TAISA GROTTA RAGAZZO

**Comparação entre a acurácia de métodos
não invasivos de fibrose e a biópsia hepática
em pacientes com hepatite C crônica**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dr. Flair José Carrilho

São Paulo

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Ragazzo, Taisa Grotta

Comparação entre a acurácia de métodos não invasivos de fibrose e a
biópsia hepática em pacientes com hepatite C crônica / Taisa Grotta
Ragazzo. -- São Paulo, 2016.

Tese(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São
Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.

Orientador: Flair José Carrilho.

Descritores: 1.Hepatite C crônica 2.Fibrose hepática 3.Técnicas de
imagem por elasticidade/métodos 4.Biomarcadores/sangue 5.Progressão
da doença 6.Acurácia dos dados

USP/FM/DBD-342/16

Dedicatória

Dedico este trabalho:

Ao meu pai **Clodoaldo** (in memoriam) e
à minha mãe **Maria José**,
meus pilares, a quem devo tudo e serei eternamente grata.

Aos meus irmãos: **Clodoaldo** e **Andréa**,
por toda amizade, cumplicidade e amor.

Aos meus cunhados: **Rodrigo** e **Mônica**,
por tudo que eles acrescentaram ao se tornarem nossa família.

Aos meus sobrinhos:
Pedro, Francisco, Manoela, Gabriel e Isadora
por todo amor e sentido que trouxeram às nossas vidas.

Agradecimentos

À minha família por todo amor, suporte e compreensão. Especialmente à minha mãe, que sempre esteve presente, dedicada, incansável e é meu amor incondicional.

Ao Prof. Dr. Flair José Carrilho por tão gentilmente me acolher, me orientar e me proporcionar a possibilidade de receber tantos ensinamentos. Sua generosidade ao me receber no Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sua capacidade de transmitir os ensinamentos e sua forma de tratar as pessoas são e serão sempre um exemplo para mim.

À Dra Claudia P.M. Oliveira, que sempre me ajudou, orientou e apoiou, demonstrando sua generosidade e amizade.

À Dra Denise C. P. Vezozzo por sua colaboração e generosa parceria.

À Dra. Fabiana R. Lima e ao Prof Dr. Venâncio A. F. Alves que possibilitaram o estudo anatomopatológico deste trabalho.

Ao José Tadeu Stefano por sua contribuição laboratorial e apoio.

Ao Leandro A. Ferreira do laboratório de Epidemiologia e Estatística do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

À equipe do laboratório Fleury que gentilmente participou no processamento das amostras do método ELF.

À Vilma Libério, secretária da Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por toda sua atenção e colaboração.

À Valeria Vilhena e equipe da Biblioteca da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pelos ensinamentos e correções.

À Daniel F. de C. Mazo, Roque G. de Lima, Mario Guimarães Pessoa, Patricia M. Y. Vitelli, Roseane P. Medeiros e todas as demais pessoas da equipe do ambulatório de Hepatologia que me receberam tão bem e me ensinaram tanto.

À equipe do CR/DST-AIDS de Campinas que sempre me apoiou, compreendeu e deu suporte nos momentos de ausência.

À minha cunhada Mônica de T. P. Ragazzo, que me auxiliou em vários momentos.

Ao meu amigo Felipe P. Rogatto que mesmo distante esteve sempre presente.

Epígrafe

“É melhor estar aproximadamente certo
do que precisamente errado”

Enrico Fermi

Normatização adotada

Esta dissertação está de acordo com as normas em vigor no momento desta publicação:

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço 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: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

Sumário

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras e Gráficos

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Hepatite C	2
1.2 Métodos invasivos de avaliação de Fibrose hepática	4
1.2.1 Biópsia Hepática	4
1.3 Métodos não invasivos de avaliação de Fibrose hepática	5
1.3.1 Elastometria transitória hepática	5
1.3.2 ARFI	6
1.3.3 ELF	7
1.3.4 APRI	8
1.3.5 FIB4	9
1.3.6 Correlação entre os métodos	10
2 OBJETIVOS	11
3 MÉTODOS	13
3.1 Ética	14
3.2 Critérios de inclusão	14
3.3 Critérios de exclusão	14
3.4 Seleção de amostragem	15
3.5 Casuística	16
3.6 Análise Estatística	17
4 RESULTADOS	19
4.1 Descrição de casuística	20
4.2 Relação Elastometria transitória hepática e Biópsia Hepática	23
4.3 Relação entre Métodos não invasivos e Biópsia Hepática	25
5 DISCUSSÃO	34
6 CONCLUSÃO	42
7 ANEXOS	44
8 REFERÊNCIAS	49

Listas

Abreviatura e Siglas

Alb	Albumina
APRI	<i>Aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index</i>
Anti-HCV	Anticorpos contra o HCV
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
ARFI	<i>Acoustic radiation force impulse</i>
cm	unidade de medida: centímetros
CHC	Hepatite C Crônica
ELF	<i>Enhanced Liver Fibrosis</i>
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GGT	Gama-Glutamil Transferase
HA	Ácido Hialurônico
HC-FMUSP	Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCV	Vírus da Hepatite C
HCV-RNA	Material genético do HCV
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HSCs	Célula estrelada hepática
IMC	Índice de Massa Corpórea
IQR	Intervalo Interquartil
IQR/M	Intervalo Interquartil Médio
MEC	Matriz Extracelular
MEH	Medida de elasticidade hepática
MMP	Metaloproteinase
PCDT	Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas
PCR RNA	Reação em cadeia da polimerase de detecção do RNA Viral
PICP	Pró-peptídeo carboxi-terminal de pró-colágeno do tipo I

PIIINP	Pró-peptídeo amino-terminal de pró-colágeno do tipo III
Se	termo estatístico que representa a Sensibilidade
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
Sp	termo estatístico que representa Especificidade
TIMP1	Inibidor tecidual de metaloproteinase 1
TIMP	Inibidor tecidual de metaloproteinase
TGF- β 1	Fator de crescimento tumoral β 1
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Figuras e Gráficos

Figura 1 -	Concordância entre Elastometria transitória hepática e os graus de fibrose hepática segundo escore METAVIR = Valores de referência.....	6
Figura 2 -	Organograma da seleção de pacientes para inclusão no estudo.....	15
Gráfico 1 -	Curva ROC – Elastografia transitória hepática	24
Gráfico 2 -	Curva ROC dos métodos não invasivos para $\geq F1$	26
Gráfico 3 -	Curva ROC dos métodos não invasivos para $\geq F2$	28
Gráfico 4 -	Curva ROC dos métodos não invasivos para $\geq F3$	29
Gráfico 5 -	Curva ROC dos métodos não invasivos para $\geq F4$	30
Gráfico 6 -	Avaliação da acurácia dos graus de fibrose hepática dos métodos não invasivos através do Método Obuchowski	32

Tabelas

Tabela 1 -	Características gerais dos pacientes	21
Tabela 2 -	Correlação antropométrica e laboratorial de acordo com graus de fibrose segundo classificação METAVIR (media $\pm$ desvio padrão e p)	22
Tabela 3 -	Características estatísticas na divisão F0/F1 ($\geq$ F1)	27
Tabela 4 -	Características estatísticas na divisão F1/F2 ($\geq$ F2)	28
Tabela 5 -	Características estatísticas na divisão F2/F3 ($\geq$ F3)	29
Tabela 6 -	Características estatísticas na divisão F3/F4 ($\geq$ F4)	30
Tabela 7 -	Concordância estatística entre exames de avaliação de fibrose e biópsia hepática expressa em porcentagem	31
Tabela 8 -	Acurácia pelo método Obuchowski dos graus de fibrose subsequentes	33

Resumo

Ragazzo TG. *Comparação entre a acurácia de métodos não invasivos de fibrose e a biópsia hepática em pacientes com hepatite C crônica* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

A hepatite C é um processo inflamatório do tecido hepático que acomete milhões de pessoas em todo mundo. A evolução crônica da doença pode levar a transformação da fibrose hepática em cirrose e carcinoma hepatocelular em um grande número de casos. A avaliação dos graus de fibrose hepática é importante para o estudo da gravidade e progressão da doença, bem como decisão terapêutica e avaliação de sua eficácia. Os métodos não invasivos de avaliação da fibrose hepática têm sido uma opção aos possíveis riscos da biópsia hepática, ainda considerada o melhor método de avaliação de fibrose hepática. No presente trabalho, 107 pacientes portadores de hepatite C foram submetidos à biópsia hepática e Elastografia transitória hepática, 106 pacientes APRI e FIB4, ELF em 68 pacientes e ARFI em 51 pacientes. Usando a área abaixo da Curva ROC, AUROC, para obter a acurácia da fibrose hepática, encontramos na fibrose significativa ($\geq F2$): Elastografia transitória hepática: 0,83; FIB4: 0,76; ELF: 0,70; APRI: 0,69; ARFI: 0,67; na fibrose avançada ($\geq F3$): Elastografia transitória hepática: 0,85; ELF: 0,82; FIB4: 0,77; ARFI: 0,74; APRI: 0,71 e na cirrose ($\geq F4$) APRI: 1; FIB4: 1; Elastografia transitória hepática: 0,99; ARFI: 0,96; ELF: 0,94. Podemos dizer que em todos os graus de fibrose avaliados, a Elastografia transitória hepática foi o método que apresentou a melhor acurácia. Em se tratando de cirrose ($\geq F4$), todos os métodos não invasivos apresentam excelente acurácia. Utilizando o método Obuchowski, encontramos em cada grau de fibrose hepática classificado pelo escore METAVIR as acurácias: F1= Elastografia transitória hepática: 0,81; ARFI: 0,78; APRI: 0,72; FIB4: 0,67; ELF: 0,44; F2= Elastografia transitória hepática: 0,73; FIB4: 0,68; ELF: 0,63; APRI: 0,60; ARFI: 0,53; F3= ELF: 0,77; Elastografia transitória hepática: 0,70; FIB4: 0,67; ARFI: 0,64; APRI: 0,60 e F4: APRI e FIB4: 1; Elastografia transitória hepática: 0,98; ARFI: 0,96; ELF: 0,82. A Elastografia transitória hepática se mantém como um método eficiente para todos os graus de fibrose, sendo que nos extremos apresenta discreta superioridade em relação aos graus intermediários. A acurácia de todos os métodos é superior em F4.

Descritores: Hepatite C crônica; Fibrose hepática; Técnicas de imagem por elasticidade/métodos; Biomarcadores/sangue; Progressão da doença; Acurácia dos dados.

Summary

Ragazzo TG. *Comparison of the accuracy of non-invasive fibrosis tests and liver biopsy in patients with chronic hepatitis C* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2016.

Hepatitis C is an inflammatory condition of the hepatic tissue that affects millions worldwide. The chronic stages of the disease turns from hepatic fibrosis into cirrhosis and hepatocellular carcinoma in many cases. The evaluation of fibrosis staging is important for prognosis, as well as understanding the progression of the disease, choice of treatment options and assessing their effectiveness. Non-invasive methods of fibrosis assessment have increasingly become alternatives to liver biopsy, which is still considered the best method of fibrosis assessment. In this study, 107 consecutive patients with hepatitis C virus were submitted to liver biopsy and transient elastography, 106 underwent APRI and FIB-4, 68 underwent ELF and 51 underwent ARFI. Using the area under ROC curve (AUROC) to obtain the degree of accuracy of each test, the following cutoffs were found for significant fibrosis ($F \geq 2$): transient elastography: 0,83; FIB4: 0,76; ELF: 0,70; APRI: 0,69; ARFI: 0,67; For advanced fibrosis ($F \geq 3$): transient elastography: 0,85; ELF: 0,82; FIB4: 0,77; ARFI: 0,74; APRI: 0,71; For cirrhosis ($F \geq 4$): APRI: 1; FIB4: 1; transient elastography: 0,99; ARFI: 0,96; ELF: 0,94. Of the methods assessed, transient elastography presented the greatest diagnostic accuracy across all levels of fibrosis. When assessing cirrhosis ($F \geq 4$), all of these non-invasive methods showed excellent diagnostic accuracy. Using the Obuchowski method, the accuracy of each degree of fibrosis categorised by the METAVIR score was determined: F1= transient elastography: 0,81; ARFI: 0,78; APRI: 0,72; FIB4: 0,67; ELF: 0,44; F2=transient elastography: 0,73; FIB4: 0,68; ELF: 0,63; APRI: 0,60; ARFI: 0,53; F3= ELF: 0,77; transient elastography: 0,70; FIB4: 0,67; ARFI: 0,64; APRI: 0,60; F4: APRI and FIB4: 1; transient elastography: 0,98; ARFI: 0,96; ELF: 0,82. Transient elastography remained the most effective method for all degrees of fibrosis, although at the higher levels this superiority was less than at the intermediate levels. The accuracy of all methodologies was best at $F \geq 4$.

Descriptors: Hepatitis C, chronic; Liver cirrhosis; Elasticity imaging techniques/methods; Biomarkers/blood; Disease progression; Data accuracy

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hepatite C

A Hepatite C consiste em uma inflamação do tecido hepático consequente da ação do Vírus C (HCV), o qual foi descoberto em 1989 por Quim-Lim-Choo, George Kuo, Daniel Bradley e Michael Houghton ⁽¹⁾. O HCV é um vírus que pertence à família Flaviviridae, composto por genoma em fita simples de polaridade positiva medindo 9,7 kilobases de comprimento. Na poliproteína, com uma longa fase de leitura aberta (open reading frame) distinguem-se as proteínas estruturais: core, E1 e E2 e as não estruturais ou NS (1 a 5), e essas últimas responsáveis pela replicação viral. A análise filogenética das sequências genômicas permitiu a caracterização de 6 genótipos (1 a 6) que são subdivididos em grupos a, b, c. Dentro de um mesmo genótipo e subtipo podemos ainda ter variações do VHC, que são denominadas *quasispecies*. Isto é possível devido à replicação imperfeita do vírus, com o surgimento de pequenas e constantes mutações ^(2, 3).

A Hepatite C é transmitida, principalmente, por meio de sangue contaminado e com muito menor risco por outras secreções orgânicas. Constituem situações de risco, com variados potenciais de contágio: transfusão de sangue ou derivados, uso de drogas ilícitas, hemodiálise, exposição a sangue por profissionais da saúde e outras áreas (agulhas, acidentes percutâneos), receptores de órgãos ou tecidos transplantados, recém-nascidos de mães anti-HCV positivas, contatos sexuais promíscuos ou com parceiro sabidamente anti- HCV positivo, exposição a sangue por material cortante ou perfurante de uso coletivo não devidamente esterilizado ou descartável utilizado em procedimentos cosméticos (tatuagens, piercings, manicure, pedicure, barbeiros e outros) e de contato social ou familiar (escovas dentais, depiladores, lâminas, etc) ^(4, 5).

O acometimento da Hepatite C pode ser agudo ou crônico. Nos quadros agudos, cerca de 15% a 45 % das pessoas infectadas evoluem para clareamento viral em até 6 meses, sem tratamento. Os outros 55% a

85%, desenvolvem o quadro crônico da doença, apresentando entre 15% e 30% o risco de desenvolverem cirrose hepática em um período de 20 anos ⁽⁶⁾.

Existem aproximadamente 130 a 150 milhões de pessoas no mundo portadoras de Hepatite C crônica e uma grande porcentagem desses pacientes crônicos irão desenvolver cirrose hepática ou câncer de fígado. Por volta de 300 a 500 mil pessoas falecem a cada ano devido a complicações hepáticas relacionadas ao HCV ⁽⁶⁾. Em um estudo realizado no Brasil, a cirrose é o principal fator de risco para o desenvolvimento do carcinoma hepatocelular. Sendo a Hepatite C, a etiologia mais comum de cirrose nestes pacientes acometidos pelo carcinoma hepatocelular ⁽⁷⁾.

Em nosso país, os dados epidemiológicos existentes são obtidos através do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). A definição de caso confirmado de Hepatite C para notificação no SINAN é aquele que apresenta Anti-HCV reagente e HCV-RNA detectável. No período de 1999 a 2011 foram notificados no SINAN um total de 55.222 casos de Hepatite C confirmados na Região Sudeste, o que representa 67,3% dos casos notificados no Brasil, a maioria dos quais no Estado de São Paulo (84,5%) ⁽⁸⁾. Porém, a ocorrência de uma proporção considerável de casos assintomáticos permanecem desconhecidos do sistema de vigilância, gerando uma grande subnotificação e com as falhas de preenchimento das Fichas de investigação de hepatites que alimentam o sistema, podendo comprometer a confiabilidade e o uso estratégico dos dados de vigilância ⁽⁸⁾. Segundo o estudo de prevalência de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C nas capitais do país, o resultado para a prevalência do marcador da Hepatite C (anti-HCV) é de 1,27% na faixa etária entre 10 e 69 anos, nas capitais da região Sudeste do Brasil, onde se situa o Estado de São Paulo ⁽⁹⁾. Se considerarmos que a população pertencente a esta mesma faixa etária é de 9.171.552 pessoas na cidade de São Paulo, podemos ter uma estimativa de aproximadamente 116.662 pessoas portadoras de anti-HCV positivos neste município ^(9, 10).

1.2 Método Invasivo de Avaliação de Fibrose Hepática

1.2.1 Biópsia Hepática

A Biópsia hepática tem sido considerada o método padrão ouro para a avaliação dos estágios da fibrose hepática. A classificação e o estadiamento da fibrose hepática são úteis para a avaliação da gravidade e da progressão da doença, para as decisões terapêuticas e da eficácia da terapia antiviral. Através da biópsia hepática também há a vantagem de analisar outros importantes parâmetros como inflamação, necrose, esteatose e presença de ferro hepático na amostra obtida ⁽¹¹⁾. A qualidade da Biópsia hepática é geralmente determinada pelo comprimento, diâmetro, fragmentação e número de espaços porta obtidos ^(12, 13). A biópsia permite avaliar apenas 1:50.000 do tecido hepático, sendo que o erro interobservador pode atingir 30% dos casos e um diagnóstico incorreto pode ocorrer na ordem de 20% dos casos segundo Regev e colaboradores ⁽¹⁴⁾. Knodell et colaboradores foram os primeiros a criar um escore numérico para avaliar as lesões hepáticas – *Histology Activity Index* (HAI) ⁽¹⁵⁾. Desde então, várias classificações foram propostas para a avaliação histológica e classificação da fibrose hepática em portadores da Hepatite C. Os métodos mais utilizados são o escore ISHAK e o escore METAVIR.

O escore METAVIR, criado por um grupo de patologistas franceses (grupo METAVIR), utiliza duas letras e dois números que juntos compõem um código: A= atividade inflamatória histológica, sendo A0: sem atividade, A1: atividade leve, A2: atividade moderada e A3: atividade severa e F= Fibrose, sendo: F0: sem fibrose, F1: fibrose portal sem septação, F2: fibrose portal com raros septos, F3: numerosos septos sem cirrose e F4: cirrose ^(16, 17).

A biópsia hepática não é um método isento de riscos. Aproximadamente 2% dos pacientes que realizam biópsia requerem hospitalização para o manejo das complicações pós-procedimento. Dentre as complicações decorrentes da biópsia hepática temos: dor, hemorragia, peritonite biliar, bacteremia, sepsis com formação de abscesso,

pneumotórax, hemotórax, fístula arteriovenosa, enfisema subcutâneo, biópsia de outros órgãos e morte ⁽¹⁸⁾.

1.3 Métodos Não Invasivos de Avaliação de Fibrose Hepática

1.3.1 Elastografia transitória hepática

O FibroScan é um aparelho médico de diagnóstico e de quantificação da fibrose hepática, não invasivo, que foi desenvolvido pela Echosens (Paris, França) no ano de 2003 ⁽¹⁹⁾. O aparelho contém um transdutor de Ultrassom de 5-MHz acoplado a uma base com um eixo vibratório, que utiliza a tecnologia VCTE (tecnologia de elastografia com impulso de velocidade controlada). A vibração emitida por este transdutor é de média amplitude (2 mm) e de baixa frequência (50 Hz). Ela propaga uma onda através do tecido hepático que permite estimar a elasticidade do parênquima hepático através da equação final ($E=3\rho V^2$) onde: E = elasticidade, ρ = densidade (uma constante dos tecidos) e V = velocidade de propagação da onda. Quanto mais endurecido o tecido, mais rápida a onda se propaga. Os resultados dos valores das medidas da elasticidade hepática são expressos em KiloPascal (KPa) e estão compreendidos em um intervalo entre 2,5 e 75 KPa. O volume explorado corresponde a um cilindro de 1 cm de diâmetro, 4 cm de comprimento, o que corresponde a um volume 100 vezes superior ao obtido pela biópsia hepática ^(19, 20, 21, 22). A avaliação da rigidez hepática é geralmente considerada como confiável quando preenche os seguintes critérios: 10 medições válidas, a taxa de sucesso $\geq 60\%$ e taxa de intervalo interquartil /mediana (IQR/M) $\leq 30\%$ ^(23, 24, 25). É um método muito estudado e de grande importância para avaliação dos graus de fibrose hepática, principalmente para Hepatite C como visto, desde 2005, no trabalho de Ziol e colaboradores ⁽²⁶⁾. Os valores de referência da Elastografia transitória hepática são diferentes para as diversas doenças que acometem o fígado. No trabalho publicado por J.Vergniol e V. de Ledinghen em 2009 ⁽²⁷⁾, há um gráfico que demonstra a concordância entre os valores da Elastografia transitória hepática e os graus de fibrose hepática segundo o score

METAVIR na Hepatite C (coluna A), coinfecção HIV/HCV (coluna B), reinfecção por HCV após transplante hepático (coluna C), Hepatite B (coluna D) e doenças colestáticas crônicas - Figura 1.

Figura 1 - Concordância entre Elastometria hepática e os graus de fibrose hepática segundo escore METAVIR = Valores de referência

Figura 01 (A) Hepatite C, (B) coinfecção HIV/HCV, (C) Reinfeção por HCV após transplante hepático, (D) Hepatite B, (E) doenças colestáticas crônicas.

1.3.2 ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*)

Acoustic radiation force impulse (ARFI) - (Siemens Acuson S2000, Virtual Touch[®] tissue quantification; Siemens) é outra ferramenta de elastografia que pode ser integrada a uma máquina de ultrassom convencional. Transdutores sensíveis à propagação de pulso acústico com frequência de 2,67 Hz, geram ondas de corte que se propagam no tecido perpendicularmente à direção do impulso acústico. As ondas de corte são, então, rastreadas usando o ultrassom (US) baseado na correlação em uma pequena região de interesse (ROI) de 5 mm x 10 mm, que o examinador pode localizar livremente na escolha dentro do campo de visão até uma

profundidade de 8 cm de altura com uma sonda convexa. Assim, permite detectar a rigidez do tecido hepático através da velocidade de propagação de ondas de cisalhamento no tecido, linearmente correlacionada com a rigidez do tecido hepático. A velocidade da onda de corte aumenta com a gravidade da fibrose hepática em doenças crônicas do fígado ^(22, 28, 29). Os resultados são expressos em m/s com escala em intervalo: 0,5-4,4 m/s e precisão de $\pm 20\%$ em relação ao intervalo) ⁽³⁰⁾. É considerado um exame de qualidade quando tem o valor de 10 medidas válidas com intervalo Interquartil (IQR/M) $< 30\%$ e índice de sucesso $\geq 60\%$ ⁽³¹⁾. Os valores de referência para os diferentes graus de fibrose para o ARFI, relacionados a classificação METAVIR, são para F1= 1,19m/s, F2= 1,34m/s, F3= 1,55m/s e F4= 1,80m/s conforme apresentado em trabalho de metanálise por M. Friedrich-Rust e colaboradores ⁽³⁰⁾. O ARFI tem sua aplicabilidade muito bem estabelecida na avaliação da fibrose hepática causada pelo vírus da hepatite C. Um bom exemplo disso é o estudo multicêntrico descrito por I.Sporea e colaboradores em 2012 ⁽³²⁾.

1.3.3 ELF (*Enhanced Liver Fibrosis*)

Enhanced Liver Fibrosis (ELF) é um teste sérico que fornece um valor único, combinando em um algoritmo as medidas quantitativas de ácido hialurônico (HA), pró-peptídeo amino-terminal de pró-colágeno tipo III (PIIINP) e do inibidor tecidual de metaloproteinase 1 (TIMP-1) em soro humano ^(33, 34), utilizando os sistemas ADVIA Centaur, ADVIA Centaur® CP, ADVIA Centaur® XP da Siemens. Segundo o fabricante, os algoritmos para calcular o escore do ELF são: na ADVIA Centaur® XP: $2,278 + 0,851 \ln (C \text{ HA}) + 0,751 \ln (C \text{ PIIINP}) + 0,394 \ln (C \text{ TIMP-1})$ e na ADVIA Centaur® CP: $2,494 + 0,846 \ln (C \text{ HA}) + 0,735 \ln (C \text{ PIIINP}) + 0,391 \ln (C \text{ TIMP-1})$. É importante considerar cuidadosamente os parâmetros individuais que estão incluídos no painel em questão. Os marcadores incluídos no painel de ELF, podem refletir uma atividade de *turn-over* anormal da matriz extracelular extra-hepáticas, presente em doenças cardiovasculares ou outras doenças

inflamatórias crônicas. Sendo assim, pode ser uma limitação em pessoas mais idosas, onde mais frequentemente predominam esses tipos de doenças ^(35, 36). Também é um método validado para o estudo da fibrose na Hepatite C, como publicado por Guéchet e colaboradores em 2012 ⁽³⁷⁾. Sua interpretação de resultados, segundo o fabricante é a seguinte: <7,7= nenhuma fibrose ou fibrose leve (equivalente a F0 e F1 na classificação METAVIR), ≥7,7 a <9,8= fibrose moderada (equivalente a F2 na classificação METAVIR), ≥ 9,8= fibrose severa (equivalente a F3 e F4 na classificação METAVIR).

1.3.4 APRI (*Aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index*)

O APRI é um índice obtido da relação da AST pela contagem de plaquetas. É um método bioquímico indireto de avaliação de fibrose hepática, baseado em parâmetros de exames rotineiros ⁽³⁸⁾. O escore APRI é calculado de acordo com a fórmula ⁽³⁹⁾:

$$\text{APRI} = \frac{\frac{\text{Valor da AST (UI/L)}}{\text{LSN}^*}}{\text{Contagem de Plaquetas (10}^9\text{)}} \times 100$$

* LSN = limite superior da normalidade da AST (UI/L)

A interpretação do APRI consiste em dois únicos valores numéricos. Quando apresentar APRI ≤0,5 existem poucas chances de haver fibrose significativa (classificação METAVIR ≥F2) e APRI ≥1,5 apresenta fibrose avançada (classificação METAVIR ≥F3) e grande possibilidade de cirrose ⁽³⁹⁾. O escore APRI é um método prático e efetivo na identificação de fibrose avançada. Devido a isso, o Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (DDAHV/SVS/MS) introduziu no novo Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para Hepatite C e Coinfecções o uso do escore APRI

como uma das ferramentas para a definição do grau de acometimento hepático ⁽³¹⁾.

1.3.5 FIB4

O FIB4 é um escore de avaliação do grau de fibrose hepática inicialmente formulado para pacientes coinfectados HIV/HCV. Posteriormente, foi validado para Hepatite C. Usa em sua fórmula apenas itens obtidos em exames de rotina laboratorial, de simples acesso e baixo custo financeiro. A fórmula consiste em ^(41,42):

$$\text{FIB4} = \frac{\text{idade (anos)} \times \text{AST (U/L)}}{\text{plaquetas (10}^9\text{)} \times \sqrt{\text{ALT (U/L)}}}$$

Os valores de referência do FIB4 tem 2 notas de corte, onde $\text{FIB4} < 1,45$ significa ausência de fibrose significativa (classificação METAVIR $\geq \text{F2}$) e o valor de $\text{FIB4} > 3,25$ com fibrose avançada (classificação METAVIR $\geq \text{F3}$) ^(41, 42). Devido à praticidade, baixo custo e efetividade em relação aos graus de fibrose avançada, também foi incluído como ferramenta no Protocolo Clínico e Diretrizes terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções do Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (DDAHV/SVS/MS) para avaliação do grau de acometimento da fibrose hepática ⁽⁴⁰⁾.

1.3.6 Correlação entre os métodos

Considerando as limitações apresentadas pela biópsia hepática, os estudos recentes estão se focando no progresso dos marcadores não invasivos de fibrose hepática como substitutos das informações provenientes das biópsias hepáticas como cita Abdollahi et al. ⁽⁴³⁾. A importância do uso da Elastografia transitória hepática para o diagnóstico da fibrose significativa, detecção precoce da cirrose e evolução da gravidade da

cirrose tem sido demonstrada em vários trabalhos como o realizado em 2007 por Castera ⁽¹⁹⁾ e através da metanálise de Tsochatzis e colaboradores ⁽⁴⁴⁾. Na literatura encontramos diversos trabalhos que visam a comparação dos diversos métodos não invasivos de avaliação de fibrose hepática. O estudo FibroStic, por exemplo, avaliou a acurácia do FibroScan, Apri, Fibrotest®, Fibrometer® e Hepacor comparativamente à biópsia hepática ⁽⁴⁵⁾. A análise comparativa entre APRI e FIB4 realizada por Holmberg e colaboradores ⁽⁴⁶⁾ e o estudo de Petersen e colaboradores que fizeram a comparação entre ELF e APRI na avaliação da fibrose significativa na prática clínica ⁽⁴⁷⁾ são alguns exemplos. Apesar de vários estudos comparativos, entre os métodos não invasivos de avaliação da fibrose hepática, não foi encontrado um estudo que especificamente compare os métodos de imagem Elastografia transitória hepática e ARFI com os teste séricos não invasivos APRI, FIB4 e ELF.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Correlacionar a acurácia, sensibilidade e especificidade dos métodos invasivo (biópsia hepática) e não-invasivos (Elastografia transitória hepática, ARFI, ELF, APRI e FIB4) de avaliação de fibrose hepática na Hepatite C.

3 MÉTODOS

3 MÉTODOS

3.1 Ética

O presente estudo foi submetido à Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), CAPESP e aprovado sob o Protocolo de Pesquisa: n° 1276/09.

O Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (Anexo1) foi formulado seguindo as recomendações da Resolução número 196 de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde. Foram realizadas a leitura e o esclarecimento do TCLE a todos os pacientes com critérios para a inclusão no estudo. Somente após a concordância com os termos e a assinatura do mesmo pelo paciente ou responsável é que ocorreu a inclusão do paciente neste estudo.

3.2 Critérios de Inclusão

Para preencher os critérios de inclusão, os pacientes selecionados deveriam apresentar: 1) PCR- RNA positivo para o HCV e ou ter diagnóstico clínico e histopatológico de hepatite C 2) Sorologia negativa para HIV e HBV 3) Biópsia hepática representativa 60 dias antes da realização da Elastografia transitória hepática.

3.3 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão compreenderiam: 1) Negativa em assinar o TCLE 2) Paciente menor de 18 anos ou maior de 70 anos 3) Contraindicação para a realização de biópsia hepática no caso de inexistência da mesma nos últimos 60 dias 4) Biópsia hepática não representativa (fragmento subcapsular). 5) Suspeita clínica ou ultrassonográfica de carcinoma hepatocelular. 6) Presença de ascite ao

exame clínico ou ultrassonografia. 7) IMC ≥ 30 kg/m². 8) Histórico de tratamento prévio da hepatite C.

3.4 Seleção da amostragem

A Divisão de Gastroenterologia e Hepatologia Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Departamento de Gastroenterologia da FMUSP dispõem de uma agenda específica para a listagem de pacientes com indicações de biópsia hepática, acompanhados nos seus ambulatórios. No período compreendido entre 03/08/2012 e 31/05/2014 um total de 250 pacientes portadores de Hepatite C, que atenderiam aos critérios de inclusão no estudo, foram listados na referida agenda.

Figura 2 - Organograma da seleção de pacientes para inclusão no estudo

Destes 250 pacientes listados, 107 pacientes não puderam participar do estudo por motivos diversos, assim distribuídos: 16 pacientes não compareceram para se submeter à biópsia hepática na data agendada para

a sua realização, 20 pacientes foram convocados para sua inclusão no estudo e não compareceram na data marcada, 20 pacientes se recusaram a participar do estudo durante contato telefônico, 6 pacientes apresentavam nódulos hepáticos ao US realizado no prazo máximo de 30 dias anteriores à biópsia, 1 paciente tinha mais de 70 anos, 19 pacientes tiveram as suas biópsias hepáticas canceladas por motivos diversos, 12 pacientes já haviam feito algum tipo de tratamento para Hepatite C previamente ao estudo, 3 pacientes apresentavam coinfeção com HIV e 10 pacientes não foram localizados. Apenas 143 pacientes foram selecionados para comparecer a uma visita à Divisão de Gastroenterologia e Hepatologia Clínica do HC-FMUSP e do Departamento de Gastroenterologia da FMUSP.

3.5 Casuística

Após contato telefônico com os 143 pacientes, os mesmos foram convocados para uma visita de esclarecimento e assinatura do TCLE, com posterior encaminhamento à sala de coleta no 4º andar do Prédio dos Ambulatórios do HC-FMUSP para uma amostra de sangue. As amostras coletadas foram encaminhadas para o Laboratório Central do HC-FMUSP para serem processadas com a utilização das técnicas já padronizadas pelo laboratório. Em 68 destes pacientes, também foram coletadas amostras que foram armazenadas a temperatura de -80°C e encaminhadas para um laboratório colaborador e processadas no aparelho ADVIA Centaur® CP da Siemens para obtenção do escore ELF através da equação: $2,494 + 0,846 \ln (C_{HA}) + 0,735 \ln (C_{PIIINP}) + 0,391 \ln (C_{TIMP-1})$. Após a coleta do sangue, os pacientes foram encaminhados para a sala de exames de imagem situada no 9º andar do Instituto Central do HC-FMUSP para realização do exame de Elastografia transitória hepática. De posse dos resultados dos exames de sangue e com a complementação da coleta de dados através de uma revisão dos prontuários dos pacientes, foi possível aplicar os Índices APRI e FIB4 em 106 pacientes. No dia da realização da biópsia hepática, 58 pacientes também foram submetidos ao exame de

imagem ARFI (Siemens–S200). Dos 58 exames ARFI realizados, apenas 51 exames foram incluídos no estudo. Ocorreram problemas técnicos na realização do exame em 6 pacientes (IQR > 30) e 1 paciente apresentava nódulo hepático ao ultrassom. Nos procedimentos das biópsias hepáticas realizadas pela Divisão de Gastroenterologia e Hepatologia Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP e do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo foram utilizadas as agulhas Tru-Cut™ modelo 14Gx15cm ou modelo 14Gx16cm (Medical Technology, Gainesville, FL). Todas as biópsias foram analisadas por um único patologista, experiente, da Divisão de Anatomia Patológica do HC-FMUSP, a fim de evitar o viés de interpretação das análises. As amostras selecionadas tiveram no mínimo 5 espaços porta (média de 13 espaços porta, variando entre 5 e 35 espaços porta) e tamanho médio de 15 mm (variando entre 7 mm e 23 mm). O escore de classificação utilizado para a análise das biópsias hepáticas foi o escore METAVIR.

Do total de 143 pacientes avaliados para a inclusão no estudo, apenas 107 pacientes contemplaram todos os critérios de inclusão e exclusão. Os 36 pacientes restantes, foram excluídos do estudo por apresentarem as seguintes alterações: 28 pacientes apresentaram valor de IMC $\geq 30 \text{ kg/m}^2$, 5 pacientes apresentaram problemas na realização ou na qualidade do exame de Elastografia transitória hepática (1 paciente por apresentar o espaço inter-costal estreito, 3 pacientes com exames apresentando IQR $\geq 30\%$, 1 paciente com exame apresentando taxa de sucesso $<60\%$), 3 pacientes tiveram o intervalo entre a realização da biópsia hepática e o exame de elastografia transitória hepática maior que 60 dias .

3.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo Laboratório de Epidemiologia e Estatística do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de

Medicina da Universidade de São Paulo. Foi utilizado o Software R versão 3.2.1 para a realização das análises dos dados e gráficos. O desempenho dos métodos não invasivos foi estimado através da Curva ROC (utilizando o pacote pROC versão 1.8), identificando os melhores pontos de corte (*cut-off*) dos diferentes graus de fibrose hepática, otimizando sensibilidade e especificidade. A área abaixo da curva ROC (AUROC) permitiu avaliar a acurácia dos métodos estudados. O método Obuchowski também foi utilizado para determinar a acurácia dos métodos não invasivos dos graus de fibrose hepática. As análises comparativas de mais de dois grupos foram realizadas utilizando Anova, Levene, Kruskal-Wallis. Para comparações múltiplas, ou seja, comparação dois a dois para mais de dois grupos, foi utilizado Turkey e Non-parametric Turkey. Para estudar a associação entre as variáveis qualitativas (categóricas) foi utilizado o teste exato de FISHER e o Qui-Quadrado. As diferenças estatísticas com valores de p menores de 5% foram consideradas significativas.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Descrição da Casuística

A população estudada foi composta por um grupo homogêneo em relação à distribuição sexual, contendo 50,47% (n=54) do sexo feminino e 49,53% (n=53) do sexo masculino em seu número absoluto. Analisando os dados da Tabela 1, observamos que o universo populacional deste estudo foi composto em sua maioria por uma população de origem étnica caucasiana 67,29% (n=72) seguido por afrodescendentes 31,78% (n=34). Dentre as possíveis formas de exposição à contaminação pelo vírus C da hepatite, a ocorrência de transfusão de sangue mostrou discreta superioridade com 27,21% (n=29) dos casos, seguida da tatuagem, que também se mostrou importante com 25,23% (n=27). Seguindo os critérios de definição de Síndrome Metabólica determinados pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica ⁽⁴⁸⁾, apenas 13 pacientes (12,15%) dos pacientes avaliados puderam ser definidos como portadores de Síndrome Metabólica. O genótipo predominante encontrado foi o Genótipo 1 presente em 81,90% dos casos. Sendo que em um dos pacientes avaliados houve a ocorrência de coinfeção com dois genótipos (1 e 2).

Tabela 1 - Características dos pacientes

Fator	N	Porcentagem
Sexo		
masculino	53	49,53
feminino	54	50,47
Etnia		
caucasiana	72	67,29
afrodescendente	34	31,78
asiático	01	0,93
Exposição de risco		
drogas injetáveis		
sim	17	15,89
não	90	84,11
drogas não injetáveis		
sim	05	4,67
não	102	95,33
tatuagens		
sim	27	25,23
não	80	74,77
transfusão de sangue		
sim	29	27,1
não	78	72,9
transmissão materno fetal		
sim	01	0,93
não	106	99,07
Síndrome metabólica		
sim	13	12,5
não	94	87,5
Estágio da fibrose		
F0	8	7,48
F1	43	40,19
F2	31	28,97
F3	23	21,5
F4	02	
Genótipos		
1	77	81,90
2	02	2,13
3	16	17,02

O grau de fibrose mais encontrado na amostra foi o F0= 7,48% (n=8), F1= 40,19% (n=43), seguido do F2= 28,97% (n=31), F3= 21,5% (n=23) e F4= 1,87% (n=2).

Tabela 2 - Correlação antropométrica e laboratorial com graus de fibrose segundo classificação METAVIR (média $\pm$ desvio padrão)

Variável	Grau de Fibrose				
	F0	F1	F2	F3	F4
IDADE	40,6 $\pm$ 9,8	44,8 $\pm$ 10,9	49,9 $\pm$ 9,9	53,8 $\pm$ 8,9	56,5 $\pm$ 3,5
IMC	25,5 $\pm$ 2,7	24,7 $\pm$ 2,8	24,9 $\pm$ 3,01	25,6 $\pm$ 2,6	23,9 $\pm$ 5,5
AST	25,8 $\pm$ 7	35,9 $\pm$ 13,2	46,5 $\pm$ 31,3	57,2 $\pm$ 39,7	181 $\pm$ 15,5
ALT	32,1 $\pm$ 16,3	47,8 $\pm$ 24,4	65,9 $\pm$ 67,7	75,0 $\pm$ 57,6	136,5 $\pm$ 16,2
FA	66,7 $\pm$ 16,1	66,3 $\pm$ 17,9	71,7 $\pm$ 22,1	71,2 $\pm$ 23,3	227,5 $\pm$ 136,4
γ GT	56,1 $\pm$ 69,8	54,4 $\pm$ 41,6	142,2 $\pm$ 169,3	105,4 $\pm$ 95,9	249 $\pm$ 16,9
ALB	4,2 $\pm$ 0,2	4,4 $\pm$ 0,3	4,5 $\pm$ 0,2	4,3 $\pm$ 0,4	4,05 $\pm$ 0,2
INR	1,0 $\pm$ 0,04	1,0 $\pm$ 0,07	1,0 $\pm$ 0,08	1,0 $\pm$ 0,08	1,1 $\pm$ 0,08
CA	94,38 $\pm$ 8,1	92,14 $\pm$ 6,7	92,06 $\pm$ 8,3	94,48 $\pm$ 7,81	92 $\pm$ 15,5
DPF	1,62 $\pm$ 0,17	1,58 $\pm$ 0,27	1,53 $\pm$ 0,29	1,59 $\pm$ 0,4	1,62 $\pm$ 0,7
PQT	237 $\times 10^3$ $\pm 36 \times 10^3$	234 $\times 10^3$ $\pm 57 \times 10^3$	214 $\times 10^3$ $\pm 46 \times 10^3$	194 $\times 10^3$ $\pm 66 \times 10^3$	118 $\times 10^3$ $\pm 35 \times 10^3$

IMC=índice de massa corpórea ; AST=aspartate aminotransferase ; ALT=alanine aminotransferase; FA= fosfatase alcalina; γ GT=gamaglutamiltransferase , ALB=albumina ; INR = relação normatizada internacional ; PCR log = logaritmos do exame de reação em cadeia de polymerase.,CA: cintura abdominal, DPF: distância pele-fígado, Pqt:plaquetas

Quando analisados os dados, separadamente, em relação aos diferentes graus de fibrose, vemos que a média de idade é maior nos pacientes com grau de Fibrose avançado F3 e F4. O IMC é bastante similar em todos os grupos e as variáveis indicadoras de atividade inflamatória e funcional hepática apresentam uma elevação média progressiva conforme a progressão do grau de fibrose.

4.2 Relação Elastografia transitória hepática e biópsia hepática

Todos os 107 pacientes incluídos no estudo foram submetidos ao exame de Elastografia transitória hepática, a fim de avaliar a sua acurácia nos diversos graus de fibrose em relação aos graus de fibrose hepática encontrados nas biópsias. Avaliando o perfil corpóreo dos pacientes, a média do Índice de Massa Corpórea (IMC) da amostra foi de $25,05 \pm 2,85$ kg/m² e a média da Circunferência Abdominal foi de $92,79 \pm 7,63$ cm. Relacionando aos critérios de validade do exame de Elastografia transitória hepática, todos os exames obtiveram 10 medidas válidas ($10,01 \pm 0,1$). A taxa de sucesso dos exames foi $95,44 \pm 8,16$. A média do IQR = $15,08 \pm 6,51$. A medida da distância pele-cápsula hepática foi aferida através de um aparelho de ultrassom. A média desta distância foi $1,57 \pm 0,31$ cm, sendo que a distância mínima foi de 0,36 cm e a distância máxima de 2,3cm. Todos os exames foram procedidos com o transdutor de tamanho M. A maioria dos exames de Elastografia transitória hepática foi realizada em jejum. Foram considerados em jejum os pacientes que haviam ingerido qualquer tipo de alimentação no período superior a 4 horas da realização do exame de Elastografia transitória hepática.

Com o uso da Curva ROC, foram estabelecidos os pontos de corte da Elastografia transitória hepática para avaliação dos diversos graus de fibrose hepática. Todos o pontos de corte foram feitos em comparação com as biópsias hepáticas pela classificação METAVIR.

Grafico 1 - Curva ROC – Elastografia transitória hepática

No gráfico 01 se encontram as curvas ROC dos exames de Elastografia transitória hepática e o estabelecimento das notas de corte de um em relação a cada grau de fibrose. A divisão entre F0/F1 ($\geq F1$) apresenta um *cut-off* estabelecido no valor de 5,1KPa, tendo sensibilidade (Se) igual a 76%, a especificidade (Sp) de 100% e a área abaixo da Curva ROC (AUROC) mostrando uma acurácia de 0,884 com o IC95% da AUROC (0,80;0,96). A divisão entre F1/F2 ($\geq F2$), apresentou *cut-off* de 6,5KPa, com Se=71%, Sp=92%, AUROC=0,84 e IC95%(0,75;0,91). A divisão entre F2/F3 ($\geq F3$), apresentou um *cut-off* =7,1KPa com Se=80%,Sp=79%, AUROC=0,85 e IC95% da AUROC (0,77;0,91). A divisão entre F3/F4 ($\geq F4$), apresentou um *cut-off* =27KPa, com Se=100%, Sp=99%, AUROC=0,99 e IC95% da AUROC (0,98;1). De acordo com os resultados apresentados na amostra obtida no estudo, encontramos uma concordância entre os exames de Elastografia transitória hepática e a biópsia hepática de 76,76% nos

pacientes com classificação F0, 85,71% nos pacientes classificados como F1, 86,07% nos pacientes com classificação F2, 89,63% nos pacientes classificados como F3 e 99,04% nos pacientes classificados como F4.

4.3 Relação entre métodos não invasivos e a biópsia hepática

Na amostra de 107 pacientes avaliados neste estudo foram realizados os exames não invasivos físicos: Elastografia transitória hepática em 107 pacientes e ARFI em 51 pacientes, e os exames não invasivos com uso de biomarcadores: APRI e FIB4 em 106 pacientes, ELF em 68 pacientes. Não foi possível realizar no presente estudo igualmente todos os métodos. O FIB4 e o APRI foram realizados em 106 pacientes devido à falta de dados em prontuário. O ARFI, exame realizado no mesmo dia da biópsia hepática, foi possível obter os dados em 51 dos pacientes incluídos neste estudo. O ELF foi realizado em 68 pacientes devido ao kit fornecido por laboratório colaborador. Com a curva ROC estabelecendo os pontos de corte dos diferentes graus de fibrose em todos os tipos de exames realizados, a área sob a curva ROC, a AUROC, foi usada como indicador de acurácia de cada método não invasivo.

O gráfico 2, abaixo, representa a correlação entre os exames da divisão F0/F1 ou também denominado ($\geq F1$).

Gráfico 2 - Curva ROC dos métodos não invasivos para $\geq F1$

Na divisão F0/F1($\geq$ F1) a melhor acurácia foi do FibroScan com AUROC=0,884, seguido do ARFI, com uma AUROC de 0,832, com um $p=0,393$. Na tabela 3 temos as características dos testes não invasivos na divisão F0/F1 ($\geq$ F1).

Tabela 3 - Características estatísticas na divisão F0/F1 ($\geq$ F1)

	<i>cut-off</i>	Sensibilidade%	Especificidade%	AUROC	IC95%AUROC
FibroScan	5,1KPa	76	100	0,884	0,80- 0,96
ARFI	1,1m/s ²	67	100	0,832	0,53 - 1
ELF	8,05	100	40	0,494	0,08 - 0,92
APRI	0,5	56	100	0,781	0,66 - 0,89
FIB4	1,29	51	100	0,787	0,65 - 0,91

Na divisão F1/F2 ($\geq F2$), a melhor acurácia foi do FibroScan, com AUROC de 0,83, seguido do FIB4 com AUROC de 0,761, $p=0,163$.

Gráfico 3 - Curva ROC dos métodos não invasivos para $\geq F2$

Tabela 4 - Características estatísticas na divisão F1/F2 ($\geq F2$)

	<i>cut-off</i>	Sensibilidade%	Especificidade%	AUROC	IC95%AUROC
FibroScan	6,5KPa	71	92	0,836	0,75 – 0,91
ARFI	1,22m/s ²	64	69	0,672	0,51 – 0,82
ELF	8,98	82	56	0,707	0,58 – 0,83
APRI	0,67	48	86	0,691	0,59 – 0,79
FIB4	1,29	67	76	0,761	0,66 – 0,85

A divisão F2/F3 ($\geq F3$), apresentou o FibroScan com maior acurácia, AUROC de 0,852, seguido pelo ELF com acurácia de 0,852, $p=0,320$

Gráfico 4 - Curva ROC dos métodos não invasivos para $\geq F3$

Tabela 5 - Características estatísticas na divisão F2/F3 ($\geq F3$)

	<i>cut-off</i>	Sensibilidade%	Especificidade%	AUROC	IC95%AUROC
FibroScan	7,1KPa	80	79	0,852	0,77 – 0,92
ARFI	1,41m/s ²	57	83	0,74	0,57 – 0,90
ELF	9,47	83	69	0,828	0,71 – 0,93
APRI	0,67	60	76	0,716	0,59 – 0,83
FIB4	2,36	84	60	0,778	0,66 – 0,89

Na divisão entre F3/F4 ($\geq F4$), tanto o APRI, quanto o FIB4, demonstraram uma acurácia de 100 % com a AUROC =1, $p=1$. O FibroScan apresentou AUROC de 0,995, seguido do ARFI com AUROC de 0,969, $p=0,64$.

Gráfico 5 - Curva ROC dos métodos não invasivos para $\geq F4$

Tabela 6 - Características estatísticas na divisão F3/F4 ($\geq F4$)

	<i>cut-off</i>	Sensibilidade%	Especificidade%	AUROC	IC95%AUROC
FibroScan	27KPa	100	99	0,995	0,98 - 1
ARFI	2,37m/s ²	100	94	0,969	0,90 - 1
ELF	11	100	94	0,94	0,91 - 1
APRI	4,3	100	100	1	1 - 1
FIB4	6,51	100	100	1	1 - 1

A concordância estatística encontrada entre os métodos de avaliação de fibrose hepática e os graus de fibrose da biópsia hepática na classificação Metavir, estão demonstrados na tabela 7.

Tabela 7 - Concordância estatística entre exames de avaliação de fibrose e biópsia hepática expressa em porcentagem

Biópsia	FibroScan	ARFI	Elf	APRI	FIB4
F0	76,76	67,34	100	56,12	83,92
F1	85,71	82	61,37	80	83,92
F2	86,07	63,18	69,87	80	80
F3	89,63	91,89	84,82	88,27	80,24
F4	99,04	93,87	94,02	100	100

A análise da acurácia dos métodos não invasivos de avaliação dos graus de fibrose hepática também foi realizada pelo Método Obuchowski. O Método Obuchowski demonstra a acurácia dos exames realizando uma comparação de pares de estágios de fibroses definidos pela biópsia hepática. No gráfico 6 temos a acurácia na comparação entre os pares de estágios em diversas composições. Podemos ver, por exemplo, que todos os exames apresentam uma acurácia excelente na comparação entre os extremos F4vsF1. Quando avaliamos as situações intermediárias, por exemplo, F1vsF2, a acurácia exibida dos exames não invasivos de avaliação dos graus de fibrose hepática não apresenta a mesma resposta.

Gráfico 6 - Avaliação da acurácia dos graus de fibrose hepática dos métodos não invasivos através do Método Obuchowski

Na tabela 8 estão demonstrados apenas os valores de acurácia dos graus de fibrose subsequentes obtidos pelo Método Obuchowski.

Tabela 8 - Acurácia pelo método Obuchowski dos graus de fibrose subsequentes

Biópsia	Elastografia	ARFI	ELF	APRI	FIB4
F0 vs F1	0,81	0,78	0,44	0,72	0,67
F1 vs F2	0,73	0,53	0,62	0,60	0,68
F2 vs F3	0,70	0,64	0,77	0,60	0,67
F3 vs F4	0,98	0,96	0,82	1	1

A melhor acurácia para a comparação F0 vs F1 foi da Elastografia transitória hepática com 81% e o ARFI apresentou 78%, sendo o segundo melhor teste neste grupo. Na comparação F1vsF2 a Elastografia transitória hepática apresentou acurácia de 73% e FIB4 68%. Nota-se que, pelo método Obuchowski é possível avaliar todos os métodos não invasivos, inclusive o APRI e o FIB4, tanto em todos os graus de fibrose.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

A acurácia dos métodos não invasivos de avaliação dos graus de fibrose hepática em pacientes portadores de Hepatite C crônica, foi realizada em comparação com a biópsia hepática classificada pelo escore METAVIR. Foram utilizados dois métodos estatísticos distintos, neste presente estudo, a Curva ROC e o Método Obuchowski. Em ambos os métodos estatísticos, o presente estudo, apresentou uma acurácia bastante elevada nos casos de cirrose hepática. Demonstrando que, na prática clínica, todos os métodos de avaliação de fibrose hepática avaliados são de grande valia.

A curva ROC é a representação gráfica da relação recíproca entre sensibilidade e especificidade, calculada para todos os limiares possíveis. O eixo vertical do gráfico mostra a sensibilidade. O eixo horizontal representa a fração falso-positivo ($FPF = 1 - \text{especificidade}$). Cada ponto de funcionamento sobre a curva ROC representa a combinação de sensibilidade e especificidade de um determinado valor limiar ⁽⁴⁹⁾.

A área abaixo da Curva ROC, a AUROC, fornece a acurácia de cada teste nos variados graus de fibrose hepática. Para a avaliação dos resultados de acurácia obtidos através da AUROC, existe uma classificação onde são consideradas: AUROC entre 90-100 excelentes, entre 80-90 muito bons e entre 70-80 bons; enquanto entre 60-70 são considerados resultados suficientes e entre 50-60 ruins. O resultado <50 significa que não deve ser considerada sua utilização ⁽⁵⁰⁾. Na curva ROC, em relação ao exame FIB4, os pontos de corte para a divisão entre F0 e F1 foram iguais o que indica que não é possível a divisão entre os dois grupos. O mesmo acontece em relação ao APRI, o *cut-off* para a divisão entre F1 e F2 não permite a divisão entre os dois grupos.

O Método Obuchowski pode ser interpretado como a probabilidade de que o índice não invasivo irá classificar corretamente 2 amostras de pacientes escolhidos aleatoriamente com diferentes estágios de fibrose de acordo com o esquema de ponderação ^(51, 52).

Existem diversos fatores que podem exercer influência nos resultados dos exames dos métodos não invasivos de avaliação da fibrose hepática. Em relação à Elastometria transitória hepática, a realização de jejum, o operador do aparelho e as características antropométricas são fatores que influenciaram no sucesso e na confiabilidade do exame ⁽⁵³⁾. Tendo sido todos os exames de Elastografia transitória hepática executados por um único operador, treinado e experiente na realização deste trabalho, evitou-se a ocorrência de possíveis variações inter-observador ⁽⁵⁴⁾. A realização de jejum mínimo de 3 horas foi solicitado devido à variação do valor da Elastografia transitória hepática em KPa, que ocorre imediatamente após a alimentação, alterando o resultado ⁽⁵⁵⁾. O critério de inclusão com IMC $\leq$ 30 e a distância pele-fígado encontrados, influenciaram na escolha do transdutor utilizado. O uso do transdutor M em todos os exames de Elastometria transitória hepática do nosso estudo, evitou que ocorresse um viés de interpretação dos resultados em KPa. Este viés ocorre devido ao uso do transdutor M e do transdutor XL apresentarem diferenças de valor em seus resultados ^(56, 57, 58). Em relação ao ARFI, dois dos fatores apresentados, também interferem no resultado do exame. O IMC elevado pode resultar em fibrose subestimada e a distância pele-fígado >2,5 cm aumenta a discordância em relação à biópsia hepática ^(59, 60). Outro fator influenciador no resultado do ARFI é o sexo. No ARFI, o sexo masculino pode elevar os valores dos resultados ⁽²⁸⁾. No presente estudo, a distribuição igualitária em relação aos sexos (54 mulheres e 53 homens), impediu a ocorrência deste tipo de viés.

O ELF pode sofrer interferência da idade, uma vez que aumenta, na população mais idosa, a incidência de doenças cardiovasculares e inflamatórias crônicas ^(35, 36). A média de idade da população estudada (48,11 anos) e a ausência de outras patologias concomitantes a Hepatite C em 67,5% dos pacientes minimizou a influência deste viés no presente trabalho. As doenças crônicas mais presentes na população estudada foram Diabetes Mellitus tipo 2 em 24% dos pacientes e Hipertensão arterial em 11%. Não houve presença de doenças colestáticas, como, por exemplo,

colangite esclerosante primária ou cirrose biliar primária. Visto que a colestase é um fator que pode influenciar os resultados de alguns dos métodos de avaliação hepática não invasivos, como a Elastografia transitória hepática e APRI.

As amostras de biópsia hepática do presente estudo apresentam o valor mínimo de 5 espaços porta, sendo a média de 13 espaços porta (com variação entre 5 e 35 espaços porta). Em relação ao comprimento das amostras, houve uma variação de 7 mm a 23 mm, estabelecendo uma média de 15 mm. As amostras, deste estudo, podem ser consideradas satisfatórias para sua avaliação por apresentarem o mínimo de 5 espaços porta para serem analisados ^(12, 61).

Quanto à distribuição das amostras de biópsia hepática em relação à classificação dos graus de fibrose no Escore METAVIR, encontramos um predomínio do grupo F0, F1 e F2 (82 pacientes = 76,6%) em relação a F3 e F4 (25 pacientes=23,4%). Esta predominância pode ter ocorrido em decorrência da obrigatoriedade de um dos critérios de exclusão do estudo. O critério em questão é relativo ao paciente estudado não ter histórico de tratamento prévio. Este mesmo grupo, segundo os critérios do PCDT para Hepatite C e coinfeções ⁽⁴⁰⁾ não está incluído diretamente no grupo com indicação formal de tratamento. Consequentemente, pelo mesmo motivo, a presença de F3 e F4 em menor número, pode ser justificada por serem poucos deste grupo que, ainda, não fizeram uso de nenhum tipo de medicação para Hepatite C. Com isso, reduziu a presença de F3 e F4, neste estudo, principalmente os F4. Outro fator limitante para a presença de F3 e F4 é que o mesmo PCDT para Hepatite C e coinfeções ⁽⁴⁰⁾ exclui a necessidade de realização de biópsia hepática nesta população. O que torna este procedimento cada vez mais escasso na prática diária.

Esta distribuição irregular do número de pacientes, em cada um dos graus de fibrose hepática, na amostra que compõe o presente estudo, pode ser um dos possíveis motivos na diferença de determinação das notas de corte e da presença das notas de corte tão elevadas na divisão F3/F4. O número total de cada segmento pode ter influenciado diretamente na

determinação dos *cut-offs* de cada um dos métodos não invasivos de avaliação de fibrose hepática.

Considerando o interesse de avaliação dos graus de fibrose, a fim de realização de tratamento clínico, utilizamos a análise desses graus usando a denominação: $\geq F2$ para o grupo que compreende F2, F3 e F4 como Fibrose Significativa, $\geq F3$ para o grupo que compreende F3 e F4 como Fibrose Avançada e $\geq F4$ como Cirrose.

O uso dos métodos não invasivos de avaliação dos graus de fibrose hepática, nos pacientes portadores de Hepatite C, tem possibilitado análises para a introdução de terapêutica adequada e seguimento das complicações da progressão natural da doença. Estratégias que combinam 2 marcadores sanguíneos, como o proposto por Petersen e colaboradores com a combinação de APRI e ELF ou a combinação da Elastografia transitória hepática e um marcador sanguíneo tem sido proposta para aumentar a acurácia^(62, 63). Neste presente estudo, avaliamos as acurácias encontradas nos seguintes métodos: Elastografia transitória hepática, ARFI, ELF, APRI e FIB4 em comparação com a biópsia hepática na Classificação Metavir.

Quando analisamos a fibrose significativa: $\geq F2$, vimos que a Elastografia transitória hepática apresentou um melhor resultado em termos de acurácia que os demais métodos. A AUROC: 0,836 foi considerada um resultado muito bom. O ELF apresenta resultados de boa acurácia com AUROC de 0,707. Já o ARFI e o APRI foram considerados como resultados suficientes em termos de qualidade com AUROC de 0,672 para o ARFI e 0,691 para o APRI. Na curva ROC do APRI, não foi possível a determinação do ponto de corte entre F1/F2, sendo assim, não há como fazer a separação entre F1/F2 e a análise do grupo F2F3F4 ($\geq F2$). Quando avaliamos a fibrose avançada: $\geq F3$, a Elastografia transitória hepática e o ELF tiveram resultados muito bons com AUROC de 0,85 e 0,82 respectivamente. O FIB4, ARFI e o APRI foram considerados bons resultados com AUROC de 0,77; 0,74 e 0,71 respectivamente. Em se tratando de avaliação de cirrose, $\geq F4$, todos os métodos apresentaram um resultado excelente, com AUROC de

0,94 para o ELF; 0,969 para o ARFI; 0,995 para a Elastografia transitória hepática e a AUROC do APRI e do FIB4=1.

Encontramos no presente estudo, a regularidade da acurácia da Elastografia transitória hepática nas classificações dos graus de fibrose $\geq F2$, $\geq F3$ e $\geq F4$. As AUROC de 0,83; 0,85 e 0,99 respectivamente são compatíveis com os resultados apresentados nos trabalhos de Castera⁽²³⁾ $\geq F2$ AUROC 0,83, Se:67, Sp:89; $\geq F3$ AUROC:0,90, Se:73, Sp:91 e $\geq F4$ AUROC:0,95, Se:87, Sp:91 e Ziol e colaboradores⁽²⁶⁾ com $\geq F2$ AUROC:0,79, Se:56, Sp:91, $\geq F3$ Auroc:0,96, Se:86, Sp:85; $\geq F4$ AUROC:0,97, Se:86, Sp:96. A especificidade e a sensibilidade da Elastografia transitória hepática é maior em relação a $\geq F4$ ⁽⁶⁴⁾. A Elastografia transitória hepática também tem se mostrado um método eficiente para avaliação de progressão de fibrose em várias patologias como, por exemplo, a esteatose hepática⁽⁶⁵⁾. Também apresenta aplicabilidade na avaliação da progressão da fibrose e suas complicações, como hipertensão portal^(66, 67) e na prática clínica da Hepatite C e demais doenças crônicas do fígado^(68, 69). O estudo de Gara e colaboradores⁽⁷⁰⁾ mostra que apesar da alta sensibilidade e especificidade da Elastografia transitória hepática e do APRI no diagnóstico da cirrose, devido à possibilidade de falso-positivo é necessário manter sempre a correlação com análise clínica ou um exame de imagem.

O ARFI apresentou em $\geq F2$ AUROC:0,67, Se:64 e Sp:69, em $\geq F3$ AUROC:0,74, Se:57, Sp:83 e em $\geq F4$ AUROC:0,97, Se:100, Sp:97 no nosso estudo. Este é um resultado inferior ao encontrado na literatura. Na metanálise de M. Friedrich-Rust e colaboradores⁽³⁰⁾ a média da AUROC foi para $\geq F2$:0,87, $\geq F3$:0,91 e $\geq F4$:0,93, sendo o ARFI uma ferramenta muito boa para diagnóstico de fibrose significativa e excelente para fibrose severa e cirrose. A metanálise de Nierhoff J e colaboradores⁽⁷¹⁾ encontrou as Auroc $\geq F2$ 0,84, $\geq F3$ 0,89 e $\geq F4$ 0,91, sendo o ARFI muito bom para diagnóstico de fibrose significativa e severa e excelente para cirrose. Quando comparamos os achados relacionados à ARFI e Elastografia transitória hepática, o presente estudo apresentou diferenças em relação à metanálise de Bota e colaboradores⁽⁷²⁾. Na metanálise, há uma equivalência entre a acurácia da

Elastografia transitória hepática e do ARFI em relação à fibrose significativa e cirrose. Em nosso estudo há uma superioridade da Elastografia transitória hepática na fibrose significativa em relação ao ARFI. Talvez o predomínio dos graus de fibrose F0, F1 e F2 em nossa análise, possa ser associado a esta diferença encontrada em relação à literatura. Porém, encontramos estudos em que há equivalência entre ARFI e Elastografia transitória hepática em fibrose severa e cirrose, sendo a Elastografia transitória hepática melhor escolha para diagnóstico em fibrose significativa ⁽⁷³⁾. Em duas análises comparativas entre ARFI e APRI ^(74, 75), ambos apresentam capacidade de avaliação da progressão de fibrose severa e cirrose em hepatite C, com uma acurácia um pouco melhor do ARFI.

Quanto ao ELF, encontramos $\geq F2$ AUROC:0,71, Se:82, Sp:56, $\geq F3$ AUROC:0,82, Se:83, Sp:69, $\geq F4$ AUROC:0,94, Se:100, Sp:100. Apesar de apresentar um valor de acurácia para $\geq F2$ inferior a alguns trabalhos ^(34, 76) apresenta um valor semelhante ao trabalho de Parkes e colaboradores ⁽⁷⁷⁾ com $\geq F2$ AUROC:0,74, $\geq F3$:0,84 e $\geq F4$:0,90 em uma população específica de HCV. O trabalho de Fagan e colaboradores ⁽⁷⁸⁾ indica que o *cut-off* do escore ELF $\geq 9,8$ tem Se:74,4% e Sp:92,4% para detectar fibrose severa com capacidade de excluir 92,4% de pacientes sem fibrose severa. Em nosso trabalho achamos o *cut-off* em $\geq F3$ de 9,4 com Se:83 e Sp:69.

O APRI apresentou $\geq F2$ AUROC:0,69 e $\geq F4$ AUROC:1, diferindo em relação a $\geq F2$ do trabalho original com AUROC:0,88, mas foi equivalente ao mesmo estudo em relação a $\geq F4$ que apresentou AUROC:0,94 ⁽³⁹⁾. O APRI não pode identificar os estágios de fibrose individuais e alguns pacientes persistem sem classificação após o uso do *cut-off* original. Além disso, a definição apropriada do limite da normalidade da AST permanece incerta. Cada laboratório estabelece um diferente valor para o limite superior da normalidade ⁽⁷⁹⁾. APRI e FIB4 são excelentes para cirrose, mas é necessário ter cuidado em relação ao pequeno número de pacientes que apresentam exames pouco alterados em relação a valores normais. Em relação a estes pacientes, pode ocorrer um resultado falso-negativo, mantendo a indicação da sua realização juntamente com exame de imagem ⁽⁸⁰⁾. Nos vários

estudos de comparação entre os métodos não invasivos de avaliação da fibrose hepática, o estudo de Crisan D e colaboradores ⁽⁸¹⁾ apresentou a acurácia do APRI, FIB4 e Elastografia transitória hepática com bons resultados tanto em $\geq F2$ quanto em $\geq F3$, sugerindo melhor acurácia da Elastografia transitória hepática em $\geq F3$ com a combinação de testes. O trabalho de Petersen e colaboradores ⁽⁴⁷⁾ avalia o APRI e o ELF em fibrose significativa. Apresenta a variante de não ter usado a classificação Metavir, mas demonstra, nesses casos, que um pode ser complementar ao outro. A metanálise de Poynard e colaboradores ⁽⁸²⁾, embora seja realizada com diversas patologias crônicas do fígado, confirma com a acurácia de FIB4 e APRI para detecção de fibrose significativa e cirrose em pacientes com HCV.

No Método Obuchowski, os resultados são evidenciados por classificação dos graus de fibrose, não sendo possível dividir em fibrose significativa, fibrose severa e cirrose. Em quase todos os graus de fibrose, a Elastografia transitória hepática apresentou acurácia superior aos outros métodos. As melhores acurácias ocorreram nos extremos dos graus de fibrose F1 e F4, com valores de 0,81 e 0,98 respectivamente. Demonstrando com isso uma menor acurácia em discriminar os graus intermediários. O ARFI apresentou melhor acurácia nos graus F1 e F4, sendo que em F4 houve uma superioridade diagnóstica :0,96. O APRI e o FIB4 apresentaram uma excelente acurácia em relação a F4: igual a 1. Comprovando, também, no Método Obuchowski, que os diagnósticos são de alta precisão nesta classificação. Quanto ao ELF, ele apresentou em nosso estudo a mesma acurácia em F4, em relação ao único estudo encontrado no Método Obuchowski ⁽³⁷⁾. No estudo, a acurácia do ELF em F4:0,81 e em nosso estudo de 0,82. Não apresentou em nosso estudo, nem na avaliação da acurácia pela AUROC, nem pelo Obuchowski um método qualificável para classificação de fibrose em baixos graus F1.

6 CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

1. A Elastografia transitória hepática é o método que apresenta melhor acurácia em fibrose significativa ($\geq F2$), fibrose severa ($\geq F3$) e cirrose ($\geq F4$) segundo a área abaixo da curva ROC, AUROC.
2. Todos os métodos de avaliação de fibrose hepática estudados apresentaram excelente acurácia em cirrose ($\geq F4$).
3. No Método Obuchowski, todos os métodos estudados apresentaram uma melhor acurácia nos graus extremos F1 e F4, apresentando diminuição da acurácia nos graus intermediários de fibrose F2 e F3.

7 ANEXOS

7 - ANEXOS**Anexo 1****HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU
RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO.....Nº.....APTO:.....
BAIRRO:.....CIDADE:.....
CEP:.....TELEFONE:DDD(.....).....
2. RESPONSÁVEL LEGAL.....
NATUREZA(grau.de.parentesco,tutor,curador,etc).....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO.:/...../.....
ENDEREÇO:.....Nº.....APTO:.....
BAIRRO:.....CIDADE:.....
CEP:.....TELEFONE:DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1- TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA Comparação entre a elastometria hepática e a biópsia hepática em pacientes com hepatite crônica C em São Paulo

PESQUISADOR : .PROF. DR. Flair José Carrilho

CARGO/FUNÇÃO: .PROF. TITULAR DO DEPARTAMENTO DE GASTROENTEROLOGIA

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº .CRM 40916

UNIDADE DO HCFMUSP: DEPARTAMENTO DE GASTROENTEROLOGIA.

2- AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒

RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐

RISCO MAIOR ☐

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 MESES

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Convidamos o (a) senhor (a) para participar de projeto de pesquisa com objetivo de avaliar a possibilidade de utilizar um novo método de imagem (elastograma hepático-Fibroscan) que poderá substituir a biópsia do fígado. Espera-se encontrar resultados que possibilitem substituir em algumas situações a biópsia hepática em pacientes portadores de hepatite crônica C.

PROCEDIMENTOS

A rotina de atendimento no Ambulatório Hepatologia continuará a mesma, através de consultas médicas e exames feitos na rotina habitual para acompanhamento e tratamento da hepatite C. A indicação da biópsia hepática também seguirá a mesma indicação rotineiramente feita em pacientes em que existe a intenção de tratar (pacientes com PCR positivo para o vírus da Hepatite C). . Pedimos a permissão para utilização dessas informações no estudo em questão, através do armazenamento dos resultados dos exames, porém mantendo em sigilo a identificação do paciente. Além dos exames habituais, outros exames de caráter experimental serão solicitados. Você fará o exame de imagem (FibroScan) que consiste em um exame semelhante a uma ultrassonografia e dura cerca 10-15 minutos e a Bioimpedância que avalia a distribuição da gordura corporal Também será necessária coleta de sangue por punção periférica de veia do antebraço, que será congelado para dosagem de alguns biomarcadores (substâncias produzidas em nosso organismo, e que avaliam a fibrose hepática) .

DESCONFORTOS E RISCOS

A punção de veia periférica apresenta pequeno desconforto, e alguns riscos, como sangramento, hematoma, equimose, e dor local. Não há desconforto esperado nesse método de imagem denominado FibroScan ou na realização da bioimpedância .

Benefícios para o participante .Trata-se de estudo experimental testando a hipótese de que. Somente no final do estudo poderemos concluir o benefício ao avaliar se este método de imagem pode substituir biópsia hepática futuramente em algumas situações, possibilitará saber se podemos indicar o tratamento da hepatite C sem a necessidade da biópsia hepática, já que esta é um método invasivo e com riscos para o paciente.. Não haverá nenhum custo extra para o(a) senhor(a) pela sua participação nessa pesquisa. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se houver qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

CONFIDENCIALIDADE

As informações médicas geradas por esta pesquisa farão parte do seu prontuário hospitalar. Aquelas informações que não constarem no seu prontuário serão mantidas no arquivo dos pesquisadores e identificadas apenas por um número. Os resultados desse estudo poderão ser publicados em uma revista ou livro texto da área médica com a finalidade de ensino. Os autores se comprometem a usar os dados apenas com os propósitos desta pesquisa.

SOLICITAÇÃO DE INFORMAÇÕES ADICIONAIS

O(a) senhor(a) poderá solicitar mais informações a respeito do estudo a qualquer momento. Em qualquer etapa do estudo, o senhor (a) terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa. O principal investigador é a Prof. Dr. Flair José

Carrilho, que pode ser encontrada no endereço no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, telefone (s) 2661-7830. Se o senhor(a) tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contado com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar, telefone 3069-6442, ramais 16,17,18 ou 20, fax 3069-6442, ramal 26, ou pelo email: cappesq@hcnet.usp.br.

O(a) senhor(a) será informado sobre novas descobertas que possam influenciar a continuidade da sua participação na pesquisa.

RECUSA OU ABANDONO DO ESTUDO

O(a) senhor(a) está livre a recusar-se a participar, retirar o seu consentimento informado ou abandonar o referido projeto, a qualquer momento, sem prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição.

Eu, _____, fui informado(a) dos objetivos e da justificativa do estudo “Comparação entre a elastografia hepática e a biópsia hepática em pacientes com hepatite crônica C em São Paulo”, de forma clara e detalhada, conforme especificados no termo de consentimento livre e esclarecido. Recebi informações específicas sobre os procedimentos aos quais serei submetido(a), seus desconfortos e riscos, bem como da utilização de material biológico para estudo.

Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa durante o andamento da mesma.

Eu discuti com o Dr. _____ sobre minha decisão em participar deste estudo. Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou foram lidas para mim.

Ficou claro que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Fui informado/(a) que todos os custos relacionados a exames diagnósticos e tratamento médico serão cobertos por verbas próprias do Projeto de Pesquisa.

Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa, e que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

São Paulo, ____ de _____ de 201__.

8 REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244:359-62.
2. Choo QL, Richman KH, Han JH, Berger K, Lee C, Dong C, Gallegos C, Coit D, Medina-Selby R, Barr PJ, Weiner AJ, Bradley DW, Kuo G, Houghton DM. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:2451-5.
3. Houghton M, Weiner A, Han J, Kuo G, Choo QL. Molecular biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis development and control of viral disease. *Hepatology*. 1991;14(2):381-8.
4. MacDonald M, Crofts N, Kaldor J. Transmission of hepatitis C virus: rates, routes, and cofactors. *Epidemiol Rev*. 1996;18(2):137-48.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR Recomm Rep*. 1998;47(RR-19):1-39.
6. Organização Mundial da Saúde. Hepatitis C. 20/11/2015 Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.
7. Carrilho FJ, Kikuchi L, Branco F, Gonçalves CS, Mattos AA, Brazilian HCC Study Group. Clinical and epidemiological aspects of hepatocellular carcinoma in Brazil. *Clinics*. 2010;65(12):1285-90.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Departamento de DST/AIDS e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico Hepatites Virais. 2012;3(1). Introdução.

9. Brasil. Ministério da Saúde. Departamento de DST/AIDS e Hepatites Virais. Estudo de prevalência de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C nas capitais do Brasil. Brasília (DF);2010.
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE. Censo 2010. citado dia 20/11/2015. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/censo2010>.
11. Sebastiani G, Alberti A. Non Invasive fibrosis biomarkers reduce but not substitute the need for liver biopsy. *World J Gastroenterol*. 2006;12(23): 3682-94.
12. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med*. 2001; 344:495-500.
13. Al Knawy B, Shiffman M. Percutaneous liver biopsy in clinical practice. *Liver Int*. 2007;27(9):1166-73.
14. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pylsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 2002;97(10):2614-8.
15. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1(5):431-5.
16. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1996;24:289-93.
17. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1994;20;1:15-20.

18. Rustagi T, Newton E, Kar P. Percutaneous liver biopsy. *Trop Gastroenterol*. 2010;31(3):199-212.
19. Castera L. Use of elastometry (FibroScan) for the non-invasive staging of liver fibrosis. *Gastroenterol Clin Biol*. 2007;31:524-30.
20. Lédinghen V, Vergniol J. Transient elastography (Fibroscan). *Gastroenterol Clin Biol*. 2008;32:58-67.
21. Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P, de Lédinghen V. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (Fibroscan):a prospective study. *Gut*. 2006;55:403-8.
22. Bamber J, Cosgrove D, Dietrich CF, Fromageau J, Bojunga J, Calliada F, Cantisani V, Correas JM, D'Onofrio M, Drakonaki EE, Fink M, Friedrich-Rust M, Gilja OH, Havre RF, Jenssen C, Klauser AS, Ohlinger R, Saftoiu A, Schaefer F, Sporea I, Piscaglia F. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Ultrasound Elastography. Part 1: Basic Principles and Technology. *Ultraschall Med*. 2013;34:169-84.
23. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, De Lédinghen V. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005;128:343-50.
24. Boursier J, Zarski JP, de Ledinghen V, Rousselet MC, Sturm N, Lebail B, Fouchard-Hubert I, Gallois Y, Oberti F, Bertrais S, Calès P; Multicentric Group from ANRS/HC/EP23 FIBROSTAR Studies. Determination of reliability criteria for liver stiffness evaluation by transient elastography. *Hepatology*. 2013;57(3):1182-91.

-
25. Castera L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, Couzigou P, de Lédinghen V. Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology*. 2010;51(3):828-35.
26. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, de Lédinghen V, Marcellin P, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005;41(1):48-54.
27. Vergniol J, de Lédinghen V. [Non-invasive diagnosis of liver fibrosis: guidelines for the use of biomarkers and FibroScan]. *Gastroenterol Clin Biol*. 2009;33:334-44.
28. Liao LY, Kuo KL, Chiang HS, Lin CZ, Lin YP, Lin CL. Acoustic radiation force impulse elastography of the liver in healthy patients: test location, reference range and influence of gender and body mass index. *Ultrasound Med Biol*. 2015;41(3):698-704.
29. Piscaglia F, Marinelli S, Bota S, Serra C, Venerandi L, Leoni S, Salvatore V. The role of ultrasound elastographic techniques in chronic liver disease: current status and future perspectives. *Eur J Radiol*. 2014;83(3):450-5.
30. Friedrich-Rust M, Nierhoff J, Lupsor M, Sporea I, Fierbinteanu-Braticevici C, Strobel D, Takahashi H, Yoneda M, Suda T, Zeuzem S, Herrmann E. Performance of Acoustic Radiation Force Impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a pooled meta-analysis. *J Viral Hepat*. 2012;19(2):e212-9.
31. Bota S, Sporea I, Sirli R, Popescu A, Gradinaru-Tascau O. How useful are ARFI elastography cut-off values proposed by meta- analysis for predicting the significant fibrosis and compensated liver cirrhosis. *Med Ultrason*. 2015;17(2):200-5.

-
32. I. Sporea I, Bota S, Peck-Radosavljevic M, Sirli R, Tanaka H, Iijima H, Badea R, Lupsor M, Fierbinteanu-Braticevici C, Petrisor A, Saito H, Ebinuma H, Friedrich-Rust M, Sarrazin C, Takahashi H, Ono N, Piscaglia F, Borghi A, D'Onofrio M, Gallotti A, Ferlitsch A, Popescu A, Danila M. Acoustic Radiation Force Impulse Elastography for fibrosis evaluation in patients with chronic hepatitis C: An international multicenter study. *Eur J Radiol.* 2012;81:4112-8.
33. Lichtinghagen R, Pietsch D, Bantel H, Manns MP, Brand K, Bahr MJ. The Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score: normal values, influence factors and proposed cut-off values. *J Hepatol.* 2013;59(2):236-2.
34. Rosenberg WM¹, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, Hubscher S, Roskams T, Pinzani M, Arthur MJ. European Liver Fibrosis Group. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology.* 2004;127:1704-13.
35. Pinzani M. The ELF panel: a new crystal ball in hepatology? *Gut.* 2010;59(9):1165-7.
36. Parkes J, Roderick P, Harris S, Day C, Mutimer D, Collier J, Lombard M, Alexander G, Ramage J, Dusheiko G, Wheatley M, Gough C, Burt A, Rosenberg W. Enhanced Liver Fibrosis (ELF) Test can predict clinical outcomes in patients with mixed aetiology chronic liver disease. *Gut.* 2010;59:1245-51.
37. Guéchet J, Trocmé C, Renversez JC, Sturm N, Zarski JP; ANRS HC EP 23 Fibrostar Study Group. Independent validation of the Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score in the ANRS HC EP 23 Fibrostar cohort of patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(4):693-9.

-
38. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, Sun Y, Xuan SY. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology*. 2011;53(3):726-36.
39. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:518-26.
40. Brasil. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções. [citado dia 12/04/2016]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/2015/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-hepatite-c-e-coinfeccoes>.
41. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, Sulkowski M, Torriani FJ, Dieterich DT, Thomas DL, Messinger D, Nelson M; APRICOT Clinical Investigators. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43(6):1317-25.
42. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, Fontaine H, Pol S. FIB-4: An inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection-comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology*. 2007;46:32-6.
43. Abdollahi M, Pouri A, Ghojazadeh M, Estakhri R, Somi M. Non-invasive serum fibrosis markers: a study in chronic hepatitis. *Bioimpacts*. 2015;5(1):17-23.

-
44. Tsochatzis EA, Gurusamy KS, Ntaoula S, Cholongitas E, Davidson BR, Burroughs AK. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *J Hepatol*. 2011;54:650-9.
45. Degos F, Perez P, Roche B, Mahmoudi A, Asselineau J, Voitot H, Bedossa P; FIBROSTIC Study Group. Diagnostic accuracy of FibroScan and comparison to liver fibrosis biomarkers in chronic viral hepatitis: a multicenter prospective study (the FIBROSTIC study). *J Hepatol*. 2010;53:1013-21.
46. Holmberg SD, Lu M, Rupp LB, Lamerato LE, Moorman AC, Vijayadeva V, Boscarino JA, Henkle EM, Gordon SC; Chronic Hepatitis Cohort Study (CHeCS) Investigators. Noninvasive serum fibrosis markers for screening and staging chronic hepatitis c virus Patients in large US cohort. *Clin Infect Dis*. 2013;57(2):240-6.
47. Petersen JR, Stevenson HL, Kasturi KS, Naniwadekar A, Parkes J, Cross R, Rosenberg WM, Xiao SY, Snyder N. Evaluation of the aspartate aminotransferase/platelet ratio index and enhanced liver fibrosis tests to detect significant fibrosis due to chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 2014;48(4):370-6.
48. Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Sociedade Brasileira de Diabetes, Sociedade Brasileira de Estudos da Obesidade. Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84:(Supl 1):1-28.
49. van Erkel AR1, Pattynama PM. Receiver operating characteristic (ROC) analysis: Basic principles and applications in radiology. *Eur J Radiol*. 1998;27(2):88-94.

-
50. Šimundić A. Measures of diagnostic accuracy: basic definitions. *Med Biol Sci.* 2008;22(4):61-5.
51. Obuchowski NA. ROC-type measure of diagnostic accuracy when the gold standard is continuous-scale. *Stat. Med.* 2006;25(3):481-93.
52. Obuchowski NA, Goske MJ, Applegate KE. Applegate assessing physicians' accuracy in diagnosing paediatric patients with acute abdominal pain: measuring accuracy for multiple diseases. *Statist Med.* 2001;20:3261-78.
53. Juárez-Hernández E1, Uribe-Ramos MH, Ramos-Ostos MH, López-Ramírez AY, Ornelas-Arroyo S, Romero-Flores JL, Méndez-Sánchez N, Uribe M, Chávez-Tapia NC. Factors associated with the quality of transient elastography. *Dig Dis Sci.* 2015;60(7):2177-82.
54. Perazzo H, Fernandes FF, Gomes A, Terra C, Perez RM, Figueiredo FA. Interobserver variability in transient elastography analysis of patients with chronic hepatitis C. *Liver Int.* 2015;35:1533-9.
55. Mederacke I, Wurstthorn K, Kirschner J, Rifai K, Manns MP, Wedemeyer H, Bahr MJ. Food intake increases liver stiffness in patients with chronic or resolved hepatitis C virus infection. *Liver Int.* 2009;29(10):1500-6.
56. Myers RP, Pomier-Layrargues G, Kirsch R, Pollett A, Beaton M, Levstik M, Duarte-Rojo A, Wong D, Crotty P, Elkashab M. Discordance in fibrosis staging between liver biopsy and transient elastography using the FibroScan XL probe. *J Hepatol.* 2012;56(3):564-70.
57. Myers RP, Crotty P, Pomier-Layrargues G, Ma M, Urbanski SJ, Elkashab M. Prevalence, risk factors and causes of discordance in fibrosis staging by Transient Elastography and liver biopsy. *Liver Int.* 2010;30:1471-80.

58. Herrero JI, Inarrairaegui M, D'Avola D, Sangro B, Prieto J, Quiroga J. Comparison of the M and XL FibroScan probes to estimate liver stiffness by transient elastography. *Gastroenterol Hepatol*. 2014;37:233-9.
59. Nishikawa T, Hashimoto S, Kawabe N, Harata M, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Mizuno Y, Shimazaki H, Kan T, Nakaoka K, Takagawa Y, Ohki M, Ichino N, Osakabe K, Yoshioka K. Factors correlating with acoustic radiation force impulse elastography in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2014;20(5):1289-97.
60. Nadebaum D, Gibson R, Howell J, Christie M, Gorelik A, Liew D, Nicoll A. Central obesity negatively impacts the performance of acoustic radiation force impulse imaging (ARFI) in the assessment of liver fibrosis. *Hepatology*. 2014;60(6):1288A.
61. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol*. 2003;39:239-44.
62. Petersen JR, Stevenson HL, Kasturi KS, Naniwadekar A, Parkes J, Cross R, Rosenberg WM, Xiao SY, Snyder N. Evaluation of the aspartate aminotransferase/platelet ratio index and enhanced liver fibrosis tests to detect significant fibrosis due to chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 2014;48(4):370-6.
63. Castera L. Noninvasive assessment of liver fibrosis. *Dig Dis*. 2015;33:498-503.
64. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol*. 2008;48:835-47.

-
65. You SC, Kim KJ, Kim SU, Kim BK, Park JY, Kim DY, Ahn SH, Lee WJ, Han KH. Factors associated with significant liver fibrosis assessed using transient elastography in general population. *World J Gastroenterol*. 2015;21(4):1158-66.
66. Bureau C, Metivier S, Peron JM, Selves J, Robic MA, Gourraud PA, Rouquet O, Dupuis E, Alric L, Vinel JP. Transient elastography accurately predicts presence of significant portal hypertension in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;27:1261-8.
67. Hong WK, Kim MY, Baik SK, Shin SY, Kim JM, Kang YS, Lim YL, Kim YJ, Cho YZ, Hwang HW, Lee JH, Chae MH, Kim HA, Kang HW, Kwon SO. The usefulness of non-invasive liver stiffness measurements in predicting clinically significant portal hypertension in cirrhotic patients: Korean data. *Clin Mol Hepatol*. 2013;19:370-5.
68. Bonder A, Afdhal N. Utilization of FibroScan in clinical practice. *Curr Gastroenterol Rep*. 2014;16(2):372.
69. Serejo F, Marinho R, Velosa J, Costa A, Carneiro de Moura M. Elastografia Hepática Transitória, um método não invasivo para avaliação da fibrose em doentes com hepatite C crônica. *GE, J Port Gastreenterol*. 2007;14:8-14.
70. Gara N, Zhao X, Kleiner DE, Liang TJ, Hoofnagle JH, Ghany MG. Discordance among transient elastography, aspartate aminotransferase to platelet ratio index, and histologic assessments of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11:303-8.
71. Nierhoff J, Chávez Ortiz AA, Herrmann E, Zeuzem S, Friedrich-Rust M. The efficiency of acoustic radiation force impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Eur Radiol*. 2013;23:3040-53.

-
72. Bota S, Herkner H, Sporea I, Salzl P, Sirli R, Neghina AM, Peck-Radosavljevic M. Meta-analysis: ARFI elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis. *Liver Int.* 2013;33:1138-47.
73. Sporea I, Badea R, Sirli R, Lupsor M, Popescu A, Danila M, Focsa M, Deleanu A. How efficient is acoustic radiation force impulse elastography for the evaluation of liver stiffness? *Hepat Mon.* 2011;11(7):532-8.
74. Fierbinteanu-Braticevici C, Andronescu D, Usvat R, Cretoiu D, Baicus C, Marinoschi G. Acoustic radiation force imaging sonoelastography for noninvasive staging of liver fibrosis. *World J Gastroenterol.* 2009;15(44):5525-32.
75. Li SM, Li GX, Fu DM, Wang Y, Dang LQ. Liver fibrosis evaluation by ARFI and APRI in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol.* 2014;20(28):9528-33.
76. Wahl K, Rosenberg W, Vaske B, Manns MP, Schulze-Osthoff K, Bahr MJ, Bantel H. Biopsy-Controlled Liver Fibrosis Staging Using the Enhanced Liver Fibrosis (ELF) Score Compared to Transient Elastography. *PLoS ONE.* 2012;7(12):e51906.
77. Parkes J, Guha IN, Roderick P, Harris S, Cross R, Manos MM, Irving W, Zaitoun A, Wheatley M, Ryder S, Rosenberg W. Enhanced Liver Fibrosis (ELF) test accurately identifies liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2011;18(1):23-31.
78. Fagan KJ, Pretorius CJ, Horsfall LU, Irvine KM, Wilgen U, Choi K, Fletcher LM, Tate J, Melino M, Nusrat S, Miller GC, Clouston AD, Ballard E, O'Rourke P, Lampe G, Ungerer JP, Powell EE. ELF score ≥ 9.8 indicates advanced hepatic fibrosis and is influenced by age, steatosis and histological activity. *Liver Int.* 2015;35(6):1673-81.

79. Silva Jr RG, Fakhouri R, Nascimento TV, Santos IM, Barbosa LM. Aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for fibrosis and cirrhosis prediction in chronic hepatitis C patients. *Braz J Infect Dis.* 2008;12(1):15-9.
80. Martin J, Khatri G, Gopal P, Singal AG. Accuracy of ultrasound and noninvasive markers of fibrosis to identify patients with cirrhosis. *Dig Dis Sci.* 2015;60:1841-7.
81. Crisan D, Radu C, Lupsor M, Sparchez Z, Grigorescu MD, Grigorescu M. Two or more synchronous combination of noninvasive tests to increase accuracy of liver fibrosis assesement in chronic hepatitis C; results from a cohort of 446 patients. *Hepat Mon.* 2012;12(3):177-84.
82. Poynard T, Ngo Y, Perazzo H, Munteanu M, Lebray P, Moussalli J, Thabut D, Benhamou Y, Ratziau V. Prognostic value of liver fibrosis biomarkers: a meta-analysis. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2011;7(7):445-54.