mortalidade		HR [#] bruto (IC95%)	HR ajustado [#] (IC95%)
	Soro+ ⁺	Soro- ⁺⁺	100,000 PA ⁺⁺⁺ (IC95%)			
	N=1.175	N=2.528	Soro+ 16.002,60 PA	Soro- 34.882,40 PA	Valor-p	Valor-p
Mortes por todas as causas	74	64	462,43 (368,21-580,75)	183,47 (143,61-234,41)	2,51 (1,79-3,50) <0.001	2,15 (1,53-3,02) <0.001
Mortes por causas associadas ou diretamente relacionadas ao HCV	28	3	174,97 (120,81-253,41)	8,60 (2,80-26,70)	20,37 (6,19-67,01) <0.001	16,28 (4,93-53,79) <0.001

*Soro+: Soropositivo para HCV e HIV

***PA: Pessoas-ano

**Soro-: Soronegativo para todas as infecções testadas

[#]HR: Hazard Ratio

[&]HR ajustado por sexo, idade, tipo de doação e tipo de doador

ANEXO B – Tabela CID-10

Câncer – excluindo fígado	
C069	Neoplasia maligna da boca, não especificada
C159	Neoplasia maligna do esôfago, não especificado
C169	Neoplasia maligna do estômago, não especificado
C187	Neoplasia maligna do cólon sigmoide
C189	Neoplasia maligna do cólon, não especificado
C19	Neoplasia maligna da junção retossigmoide
C20	Neoplasia maligna do reto
C250	Neoplasia maligna da cabeça do pâncreas
C257	Neoplasia maligna de outras partes do pâncreas
C259	Neoplasia maligna do pâncreas, não especificado
C260	Neoplasia maligna do trato intestinal, parte não especificada
C329	Neoplasia maligna da laringe, não especificada
C342	Neoplasia maligna do lobo médio, brônquio ou pulmão
C349	Neoplasia maligna dos brônquios ou pulmões, não especificado
C37	Neoplasia maligna do timo
C419	Neoplasia maligna dos ossos e cartilagens articulares, não especificados
C439	Melanoma maligno de pele, não especificado
C445	Neoplasia maligna da pele do tronco
C509	Neoplasia maligna da mama, não especificada
C539	Neoplasia maligna do colo do útero, não especificado
C541	Neoplasia maligna do endométrio
C55	Neoplasia maligna do útero, porção não especificada
C61	Neoplasia maligna da próstata
C679	Neoplasia maligna da bexiga, sem outras especificações
C710	Neoplasia maligna do cérebro, exceto lobos e ventrículos
C719	Neoplasia maligna do encéfalo, não especificado
C728	Neoplasia maligna do encéfalo e de outras partes do sistema nervoso central com lesão invasiva
C729	Neoplasia maligna do sistema nervoso central, não especificado
C780	Neoplasia maligna secundária dos pulmões
C790	Neoplasia maligna secundária do rim e da pelve renal
C80	Neoplasia maligna, sem especificação de localização
C839	Linfoma não-Hodgkin difuso, não especificado
C859	Linfoma não-Hodgkin de tipo não especificado
C900	Mieloma múltiplo
C910	Leucemia linfoblástica aguda
C969	Neoplasia maligna dos tecidos linfático, hematopoiético e tecidos correlatos, não especificada
D069	Carcinoma in situ do colo do útero, não especificado

Cardiovascular

I10	Hipertensão essencial (primária)
I119	Doença cardíaca hipertensiva sem insuficiência cardíaca (congestiva)
I219	Infarto agudo do miocárdio não especificado
I248	Outras formas de doença isquêmica aguda do coração
I251	Doença aterosclerótica do coração
I253	Aneurisma cardíaco
I259	Doença isquêmica crônica do coração não especificada
I421	Cardiomiopatia obstrutiva hipertrófica
I509	Insuficiência cardíaca não especificada
I519	Doença não especificada do coração
I710	Aneurisma dissecante da aorta [qualquer porção]
I711	Aneurisma da aorta torácica, roto
I713	Aneurisma da aorta abdominal, roto
I714	Aneurisma da aorta abdominal, sem menção de ruptura
I99	Outros transtornos do aparelho circulatório e os não especificados
Q213	Tetralogia de Fallot

Drogas/álcool

F101	Transtornos mentais e comportamentais devidos ao uso de álcool - uso nocivo para a saúde
F102	Transtornos mentais e comportamentais devidos ao uso de álcool - síndrome de dependência

HCV

B171	Hepatite aguda C
B182	Hepatite viral crônica C

Infecção

A09	Diarreia e gastroenterite de origem infecciosa presumível
A162	Tuberculose pulmonar, sem menção de confirmação bacteriológica ou histológica
A169	Tuberculose respiratória, não especificada, sem menção de confirmação bacteriológica ou histológica
A419	Septicemia não especificada
B207	Doença pelo HIV resultando em infecções múltiplas
G009	Meningite bacteriana não especificada
I330	Endocardite infecciosa aguda e subaguda
I38	Endocardite de valva não especificada
J180	Broncopneumonia não especificada
J181	Pneumonia lobar não especificada
J189	Pneumonia não especificada
J440	Doença pulmonar obstrutiva crônica com infecção respiratória aguda do trato respiratório inferior
K650	Peritonite aguda
K658	Outras peritonites
L031	Celulite de outras partes do(s) membro(s)
N390	Infecção do trato urinário de localização não especificada

Câncer de fígado	
C220	Carcinoma de células hepáticas
C229	Neoplasia maligna do fígado, não especificada
Doenças hepáticas	
K703	Cirrose hepática alcoólica
K704	Insuficiência hepática alcoólica
K709	Doença alcoólica do fígado, sem outra especificação
K729	Insuficiência hepática, sem outras especificações
K739	Hepatite crônica, sem outra especificação
K746	Outras formas de cirrose hepática e as não especificadas
K760	Degeneração gordurosa do fígado não classificada em outra parte
K769	Doença hepática, sem outra especificação
Outras hepatites virais	
B162	Hepatite aguda B sem agente Delta, com coma hepático
B180	Hepatite viral crônica B com agente Delta
B181	Hepatite crônica viral B sem agente Delta
Outras	
D684	Deficiência adquirida de fator de coagulação
E668	Outra obesidade
E669	Obesidade não especificada
F329	Episódio depressivo não especificado
K254	Úlcera gástrica - crônica ou não especificada com hemorragia
K259	Úlcera gástrica - não especificada como aguda ou crônica, sem hemorragia ou perfuração
K290	Gastrite hemorrágica aguda
K461	Hérnia abdominal não especificada com gangrena
K509	Doença de Crohn de localização não especificada
K550	Transtornos vasculares agudos do intestino
K559	Transtorno vascular do intestino, sem outra especificação
K560	Íleo paralítico
K574	Doença diverticular concomitante dos intestinos delgado e grosso com perfuração e abscesso
K578	Doença diverticular do intestino, de localização não especificada, com perfuração e abscesso
K85	Pancreatite aguda idiopática
K859	Pancreatite aguda, não especificada
K920	Hematêmese
R98	Morte sem assistência
R99	Outras causas mal definidas e as não especificadas de mortalidade
Y340	Fatos ou eventos não especificados e intenção não determinada - residência
Y344	Fatos ou eventos não especificados e intenção não determinada - rua e estrada
Y349	Fatos ou eventos não especificados e intenção não determinada - local não especificado

Doenças Renais

I120	Doença renal hipertensiva com insuficiência renal
N12	Síndrome nefrítica rapidamente progressiva - glomerulonefrite membranosa difusa
N179	Insuficiência renal aguda não especificada
N189	Insuficiência renal crônica não especificada
N201	Calculose do ureter

Diabetes Mellitus

E140	Diabetes mellitus não especificado - com coma
E141	Diabetes mellitus não especificado - com cetoacidose
E149	Diabetes mellitus não especificado - sem complicações

Pulmonares

I269	Hemorragia intracraniana (não-traumática) não especificada
J449	Doença pulmonar obstrutiva crônica não especificada
J459	Asma não especificada
J690	Pneumonite devida a alimento ou vômito
J81	Edema pulmonar, não especificado de outra forma
J841	Outras doenças pulmonares intersticiais com fibrose
J90	Derrame pleural não classificado em outra parte
J961	Insuficiência respiratória crônica
W849	Riscos não especificados à respiração - local não especificado

Doenças neurológicas

G931	Lesão encefálica anóxica, não classificada em outra parte
G122	Doença do neurônio motor
G309	Doença de Alzheimer não especificada
I609	Hemorragia subaracnóidea não especificada
I619	Hemorragia intracerebral não especificada
I639	Infarto cerebral não especificado
I64	Acidente vascular cerebral, não especificado como hemorrágico ou isquêmico
I694	Sequelas de acidente vascular cerebral não especificado como hemorrágico ou isquêmico

Trauma	
V021	Pedestre traumatizado em colisão com um veículo a motor de duas ou três rodas - acidente de trânsito
V050	Pedestre traumatizado em colisão com trem [comboio] ou um veículo ferroviário - acidente não-de-trânsito
V093	Pedestre traumatizado em um acidente de trânsito não especificado
V193	Ciclista [qualquer] traumatizado em um acidente não especificado e não-de-trânsito
V284	Motociclista traumatizado em um acidente de transporte sem colisão - condutor traumatizado em um acidente de trânsito
V299	Motociclista [qualquer] traumatizado em um acidente de trânsito não especificado
V499	Ocupante [qualquer] de um automóvel [carro], traumatizado em um acidente de trânsito não especificado
V685	Ocupante de um veículo de transporte pesado traumatizado em um acidente de transporte sem colisão - condutor [motorista] traumatizado em um acidente de trânsito
V892	Pessoa traumatizada em um acidente de trânsito com um veículo a motor não especificado
W070	Queda de uma cadeira - residência
W109	Queda em ou de escadas ou degraus - local não especificado
W139	Queda de ou para fora de edifícios ou outras estruturas - local não especificado
W190	Queda sem especificação - residência
W199	Queda sem especificação - local não especificado
W209	Impacto causado por objeto lançado, projetado ou em queda - local não especificado
W349	Projéteis de outras armas de fogo e das não especificadas - local não especificado
W698	Afogamento e submersão em águas naturais - outros locais especificados
W748	Afogamento e submersão não especificados - outros locais especificados
W749	Afogamento e submersão não especificados - local não especificado
W879	Exposição a corrente elétrica não especificada - local não especificado
X950	Agressão por meio de disparo de outra arma de fogo ou de arma não especificada - residência
X954	Agressão por meio de disparo de outra arma de fogo ou de arma não especificada - rua e estrada
X958	Agressão por meio de disparo de outra arma de fogo ou de arma não especificada - outros locais especificados
X959	Agressão por meio de disparo de outra arma de fogo ou de arma não especificada - local não especificado
X990	Agressão por meio de objeto cortante ou penetrante - residência
X999	Agressão por meio de objeto cortante ou penetrante - local não especificado
Y009	Agressão por meio de um objeto contundente - local não especificado
Y094	Agressão por meios não especificados - rua e estrada
Y099	Agressão por meios não especificados - local não especificado

continua...

Trauma

Y200	Enforcamento, estrangulamento e sufocação, intenção não determinada – residência
Y240	Disparo de outra arma de fogo e de arma de fogo não especificada, intenção não determinada - residência
Y289	Contato com objeto cortante ou penetrante, intenção não determinada - local não especificado
Y299	Contato com objeto contundente, intenção não determinada - local não especificado
Y350	Intervenção legal envolvendo o uso de armas de fogo

Suicídio

X699	Autointoxicação intencional por solventes orgânicos, hidrocarbonetos halogenados e seus vapores - local não especificado
X700	Lesão autoprovocada intencionalmente por enforcamento, estrangulamento e sufocação - residência
X709	Lesão autoprovocada intencionalmente por enforcamento, estrangulamento e sufocação - local não especificado
X720	Lesão autoprovocada intencionalmente por disparo de arma de fogo de mão - residência
X748	Lesão autoprovocada intencionalmente por disparo de outra arma de fogo e de arma de fogo não especificada - outros locais especificados

ANEXO C – Artigo

**Impact on mortality of being seropositive for hepatitis
C virus antibodies among blood donors in Brazil: a
twenty year study**

**Short Title: Impact on mortality of being seropositive for hepatitis C virus
antibodies among blood donors**

Hélio Ranes de Menezes Filho^{1,5}, Maria Ligia Damato Capuani¹, Ana Luiza de Souza
Bierrenbach², Alfredo Mendrone Jr.³, Adele Schwartz Benzaken⁴, Soraia Mafra
Machado¹, Marielena Vogel Saivish⁵, Ester Cerdeira Sabino¹, Steven Sol Witkin^{6,7}, Maria
Cássia Jacintho Mendes Corrêa ^{1,7}

1-Department of Infectious Diseases, University of São Paulo, School of Medicine, Brazil

2-Instituto de Ensino e Pesquisa, Hospital Sírio-Libanês. São Paulo, SP, Brazil

3-Fundação Pró-Sangue. Hemocentro de São Paulo. São Paulo, SP, Brazil

4-Tropical Medicine Foundation Heitor Vieira Dourado. Manaus, Amazon, Brazil

5- Department of Health Sciences, Federal University of Jataí. Jataí, GO, Brazil

6- Department of Obstetrics and Gynecology, Weill Cornell Medicine. New York, New
York, USA

7- Institute of Tropical Medicine, University of São Paulo, LIM-52. São Paulo, SP, Brazil

Abstract

Introduction

Hepatitis C virus (HCV) infection is a major health problem associated with considerable risk of mortality in different regions of the world. The purpose of this study was to investigate the contribution of HCV infection on all-cause and liver-related mortality, in a large cohort of blood donors in Brazil.

Methods

This is a retrospective cohort study of blood donors from 1994 to 2013, at *Fundação Pró-Sangue - Hemocentro de São Paulo (FPS)*. This cohort included 2,892 and 5,784 HCV antibody seropositive and seronegative donors, respectively. Records from the FPS database and the Mortality Information System (SIM: a national database in Brazil) were linked through a probabilistic record linkage (RL). Mortality outcomes were defined based on ICD-10 (10th International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems) codes listed as the cause of death on the death certificate. Hazard ratios (HRs) were estimated for outcomes using Cox multiple regression models.

Results

When all causes of death were considered, RL identified 209 deaths among seropositive blood donors and 190 among seronegative blood donors. Donors seropositive for HCV infection had a 2.5 times higher risk of death due to all causes (95% CI: 1.76–2.62; $p < 0.001$). When only liver-related causes of death were considered, RL identified 73 deaths among seropositive blood donors and only 6 among seronegative blood donors. Donors seropositive for HCV infection had a 23.4 times higher risk of death due to liver related causes (95% CI: 10.2–53.9; $p < 0.001$). Donors seropositive for HCV had a 29.5 (95%CI: 3.9–221.7), 2.8(95% CI: 1.4–5.5) and a 1.9(95% CI: 1.2–3.0) times higher risk of death due to hepatocellular carcinoma, infection or trauma, respectively compared to seronegative donors.

Conclusions

All-cause and liver-related mortality rate was increased among blood donors seropositive for HCV compared with the mortality rate among seronegative blood donors. Our data confirms HCV as a relevant cause of death in Brazil and also suggest that interventions directed at following patients even after access to specific drug treatment are urgent and necessary.

Key Words: hepatitis C virus; mortality; blood donors; liver disease; hepatocellular carcinoma

Introduction

Hepatitis C virus (HCV) infection is a major health problem associated with considerable risk of mortality in Europe, United States, Canada and Australia [1-7]. In all these areas, mortality rates are higher among individuals positive for HCV antibodies than for the general population [1-7]. This infection affects about 70 million people worldwide, accounting for about 400,000 deaths per year [8].

HCV is a hepatotropic virus that causes a slowly progressive liver disease leading to the development of cirrhosis in approximately 10–20% of infected individuals over a 20–30 year period [9]. It is the leading cause of end-stage liver disease, hepatocellular carcinoma (HCC) and liver-related death in many parts of the world [9]. In addition to manifestations associated with the evolution of liver disease, HCV infection is associated with numerous extrahepatic complications, which may also impact survival. It is estimated that 40–74% of patients with HCC may develop at least one extrahepatic manifestation during the course of the disease [10].

In Brazil, it is estimated that about 700,000 people have a chronic HCV infection. In recent years, the Minister of Health has made enormous efforts and

investments to implement a strategy aimed at eliminating HCV infection in this country [12, 13]. An evaluation of the mortality rates associated with HCV infection in Brazil as well as a delineation of the causes of death in this population may improve the focus of intervention strategies to decrease disease pathogenesis. The purpose of this study was to investigate the contribution of HCV infection to all causes of mortality as well as identifying factors associated with all-cause and liver-related mortality in a large cohort of blood donors in Brazil.

Methods

Study Design

This retrospective cohort study compares mortality rates and causes of death among blood donors who were seropositive or seronegative for HCV over a maximum period of 22 years. Study subjects donated blood between 1994 and 2013 at *Fundação Pró-Sangue - Hemocentro de São Paulo (FPS)*, one of the largest blood banks in Brazil and located in the capital city of São Paulo State [14]. Records from the FPS database and the Mortality Information System (SIM; a national database in Brazil) were linked to ascertain whether donors had died in the period between 2000 and 2016.

Data Sources

The study used the two aforementioned individual-based databases, FPS and SIM. The FPS database contained personal information on all donors, including name, mother's name, date of birth and address. In the SIM database, personal information was made available by the Brazilian Ministry of Health only for records that had been matched to FPS records during the first round of the record-linkage procedures, as described below.

Apart from nominal information variables, the FPS database contained the following variables: serological test results, sex, age, date of donation, whether this was a first-time donor, and whether the donor was voluntary or a replacement donor. Voluntary donors were those who donated as a social service, while replacement donors were those who came to the blood bank to replace blood used by family members or friends.

The SIM database contained the following variables: sex, age, date of death, and International Classification of Diseases, 10th Edition (ICD-10) codes for the underlying and associated causes of death. SIM data are collected on a national scale and represent almost all deaths in Brazil. The quality of the data collected has been steadily improving over the last two decades [15, 16].

Study Population and Exposure Definitions

The population included in our study cohort consisted of all donors who tested seropositive for HCV between 1994 and 2013, plus a random sample of donors who were seronegative for all screening tests performed at the FPS at a ratio of approximately 2:1 and matched by year of blood donation. During the study period, the FPS routinely performed the following serology screening tests on all donations before releasing units for transfusion: HCV, hepatitis B virus (HBV: HBsAg and AntiHBc), syphilis, human immunodeficiency virus (HIV), human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV), and Chagas disease [17].

During the study period (1994-2013) FPS screened all donors for HCV infection by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and RIBA HCV 3.0 strip immunoblot assay [18]. HCV-positive donors were defined as those who tested positive for EIA with RIBA HCV 3.0 or Western blot followed by a positive EIA [17, 19-21]. Nucleic acid amplification tests (NAAT) for HCV diagnosis were not required in Brazil until

November 2013. Those HCV-positive donors who were also positive for one or more of the other infections tested were considered to be co-infected. In our primary analyses, we compared mortality outcomes of HCV-seropositive donors to those of donors who were seronegative for all other screening tests. Further details on model specifications are provided below.

Determining Cause of Death

To identify blood donors who had died during the follow-up period, record linkage (RL) was performed to link records from the FPS and SIM databases. Due to the absence of a national identity number, a two-step RL procedure was used. First, an in-house linkage algorithm was developed by staff members from the Brazilian Ministry of Health in which the probability that the two records would belong to the same patient was based on the person's name and date of birth. A Bloom filter was constructed for each record following the methods developed by Schnell et al [22]. Because high sensitivity was achieved in this step at the expense of low specificity, a second step was necessary to increase the specificity of the matches found in the first step. The second step was performed by the study researchers using the Reclink III open source software [23]. Patients' name, mother's name, and date of birth were chosen as the matching variables. Three blocking step strategies were used based on combination of the phonetic codes of the variables first name, last name and gender. The first blocking step used gender and the phonetic codes of the first name and last name. The second blocking step used only gender and the phonetic code of the first name, and the third blocking step used only gender and the phonetic code of the last name. The RL procedure used has been validated in a previous publication, in which linkage results were compared from blood donors whose vital status was known [24]. The results of this study indicated a sensitivity of 94% (95%CI, 90–97%) and a specificity of 100% (95%CI, 98%-100%).

Unfortunately, the SIM database contained personal information only beginning in 2000, so the researchers could not perform RL between FPS and SIM for earlier time periods. For the cohort that donated blood in 1994, we were unable to consider the first six years of follow up. For the 1995 cohort, we were unable to consider the first five years of follow up. In other words, regardless of the patients' HCV serology status, we do not know whether those who donated blood in 1994, for example, died in the period between 1994 and 1999. However, based on findings of seropositive and seronegative individuals who donated blood in 1999 and from whom we lacked data only on deaths that may have occurred during the year of their blood donation, we found that deaths were extremely rare in the first year after donation. Because of this finding and in an effort to work around this limitation to the data, we made the analytical assumption that no one in our cohort died between 1994 and 1999. In order to check if this assumption could indeed be made, we also performed a sensitivity analysis in which we repeated the logistic regression models restricting the years included in our cohorts.

Mortality Outcomes

Donors entered the cohort on the date of their donation and were monitored over time until their deaths or, if they survived, until December 31, 2016, which was the last available date of death in the SIM database. Mortality outcomes were defined based on ICD-10 codes listed as the underlying cause or as any of the associated causes of death on the main portion of the death certificate [25]. The primary outcome was Death due to all causes. The secondary outcomes were:

- Death due to HCV: codes B17.1 (Acute hepatitis C) or B18.2 (Chronic viral hepatitis C) listed as the underlying or as one of the associated causes of death.
- Deaths due to HCV or related causes: codes B17.1 (Acute hepatitis C),

B18.2 codes (Chronic viral hepatitis C), B18.8 (Other chronic viral hepatitis), B18.9 (Chronic viral hepatitis, unspecified), B19.0 (Unspecified viral hepatitis with hepatic coma), B19 (Unspecified viral hepatitis), C22.0 (Liver cell carcinoma), C22.9 (Malignant neoplasm of Liver, unspecified), I85.0 (Esophageal varices with bleeding), K72.0 (Acute and subacute hepatic failure), K72.1 (Chronic hepatic failure), K72.9 (Hepatic failure, unspecified), K73.0 (Chronic persistent hepatitis, not elsewhere classified), K73.1 (Chronic lobular hepatitis, not elsewhere classified), K73.2 (Chronic active hepatitis, not elsewhere classified), K73.8 (Other chronic hepatitis, not elsewhere classified), K73.9 (Chronic hepatitis, unspecified), K74.0 (Hepatic fibrosis), K74.1 (Hepatic sclerosis), K74.2 (Hepatic fibrosis with hepatic sclerosis), K74.6 (Other and unspecified cirrhosis of liver), K75.9 (Inflammatory liver disease, unspecified), K76.6 (Portal hypertension), K76.9 (Liver disease, unspecified) listed as the underlying or as one of the associated causes of death.

To be able to compare our results with those of a similar study by Guiltinan et al [1], we also defined the following groups of causes of death based on codes listed exclusively as the underlying cause of death. We used the same grouping strategy as was identified in the prior study, with minor modifications (Supporting Information 1): HCV, Other viral hepatitis, Liver Disease, Liver Cancer, Cancer - excluding liver, Cardiovascular, Pulmonary, Trauma, Suicide, Drug/alcohol, Neurological Diseases, Infection, Other/unknown - Renal diseases, Other/unknown - Diabetes mellitus, Other/unknown – Other.

Statistical Analysis

Categorical variables were compared using the Pearson's Chi-square test or Fisher's exact test. Continuous variables were compared using the Student's *t* test or the Mann–Whitney–Wilcoxon test, as appropriate.

Hazard ratios (HRs) were estimated for outcomes using Cox multiple regression models. The covariates sex, age, status as a first time donor, and type of donor motivation (voluntary or replacement) were tested as potential confounders and effect modifiers in all models. Age was analyzed as a continuous variable, while the others were treated as binary variables. These were the only variables available for analyses in the FPS database. Backward selection procedures were used to determine which of the covariates should remain in the models. Comparing the adjusted and unadjusted HRs for each covariate assessed confounding. Likelihood ratio tests assessed the contribution of each variable and their modification effects on the models. The proportional hazards assumption was tested statistically on the basis of Schoenfeld residuals and by checking the parallelism of the curves in log-log plots. Consistently, results indicated no evidence of violation of the assumption. Kaplan-Meier curves were used to analyze the differences in survival associated with exposure variables and statistical differences tested with the Log-rank test. Given the multiple comparisons, the Bonferroni correction method was used to set the significance level to be used.

As mentioned previously, a sensitivity analysis was performed to compare risks of death by restricting the years included in our cohorts. In other words, we ran two sets of analyses: one considering all blood donors who donated from 1994 to 2013, and the other considering only those from 2000 to 2013. Statistical analyses were conducted using the Stata software, version 13.1 (StataCorp LP, College Station, TX, USA).

Ethical Approval

The study was approved by the Research Ethics Committee of Clinical Hospital of the University of Sao Paulo School of Medicine, or HC-FMUSP (CAAE Registry No.: 62572616.5.0000.0065). The committee deemed it unnecessary to obtain informed consent from each individual for the review of their medical records due to the difficulty of obtaining such consent and the retrospective nature of the two databases. All individual identifiers were removed from the database after the probabilistic RL was performed.

Results

Between 1994 and 2013, 2,892 donors who were seropositive for HVC (HVC+) were identified from the FPS sample. They were matched by year of donation to 5,784 non-exposed donors who were not reactive to any of the other serological tests (Table 1). Of the 8,686 subjects, 5,832 (67.2%) were male and 2,844 (32.8%) were female. There was a predominance of individuals between 17 and 29 years of age (46.8%); the second most common age group was 30 to 39 years (27.4%). A total of 51.6% volunteered to donate as a social service, and the majority (63.6%) were donating for the first time.

There were differences between seropositive and seronegative donors. Seronegative donors were younger, had a higher proportion of males and voluntary and repeated donors (Table 1).

Table 1. Demographic characteristics of the study population organized by HCV serological status.

	Seropositive		Seronegative		p-Value
	N = 2,892		N = 5,794		
	N	(%)	n	(%)	
Sex					< 0.001
Male	1,878	(64.9)	3,954	(68.4)	
Female	1,014	(35.1)	1,830	(31.6)	
Age Range (in years)					<0.0001
17-29	1,181	(40.8)	2,880	(49.8)	
30-39	709	(24.5)	1,670	(28.9)	
40-49	687	(23.8)	894	(15.5)	
>50	310	(10.7)	334	(5.8)	
Unknown	5	(0.2)	4	(0.1)	
Type of Donation					<0.0001
Voluntary	1,399	(48.4)	3,082	(53.3)	
Replacement Donor	1,487	(51.4)	2,686	(46.4)	
Specific	6	(0.2)	16	(0.3)	
Autologous	0	(0.0)	0	(0.0)	
Type of Donor					<0.0001
First-time donor	2,763	(95.5)	2,753	(47.6)	
Repeat donor	129	(4.5)	3,031	(52.4)	

In the analysis of the rates and causes of death, six individuals were excluded due to inconsistent data, four of whom were seropositive and two of whom were seronegative. An additional 236 donors were excluded from the seropositive group due to their reactivity to another microorganism in the serological screening tests. Thus, a

total of 8,424 subjects remained, 2,652 of whom were seropositive and 5,782 of whom were seronegative.

Table 2 shows that, between 1994 and 2016, when all causes of death are considered, there were 399 deaths between the two groups, 209 of which were in HCV+ individuals and 190 were in HCV- individuals. Thus, the crude hazard ratio (HR) was 2.5 (95%CI: 2.06–3.05; $p < 0.001$), and the adjusted HR was 2.5 (95%CI: 1.8–2.6; $p < 0.001$). As for causes of death related to HCV or associated with infection due to the virus, there were 73 deaths in the HCV+ group and 6 deaths in the HCV- group in which the cause of death was directly. Thus, the crude HR was 27.6 (95%CI: 12.0–63.4; $p < 0.001$), and the adjusted HR was 23.4 (95%CI: 10.2–53.9; $p < 0.001$).

Table 2. Deaths organized by cause of death and by HCV serological status.

Cause of Death	Number of Deaths		Crude HR	Adjusted HR
	Seropositive	Seronegative	(95% CI)	(95% CI)
	N = 2,652	N = 5,782	p-Value	p-Value
Deaths due to all causes			2.50	2.15
	209 (7.9%)	190 (3.3%)	(2.06–3.05)	(1.76–2.62)
			<0.001	<0.001
Deaths by causes associated with			27.55	23.41
or directly related to HCV	73 (2.8%)	6 (0.1%)	(11.88–63.35)	(10.15 – 53.94)
			<0.001	<0.001

In the sensitivity analysis performed to compare risks of death restricting the years included in our cohorts to only those from 2000 to 2016, results obtained were quite

similar to those on table 2 (Supporting Information 2).

Figures 1 and 2 show the survival curves based on cause of death. Higher rates of survival were found in the seronegative group for both groups of causes.

Fig. 1 - Survival (in years) by HCV serological status considering all causes of death.

Fig. 2 - Survival (in years) by HCV serological status considering only causes of death related to HCV or associated with infection due to the virus.

Table 3 provides data on the underlying causes of death, organized into categories. In addition to a predominance of deaths associated with most of the causes in the seropositive group, this group also differed significantly in terms of the following causes: hepatic causes (HR=24.1; 95%CI: 10.5–55.4), particularly of liver disease (HR=15.2; 95%CI: 5.3–43.4) and of hepatocellular carcinoma (HR = 29.5, 95%CI: 3.9–221.7); trauma (HR: 1.9; 95%CI: 1.2–3.0); and infection (HR = 2.8, 95%CI: 1.4–5.5).

Table 3. Deaths organized by general cause of death and by HCV serological status.

General Cause of Death	HCV+	HCV-	Hazard Ratio	95% Confidence Interval	p-Value
	N = 2,652	N = 5,782			
All Hepatic Deaths	75 (2.8%)	6 (0.1%)	24.06	(10.45 – 55.39)	<0.001
HCV	24	0	∞	-	-
Other viral hepatitis infection	4	1	7.10	(0.78 – 64.52)	0.082
Liver Disease	30	4	15.22	(5.34 – 43.37)	<0.001
Hepatic Cancer	18	1	29.52	(3.93 – 221.73)	0.001
Non-Hepatic Cancer	28 (1.1%)	48 (0.8%)	1.00	(0.62 – 1.60)	0.992
Cardiovascular-Related Causes	17 (0.6%)	29 (0.5%)	1.03	(0.56 – 1.88)	0.931
Pulmonary Causes	9 (0.3%)	8 (0.1%)	2.32	(0.89 – 6.06)	0.086
Trauma/Suicide	32 (1.2%)	45 (0.8%)	1.66	(1.05 – 2.61)	0.029
Trauma	32	40	1.86	(1.17 – 2.97)	0.009
Suicide	0	5	∞	-	-
Drugs/Alcohol	2 (0.08%)	0	∞	-	-
Neurological Diseases	7 (0.3%)	13 (0.2%)	0.90	(0.36 – 2.28)	0.830
Infection	20 (0.8%)	14 (0.2%)	2.75	(1.38 – 5.47)	0.004
Other/Unknown	19 (0.7%)	27 (0.5%)	1.39	(0.77 – 2.52)	0.277
Kidney Diseases	3	4	1.26	(0.28 – 5.72)	0.761
Diabetes Mellitus	1	5	0.33	(0.38 – 2.87)	0.315
Other	15	18	1.74	(0.87 – 3.47)	0.117
All Deaths	209 (7.9%)	190 (3.3%)	2.15	(1.76 – 2.62)	<0.001

Discussion

Data from this retrospective cohort study show that the mortality rate from liver-related or non-liver related causes was higher over a 22-year period of observation among former blood donors in Brazil who were seropositive for HCV as compared to seronegative blood donors. Hepatocarcinoma was associated with a thirtyfold increase in overall mortality among HCV-positive blood donors. In addition, trauma and infection as primary causes of death were associated with greater than twofold increases in overall mortality in HCV-positive individuals. These results are in accordance with prior studies in different settings and populations, demonstrating that HCV infection increases the risk of death when compared to individuals not infected with this virus [1-7].

Liver -related deaths are the most common cause of death among HCV-infected individuals [1-7]. However, in groups where intravenous drug use is the likely mechanism of HCV transmission, other causes of death may prevail. It has been suggested that mortality associated with HCV can be divided into two phases. In the first phase, death occurs most frequently in young people and is closely associated with a drug-using life style; in the second phase it is mostly related to chronic HCV-induced liver disease [7].

The mechanisms of HCV transmission appear to have changed over the last few years in Brazil. Prior to the initiation of blood screening in Brazil in 1992, blood and blood product transfusion were the predominant route of HCV transmission [26]. Injection drug use was also an important mode of transmission [26, 27]. Since that time, new screening protocols have rendered the blood supply safe [28]. In addition, a significant reduction in the overall frequencies of drug injection and needle-sharing has been observed [29-31]. Nowadays, nosocomial transmission (particularly hemodialysis)

as well as transmission through needle sharing in nonmedical settings seem to account for the majority of new hepatitis C cases reported [32, 33].

An association between hepatitis C virus infection and neuropsychiatric symptoms, mainly depression, has been debated for some years [31]. A recent meta-analysis has indicated that depression is the most prevalent HCV-associated extra-hepatic manifestation (24.5% in HCV-positive vs. 17.2 % in HCV-negative individuals) [31]. Major depressive disorders have been associated with an increased risk of unintentional injuries and different types of trauma [18]. The increase in mortality associated with trauma in HCV-positive individuals observed in our study could be associated to a variable extent with a higher rate of risk behaviors among former illicit intravenous drug users and or people with psychiatric disorders.

In our study, infections were associated with almost a threefold increased risk of death in HCV-positive individuals. An association between HCV infection and an increased risk of bacterial infections has previously been reported [34-38]. Tuberculosis, community-acquired pneumonia or bacterial infections among hemodialysis patients are much more frequent in HCV-infected individuals [34-38]. Co-infection with HIV and illicit intravenous drug use are also more common in HCV-infected patients and can lead to higher mortality rates from sepsis [11].

Bacterial infections among cirrhotic patients are also common, particularly in decompensated patients, and account for significant mortality [39]. Liver dysfunction leads to compromised humoral and cell-mediated immunity, which results in a decreased ability to protect the host from bacterial and other infections [39, 40].

Limitations of our study must be recognized. We were not able to determine the length of HCV infection in HCV-positive blood donors, which individuals were exposed to HCV but remained asymptomatic or those who spontaneously eliminated the virus. In

addition, we did not have data on other health risk behaviours, like tobacco or alcohol use or the presence of other co-morbidities, like diabetes mellitus and obesity, not only at the baseline time-point but also, throughout the study period for both groups. However, such exposures were most likely comparable in both groups analyzed and thus, although additional studies are needed for verification, the effect of this methodological limitation on our findings may have been minimal. We also had no information on the socioeconomic status of subjects in our cohort. Because lower socioeconomic status is associated with higher mortality rates, its omission may have biased to an unknown extent the observed survival differences. An advantage of our study is that we analyzed a cohort of blood donors. Blood donors are generally healthy people, and at least at the time of donation they were not carriers of any blood-borne disease. In addition, the follow-up time of this population was quite long, reaching up to 22 years. These factors support the validity of our analysis of mortality associated with HCV in this population. We propose that the absence of a mortality database for the years 1994 to 1999, rendering us unable to ascertain whether or not donors in our cohort died during this period, may have had only a limited effect on our results. Early deaths after blood donation are not frequent, as observed for those in our cohort who donated from 2000 onwards. Our sensitivity analysis restricting the years included in our cohorts to only those from 2000 to 2016 produced similar results to those of the whole cohort.

It is also important to recognize that the mortality rate associated with HCV infection may remain higher than in the general population, even after this infection may have been successfully treated. Late complications of chronic liver disease, such as hepatocellular carcinoma and hepatic decompensation, as well as suicides and traumas may persist as primary causes of death even in those who achieved a virological cure [41, 42].

The Ministry of Health has invested heavily in resources to address and eliminate HCV infection in Brazil. A large output of financial resources, mainly focused on the cost of direct-acting drugs, has been available in recent years [13]. However, we believe that the data presented in this study, revealing that overall mortality is higher in the HCV-infected population, points to a need for additional comprehensive actions in conjunction with the increased use of medications. In terms of public health, it is necessary to establish a strategy of continuous monitoring of the HCV-infected population even after obtaining virological cure. This may be focused mainly on patients already identified with advanced liver disease, those with significant comorbidities or individuals with a history of neuropsychiatric disorders. Continued medical and patient education about the risks of liver-related morbidity and mortality from HCV infection will also be necessary.

In conclusion, in this retrospective cohort, the mortality rate from all causes was increased among blood donors who were seropositive for HCV compared to seronegative blood donors. Among the causes of death identified in the HCV-positive group complications of advanced liver disease, infections and trauma were quite frequent. These data confirm that consequences of HCV infection are a recognizable cause of death in Brazil and suggest that follow-up interventions after the administration of specific drug treatment are necessary to optimize survival.

References

1. Guiltinan AM, Kaidarova Z, Custer B, Orland J, Strollo A, Cyrus S, et al. Increased all-cause, liver, and cardiac mortality among hepatitis C virus-seropositive blood donors. *Am J Epidemiol.* 2008; 167(6):743-750.

2. Yu A, Spinelli JJ, Cook DA, Buxton JA, Kraiden M. Mortality among British Columbians testing for hepatitis C antibody. *BMC Public Health*. 2013;13:291.
3. Grebely J, Raffa JD, Lai C, Kerr T, Fischer B, Kraiden M, et al. Impact of hepatitis C virus infection on all-cause and liver-related mortality in a large community-based cohort of inner city residents. *J Viral Hepat*. 2011;18(1):32-41.
4. Amin J, Law MG, Bartlett M, Kaldor JM, Dore GJ. Causes of death after diagnosis of hepatitis B or hepatitis C infection: a large community-based linkage study. *Lancet*. 2006;368: 938-945.
5. Duberg AS, Törner A, Davidsdóttir L, Aleman S, Blaxhult A, Svensson A, et al. Cause of death in individuals with chronic HBV and/or HCV infection, a nationwide community-based register study. *J Viral Hepat*. 2008;15(7):538-550.
6. Neal KR. Trent Hepatitis C Study Group, Ramsay S, Thomson BJ, Irving WL. Excess mortality rates in a cohort of patients infected with the hepatitis C virus: a prospective study. *Gut*. 2007; 56(8):1098-1104.
7. Kristiansen MG, Løchen ML, Gutteberg TJ, Mortensen L, Eriksen BO, Florholmen J. Total and cause-specific mortality rates in a prospective study of community-acquired hepatitis C virus infection in northern Norway. *J Viral Hepat*. 2011; 18(4):237-244.
8. World Health Organization. Hepatitis C. Access March 2019. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>.
9. Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol*. 2014;61(1 Suppl):S58-68.
10. Cacoub P, Gragnani L, Comarmond C, Zignego AL. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection. *Dig Liver Dis*. 2014;46 Suppl 5:S165-73

11. Medrano J, Álvaro-Meca A, Boyer A, Jiménez-Sousa MA, Resino S. Mortality of patients infected with HIV in the intensive care unit (2005 through 2010): significant role of chronic hepatitis C and severe sepsis. *CritCare*. 2014;18:475.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico: Hepatites Virais. Brasília: Ministério da Saúde. 2018; 49 (31),72p. ISSN 2358-9450.
13. Chaves GC, Osorio-de-Castro CGS, Oliveira MA. Public procurement of hepatitis C medicines in Brazil from 2005 to 2015. *Ciênc. saúdecoletiva* 2017; 22(8):2527-2538.
14. Fundação Pró-Sangue. Manual de Transfusão [Internet]. São Paulo; 2018 Available from: http://www.prosangue.sp.gov.br/uploads/arquivos/MANUAL_DE_TRANSFUSÃO_2018.pdf
15. Franca E, de Abreu DX, Rao C, Lopez AD. Evaluation of cause-of-death statistics for Brazil, 2002-2004. *International journal of epidemiology*. 2008; 37: 891-901.
16. Cunha CC, Teixeira R, Franca E. Assessment of the investigation of ill-defined causes of death in Brazil in 2010. *Epidemiologia e serviços de saúde: revista do Sistema Unico de Saúde do Brasil* 2017; 26: 19-30.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de Bolso. 3ª Ed. Vol. II [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. Available from: www.saude.gov.br/svs
18. Hung CI, Liu CY, Yang CH. Unintentional Injuries among Psychiatric Outpatients with Major Depressive Disorder. *PLoS One*. 2016; 11 (12): e0168202. doi:10.1371/journal.pone.0168202.
19. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n.º 158 de 04 de fevereiro de 2016 [Internet].

- Brasília: Ministério da Saúde, 2016. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/abril/12/PORTARIA-GM-MS-N158-2016.pdf>
20. Domingues CMAS, Teixeira AM da S, Carvalho SMD. National immunization program: vaccination, compliance and pharmacovigilance. *RevInstMed Trop*. 2012; 54 (suppl 18): 22–27.
 21. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação em Vigilância Sanitária _Resolução - RDC n.º 153 de 4 de junho de 2004 [Internet]. Brasília: ANVISA, 2004 [cited 2019 Feb 3]. Available from: http://www.hemoce.ce.gov.br/images/Artigos/rdc_153_14.06.04_regtecprocedhemoterapicos.pdf.
 22. Schnell R, Bachteler T, Reiher J. Privacy-preserving record linkage using Bloom filters. *BMC Medical Informatics and Decision Making*. 2009; 9: 1-11.
 23. Camargo KR Jr, Coeli CM. Reclink: an application for database linkage implementing the probabilistic record linkage method. *Cadernos de saude publica*. 2000; 16:439-447.
 24. Capuani L, Bierrenbach AL, Abreu F, Takecian PL, Ferreira JE, Sabino EC. Accuracy of a probabilistic record-linkage methodology used to track blood donors in the Mortality Information System database. *Cadernos de saude publica*. 2014; 30: 1623-1632.
 25. World Health Organization. ICD-10 version: 2010. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision. Available from: <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en>, 2010.

26. Toledo AC Jr, Greco DB, Felga M, Barreira D, Gadelha MFS, et al. Seroprevalence of hepatitis B and C in Brazilian army conscripts in 2002: a cross-sectional study. *Braz J Infect Dis.* 2005; 9 (5): 374-383.
27. Kretzer IF, Livramento A, Cunha J, Gonçalves S, Tosin I, Celso Spada, et al. Hepatitis C worldwide and in Brazil: silent epidemic--data on disease including incidence, transmission, prevention, and treatment. *Scientific World Journal.* 2014; ID827849: 10p.
28. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 4º Boletim de Produção Hemoterápica: Hemoprod 2014 e 2015. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, 2017.
29. Oliveira ML, Yoshida CF, Telles PR, Hacker MA, Oliveira SA, Miguel JC, et al. Trends in HCV prevalence, risk factors and distribution of viral genotypes in injecting drug users: findings from two cross-sectional studies. *Epidemiol. Infect.* 2009; 137 (7): 970-979.
30. Guimarães ML, Marques BC, Bertoni N, Teixeira SL, Morgado MG, Bastos FI, Brazilian Multicity Study Group on Drug Misuse. Assessing the HIV-1 Epidemic in Brazilian Drug Users: A Molecular Epidemiology Approach. *PLoS One.* 2015; doi: 10.1371/journal.pone.0141372
31. Younossi Z, Park H, Henry L, Adeyemi A, Stepanova M. Extrahepatic Manifestations of Hepatitis C: A Meta-analysis of Prevalence, Quality of Life, and Economic Burden *Gastroenterology.* 2016; 150 (7): 1599-1608. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.039. Epub 2016 Feb 26. Review
32. Carvalho-Filho RJ, Feldner AC, Silva AE, FerrazML. Management of hepatitis C in patients with chronic kidney disease. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(2):408-422.

33. Da Silva NM, Germano FN, Mendoza-Sassi RA, Seuánez HN, Soares MA, de Martinez AM. Evidence of association between hepatitis C virus genotype 2b and nosocomial transmissions in hemodialysis centers from southern Brazil. *Virol J.* 2013; 10:167.
34. Marrie TJ, Tyrrell GJ, Majumdar SR, Eurich DT. Concurrent Infection with Hepatitis C Virus and *Streptococcus pneumoniae*. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23 (7): 1118-1123.
35. De Oliveira Uehara SN, Emori CT, Perez RM, Mendes-Correa MC, de Souza Paiva Ferreira A, de Castro Amaral Feldner AC et al. High incidence of tuberculosis in patients treated for hepatitis C chronic infection. *Braz J Infect Dis.* 2016; 20 (2): 205-209.
36. Wu PH, Lin YT, Hsieh KP, Chuang HY, Sheu CC. Hepatitis C virus infection is associated with an increased risk of active tuberculosis disease: a nationwide population-based study. *Medicine (Baltimore).* 2015; 94: e1328. doi: 10.1097/MD.0000000000001328.
37. Chebrolu P, Colombo RE, Baer S, Gallaher TR, Atwater S, Kheda M, et al. Bacteremia in hemodialysis patients with hepatitis C. *Am J Med Sci.* 2015; 349: 217–221.
38. Jackson ML, Neuzil KM, Thompson WW, Shay DK, Yu O, Hanson CA, et al. The burden of community-acquired pneumonia in seniors: results of a population-based study. *ClinInfectDis.* 2004; 39: 1642–1650.
39. Arvaniti V, D'Amico G, Fede G, Manousou P, Tsochatzis E, Pleguezuelo M et al. Infections in patients with cirrhosis increase mortality four-fold and should be used in determining prognosis. *Gastroenterology.* 2010; 139 (4): 1246-1256.

40. Jalan R, Fernandez J, Wiest R, Schnabl B, Moreau R, Angeli P et al. Bacterial infections in cirrhosis: a position statement based on the EASL Special Conference 2013. *J Hepatol.* 2014; 60 (6): 1310-1324.
41. Van der Meer AJ, Feld JJ, Hofer H, Almasio PL, Calvaruso V, Fernández-Rodríguez CM, et al. Risk of cirrhosis-related complications in patients with advanced fibrosis following hepatitis C virus eradication. *J Hepatol.* 2017; 66 (3): 485-493.
42. Innes H, McDonald S, Hayes P, Dillon JF, Allen S, Goldberg D, et al. Mortality in hepatitis C patients who achieve a sustained viral response compared to the general population. *J Hepatol.* 2017; 66 (1): 19-27.

Supporting information

S1 Table. ICD-10 codes included in specified disease groups.

S2 Table. Deaths organized by cause of death and by HCV serological status (2000-2016).