MINISTÉRIO DA SAÚDE

MANUAL TÉCNICO PARA O DIAGNÓSTICO DAS HEPATITES VIRAIS

Brasília-DF
2015

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MANUAL TÉCNICO PARA O DIAGNÓSTICO DAS HEPATITES VIRAIS

Brasília-DF
2015

2015 Ministério da Saúde.

Esta obra é disponibilizada nos termos da Licença Creative Commons – Atribuição – Não Comercial – Compartilhamento pela mesma licença 4.0 Internacional. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.

A coleção institucional do Ministério da Saúde pode ser acessada, na íntegra, na Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde:
O conteúdo desta e de outras obras da Editora do Ministério da Saúde pode ser acessado na página: <http://editora.saude.gov.br>.

Tiragem: 1ª edição – 2015 – 1.000 exemplares

Elaboração, distribuição e informações
MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais
SAF sul, trecho 2, bloco F, torre 1, Edifício Premium
CEP: 70070-600 – Brasília /DF
Site: www.aids.gov.br
E-mail: aids@aids.gov.br

Organização
Ana Flávia Nacif P. Coelho Pires
José Boullosa Alonso Neto
Miriam Franchini
Nazle Mendonça Collaço Veras

Projeto gráfico e diagramação
Marcos Cleuton de Oliveira

Revisão
Bruna Lovizutto Protti
Dennis Armando Bertolini
Lia Laura Lewis Ximenez de Souza Rodrigues
Pamela Cristina Gaspar
Regina Aparecida Comparini

Colaboradores
Edison Roberto Parise
Elaine Sanae Sumikawa Wersom
Elisa Argile Cattapan
Juvêncio Duailibe Furtado
Leonardo de Lucca Schiavon
Marcelo Contardo Moscoso Naveira
Maria Inês Pardini
Mariana Villares
Orlando da Costa Ferreira Júnior
Regina Célia Moreira
Roberta Lopes Francisco

Normalização
Delano de Aquino Silva – Editora MS/CGDI

Impresso no Brasil / *Printed in Brazil*

Ficha Catalográfica

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais.
O Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. – Brasília : Ministério da Saúde, 2015.
68 p. : il.

1. MANUAL TÉCNICO PARA O DIAGNÓSTICO DAS HEPATITES VIRAIS

CDU 616.36-002

Catalogação na fonte – Coordenação-Geral de Documentação e Informação – Editora MS – OS 2015/0630

Lista de Abreviaturas

ALT	alanina aminotransferase ou alanina transaminase
Anti-HBs	anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST	aspartato aminotransferase
cccDNA	DNA circular covalentemente fechado (do inglês circular *covalently closed DNA*)
CLDN1	claudina-1
CO	ponto de corte (do inglês *cut-off*)
CTA	Centro de Testagem e Aconselhamento
CV	carga viral
EA	eventos adversos
EGFR	receptor de fator de crescimento epidérmico (do inglês *epidermal growth factor receptor*)
ELISA	ensaio imunoenzimático (do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*)
EphA2	receptor de efrina A2 (do inglês *ephrin type-A receptor 2*)
FO	fluido oral
G	glossário
GAG	proteínas glicosaminoglicanas
HAV	vírus da hepatite A (do inglês *hepatitis A virus*)
HBcAg	antígeno core do vírus da hepatite B
HBeAg	antígeno “e” do vírus da hepatite B
HBsAg	antígeno de superfície do vírus da hepatite B ou antígeno “s” do vírus da hepatite B
HBV	vírus da hepatite B (do inglês *hepatitis B virus*)
HCC	carcinoma hepatocelular (do inglês *hepatocellular carcinoma*)
HCV	vírus da hepatite C (do inglês *hepatitis C virus*)
HDV	vírus da hepatite D (do inglês *hepatitis D virus*)
HDV-Ag	antígeno do vírus da hepatite D
HEV	vírus da hepatite E (do inglês *hepatitis E virus*)
HIV	vírus da imunodeficiência humana (do inglês *human immunodeficiency virus*)
IgG	imunoglobulina da classe G
IgM	imunoglobulina da classe M
IOB	infecção oculta pelo vírus da hepatite B
IRES	sítio interno de entrada do ribossomo (do inglês *internal ribosome entry site*)
IST	infeção sexualmente transmissível
Kb	kilobases
LDLR	receptor de lipoproteína de baixa densidade (do inglês *low-density lipoprotein receptor*)
NTR	região não traduzida (do inglês *non translated region*)
OCLN	ocludina

ORF	fase de leitura aberta (do inglês *open reading frame*)
PCR	reação em cadeia da polimerase (do inglês *polymerase chain reaction*)
QT	queixas técnicas
RT-PCR	transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
SIA/SUS	Sistema de Informações Ambulatoriais do SUS
SIH	Sistemas de Informações Hospitalares
SIM	Sistema de Informação sobre Mortalidade
Sinan	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
TGO	transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	transaminase glutâmico-pirúvica
TR	teste rápido
UTM	Unidade de Testagem Móvel
VPP	valor preditivo positivo

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura da partícula do vírus da hepatite A (HAV) 20
Figura 2. Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite A (HAV) 21
Figura 3. Ciclo replicativo do vírus da hepatite A (HAV) 22
Figura 4. Curso natural da infecção pelo vírus da hepatite A (HAV) 23
Figura 5. Fluxograma para o diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite A (HAV) 25
Figura 6. Estrutura da partícula do vírus da hepatite B (HBV) 27
Figura 7. Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite B (HBV) mostrando as fases abertas de leitura (ORF) 27
Figura 8. Ciclo replicativo do vírus da hepatite B (HBV) 28
Figura 9. Representação esquemática da estrutura das partículas virais e subvirais do vírus da hepatite B (HBV) 29
Figura 10. Evolução dos marcadores do vírus da hepatite B (HBV) nas infecções agudas e crônicas 31
Figura 11. Fluxograma de triagem da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) utilizando testes rápidos (TR) 32
Figura 12. Fluxograma de diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) 35
Figura 13. Fluxograma para o diagnóstico da infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB) 37
Figura 14. Fluxograma para o diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos menores de 18 meses. 39
Figura 15. Estrutura da partícula do vírus da hepatite C (HCV) 41
Figura 16. Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite C (HCV) 41
Figura 17. Ciclo replicativo do vírus da hepatite C (HCV) 43
Figura 18. Fluxograma para a triagem da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) por meio de testes rápidos..... 45
Figura 19. Fluxograma de diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV). 47
Figura 20. Diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em indivíduos menores de 18 meses de idade..... 49
Figura 21. Estrutura da partícula do vírus da hepatite D (HDV 51
Figura 22. Ciclo replicativo do vírus da hepatite D (HDV) 52
Figura 23. Estrutura da partícula do vírus da hepatite E (HEV) 53
Figura 24. Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite E (HEV) 54
Figura 25. Distribuição geográfica dos principais genótipos do vírus da hepatite E (HEV) 55
Figura 26. Ciclo replicativo do vírus da hepatite E (HEV) 55
Figura 27. Dinâmica dos principais marcadores utilizados no diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite E (HEV) 57

Lista de Tabelas

Tabela 1. Critérios de desempenho para testes rápidos aceitos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) ... 18
Tabela 2. Critérios de sensibilidade e especificidade adotados pelo Ministério da Saúde para os testes rápidos adquiridos ... 19
Tabela 3. Período de incubação, prevalência de forma ictérica e cronificação da infecção pelos diferentes vírus causadores das hepatites virais ... 19
Tabela 4. Janela diagnóstica dos diferentes testes de diagnóstico das hepatites virais disponíveis no Brasil ... 20
Tabela 5. Interpretação dos resultados sorológicos (Ag-Ab) para hepatite B ... 32
Tabela 6. Sistematização do diagnóstico das hepatites virais conforme requisição ... 58
Tabela 7. Situações especiais no diagnóstico das hepatites ... 58

Sumário

Prefácio 11

Apresentação 13

1 Introdução às hepatites virais 14

2 Notificação 14

3 Diagnóstico clínico 14

4 Metodologias de diagnóstico das hepatites virais 15

4.1 Imunoensaios 15

4.1.1 Ensaio imunoenzimático (ELISA) 15

4.1.2 Ensaios luminescentes 15

4.1.3 Testes rápidos 16

4.2 Teste molecular 18

5 Período de incubação e janela diagnóstica 18

6 Fluxogramas para o diagnóstico laboratorial das hepatites virais 19

7 O vírus da hepatite A (HAV) 20

7.1 Partícula viral 20

7.2 Ciclo replicativo 21

7.3 Variabilidade genética 21

7.4 História natural da doença 21

7.5 Resposta imune contra HAV 24

7.6 Diagnóstico 24

7.7 Fluxograma 1. Diagnóstico para a infecção pelo vírus da hepatite A (HAV) 25

8 O vírus da hepatite B (HBV) 26

8.1 Partícula viral 26

8.2 Variabilidade genética 28

8.3 Ciclo replicativo 28

8.4 História natural da doença 29

8.5 Resposta imune 30

8.6 Diagnóstico 32

8.7 Fluxogramas de diagnóstico para a infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) 33

8.7.1 Fluxograma 2. Triagem da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) por meio de testes rápidos (TR) 33

8.7.2 Fluxograma 3. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) 35

8.7.3 Fluxograma 4. Diagnóstico da infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB) 37

8.7.4 Fluxograma 5. Diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos menores de 18 meses 38
9 O vírus da hepatite C (HCV) 40
9.1 Partícula viral 40
9.2 Variabilidade genética 42
9.3 Ciclo replicativo 42
9.4 História natural da doença 43
9.5 Resposta imune 44
9.6 Diagnóstico 44
9.7 Fluxogramas para o diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) 44
9.7.1 Fluxograma 6. Triagem da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) por meio de testes rápidos 44
9.7.2 Fluxograma 7. Diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) 46
9.7.3 Fluxograma 8. Diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em indivíduos menores de 18 meses 49
10 O vírus da hepatite por D (HDV) 50
10.1 Partícula viral 50
10.2 Variabilidade genética 51
10.3 Ciclo replicativo 51
10.4 História natural da doença 52
10.5 Resposta imune 52
10.6 Diagnóstico 53
11 O vírus da hepatite E (HEV) 53
11.1 Partícula viral 53
11.2 Variabilidade genética 54
11.3 Ciclo replicativo 55
11.4 Resposta imune 56
11.5 Diagnóstico 56
12 Sistematização do diagnóstico das hepatites virais conforme requisição 58
13 Situações especiais no diagnóstico das hepatites 58
14 Tecnovigilância 58

Prefácio

Desde o início da política pública de saúde universal das hepatites virais, em 2002, o Ministério da Saúde publicou cartilhas e documentos para a melhoria do diagnóstico das hepatites virais no Brasil. A publicação deste Manual Técnico para Diagnóstico das Hepatites Virais resulta da constante busca pelo uso racional dos exames laboratoriais e da necessidade de ampliar o acesso ao diagnóstico rápido.

Os avanços tecnológicos para diagnosticar as hepatites virais e as diferentes realidades locais foram levadas em consideração com igual peso. As informações aqui contidas, de forma prática e concisa, padronizam a realização de testes laboratoriais de forma a subsidiar os gestores na construção customizada de uma resposta efetiva ao agravo, ajudando no fortalecimento do Sistema Único de Saúde.

Ao recomendar o uso adequado dos exames laboratoriais, as orientações aqui contidas possibilitam, além de um diagnóstico seguro ao indivíduo, evitar desperdícios de recursos públicos, sejam eles do nível municipal, estadual ou federal.

Para elaborar as orientações de diagnóstico propostas neste manual, houve a contribuição essencial de uma equipe multiprofissional, que enfrenta os problemas cotidianos das hepatites virais e dialoga sobre eles com alguns dos melhores especialistas do Brasil nesta área, o que foi fundamental para responder as diferentes necessidades do país.

Desejamos a todos sucesso na implementação deste manual.

Marcelo Castro
Ministro da Saúde

Apresentação

As hepatites virais constituem atualmente uma relevante questão de saúde pública no Brasil e no mundo – distribuindo-se de maneira universal, atingindo vários segmentos da população e causando grande impacto de morbidade e mortalidade em sistemas de saúde como o Sistema Único de Saúde (SUS).

O diagnóstico preciso e precoce desses agravos permite um tratamento adequado e impacta diretamente a qualidade de vida do indivíduo, sendo ainda um poderoso instrumento de prevenção de complicações mais frequentes como cirrose avançada e câncer hepático.

Sendo assim, o Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais do Ministério da Saúde elaborou este manual técnico, com o intuito de ampliar as possibilidades de diagnóstico e, em especial, orientar os profissionais de saúde nos passos necessários à realização do diagnóstico das hepatites virais.

A avaliação clínica é de extrema importância para guiar o médico quanto ao exame a ser solicitado, de modo que o diagnóstico seja correto, de acordo com o tipo de hepatite: se A, B, C, D ou E. Hoje, entretanto, sabemos que isso não ocorre em muitas solicitações médicas, levando à realização de exames sem a indicação apropriada ou relação com a história clínica dos pacientes – o que gera desperdício de recursos públicos e privados.

Este manual visa, portanto, a orientar os profissionais que realizam testes diagnósticos das hepatites virais, sejam laboratoriais ou testes rápidos, quanto à escolha do marcador a ser utilizado ao receber solicitações genéricas, como “sorologia para hepatite” ou afins.

A publicação restringe-se à indicação de algoritmos (fluxogramas) a ser seguidos para o diagnóstico seguro e eficiente das infecções causadas pelos vírus das hepatites; assim, não se abordam os aspectos clínicos dessas infecções. São apresentados oito algoritmos que viabilizam a realização do diagnóstico das hepatites virais em diferentes situações e localidades em que a infraestrutura laboratorial está ou não presente, permitindo o atendimento ideal a todos os cidadãos que buscam esse serviço.

Por fim, os algoritmos aqui propostos destinam-se exclusivamente ao diagnóstico das infecções, não sendo recomendados para estudos epidemiológicos ou para o monitoramento de pacientes já com diagnóstico estabelecido de qualquer uma das hepatites virais.

Desejamos sucesso a todos e colocamo-nos à disposição para esclarecer quaisquer dúvidas por meio do endereço eletrônico clab@aids.gov.br.

Antonio Carlos Nardi

Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS

Fábio Mesquita

Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais

1 Introdução às hepatites virais

As hepatites virais agudas e crônicas são doenças provocadas por diferentes agentes etiológicos, com tropismo[G] primário pelo tecido hepático, apresentando características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais semelhantes, porém com importantes particularidades.

As hepatites virais são causadas por cinco vírus: o vírus da hepatite A (HAV, do inglês *hepatitis A virus*), o vírus da hepatite B (HBV, do inglês *hepatitis B virus*), o vírus da hepatite C (HCV, do inglês *hepatitis C virus*), o vírus da hepatite D (HDV, do inglês *hepatitis D virus*) e o vírus da hepatite E (HEV, do inglês *hepatitis E virus*) (LEMON, 1997). A doença tem um amplo espectro clínico, que varia desde formas assintomáticas, anictéricas[G] e ictéricas[G] típicas, até a insuficiência hepática aguda grave (fulminante). A maioria das hepatites virais agudas é assintomática, independentemente do tipo de vírus. Quando apresentam sintomatologia, são caracterizadas por fadiga, mal-estar, náuseas, dor abdominal, anorexia[G] e icterícia[G]. A hepatite crônica, em geral, cursa de forma assintomática. As manifestações clínicas aparecem quando a doença está em estágio avançado, com relato de fadiga, ou, ainda, cirrose[G]. O diagnóstico inclui a realização de exames em ambiente laboratorial e testes rápidos, a fim de caracterizar a doença e sua gravidade (BRASIL, 2009a).

A distribuição das hepatites virais é universal, sendo que a magnitude dos diferentes tipos varia de região para região. No Brasil, também há grande variação regional na prevalência de cada hepatite (PEREIRA; XIMENES; MOREIRA, 2010).

2 Notificação

As hepatites virais são doenças de notificação compulsória regular (em até sete dias). Portanto, todos os casos confirmados e surtos devem ser notificados e registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan), utilizando-se a Ficha de Investigação das Hepatites Virais. As fichas devem ser encaminhadas ao nível hierarquicamente superior ou ao órgão responsável pela vigilância epidemiológica – municipal, regional, estadual ou federal.

3 Diagnóstico clínico

Os quadros clínicos agudos das hepatites virais são muito diversificados, variando desde formas assintomáticas até formas de insuficiência hepática aguda grave. A maioria dos casos subclínicos cursam com predominância de fadiga, anorexia, náuseas e mal-estar geral. Nos pacientes sintomáticos, o período de doença aguda pode se caracterizar pela presença de urina escura (colúria), fezes esbranquiçadas e icterícia.

As aminotransferases, alanina aminotransferase ou transaminase glutâmico-pirúvica (ALT ou TGP) e aspartato aminotransferase ou transaminase glutâmico-oxalacética (AST ou TGO) são marcadores sensíveis para detecção de lesão do parênquima hepático, porém não são específicas para nenhum tipo de hepatite. Níveis mais elevados de ALT/TGP, quando presentes, não guardam correlação direta com a gravidade da doença. As aminotransferases, na fase mais aguda da doença, podem elevar-se dez vezes acima do limite superior da normalidade. Também são encontradas outras alterações inespecíficas, como elevação de bilirrubinas, fosfatase alcalina e discreta linfocitose.

A hepatite crônica é assintomática na grande maioria dos casos. De modo geral, as manifestações clínicas aparecem apenas em fases adiantadas de acometimento hepático. Muitas vezes, o diagnóstico é feito ao acaso, a partir de alterações esporádicas de exames de avaliação de rotina ou da triagem em bancos de sangue. O diagnóstico das hepatites, principalmente B e C, ocorre na maioria das vezes durante a fase crônica das doenças. É importante que o clínico esteja atento a esse fato para então definir o melhor seguimento do paciente, conforme o protocolo clínico de diretrizes terapêuticas das hepatites B e C. Os referidos protocolos clínicos podem ser acessados em www.aids.gov.br, na seção de publicações.

Vale ressaltar que, nas hepatites B e C, a definição de suas formas crônicas se dá pela presença de replicação viral persistente por mais de seis meses.

Não existem manifestações clínicas ou padrões de evolução dos diferentes agentes. O diagnóstico etiológico só é possível por meio de exames sorológicos e/ou de biologia molecular.

4 Metodologias de diagnóstico das hepatites virais

O diagnóstico das hepatites virais é baseado na detecção dos marcadores presentes no sangue, soro, plasma ou fluido oral[G] da pessoa infectada, por meio de imunoensaios, e/ou na detecção do ácido nucleico viral, empregando técnicas de biologia molecular. O constante avanço tecnológico na área de diagnóstico permitiu o desenvolvimento de técnicas avançadas de imunoensaios, incluindo o de fluxo lateral, que são atualmente empregadas na fabricação de testes rápidos (TR). Os TR são de fácil execução, não exigem infraestrutura laboratorial para a sua realização e podem gerar resultados em até 30 minutos, permitindo ampliar o acesso ao diagnóstico (HEIAT; RANJBAR; ALAVIAN, 2014).

A seguir, são descritas as principais metodologias empregadas no diagnóstico das hepatites virais.

4.1 Imunoensaios

As técnicas de imunoensaio são baseadas na detecção do antígeno viral e/ou anticorpos específicos, como as imunoglobulinas da classe M (IgM), que são as primeiras a aparecer e caracterizam, portanto, uma infecção aguda, e as imunoglobulinas da classe G (IgG), que surgem após as IgM e podem permanecer indefinidamente, servindo como marcador de infecção passada – que caracteriza o contato prévio com o vírus – ou de resposta vacinal.

A seguir, são descritos os principais imunoensaios utilizados para o diagnóstico das hepatites virais.

4.1.1 Ensaio imunoenzimático (ELISA)

O imunoensaio (ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*) é utilizado no diagnóstico das infecções virais por meio da detecção de antígenos e/ou anticorpos específicos contra o patógeno, isoladamente ou combinados.

Em um teste ELISA, para a detecção de anticorpos, um antígeno deve ser imobilizado em uma superfície sólida. O anticorpo presente na amostra do paciente se liga ao antígeno, ficando preso na superfície sólida. Acrescenta-se ao sistema um conjugado (anticorpo ligado a uma enzima), que irá se ligar ao anticorpo preso ao antígeno. A detecção ocorre por meio da incubação desse complexo enzimático (antígeno + anticorpo + anticorpo-enzima) com um substrato que, ao ser consumido pela enzima, produzirá um produto detectável (colorido ou insolúvel). O principal elemento para a estratégia de detecção é uma interação antígeno-anticorpo altamente específica.

Os imunoensaios enzimáticos qualitativos combinados detectam simultaneamente antígenos e anticorpos no plasma ou no soro humano, permitindo a detecção precoce da infecção por combinar em uma única reação a detecção de dois marcadores.

4.1.2 Ensaios luminescentes

A quimioluminescência e eletroquimioluminescência são tipos de luminescência nos quais o evento excitatório é provocado por uma reação química ou eletroquímica, respectivamente. O evento físico de emissão de luz na quimioluminescência e eletroquimioluminescência é semelhante ao da fluorescência. A emissão de luz ocorre a partir de um elétron em estado excitado que retorna ao seu estado fundamental, emitindo um fóton.

Ensaio de quimioluminescência

Os ensaios de quimioluminescência podem ser qualitativos ou quantitativos. Esses ensaios envolvem o uso de uma substância luminescente para detecção da reação antígeno-anticorpo e anticorpo-antígeno. O resultado é definido pela emissão de luz, que é captada e analisada em equipamento próprio. O sistema de detecção por quimioluminescência é muito sensível e específico, mas exige equipamentos especiais e ainda tem custo elevado. No entanto, existem soluções de automação que aumentam a confiabilidade do ensaio e reduzem seu custo, quando este é utilizado em larga escala.

Ensaio de eletroquimioluminescência

A eletroquimioluminescência é um processo por meio do qual a aplicação de uma corrente elétrica induz uma emissão quimioluminescente a partir dos complexos imunológicos (antígeno-anticorpo ou anticorpo-antígeno), contendo espécies químicas[G] altamente reativas presentes em um eletrodo. Essas espécies reagem entre si, produzindo luz. A vantagem do emprego de uma corrente elétrica para o início da reação é que se pode controlar precisamente toda a reação (MATHEW; BIJU; THAPALIA, 2005).

A vantagem desse processo consiste na simplicidade de preparação, na alta estabilidade dos reagentes e em uma grande sensibilidade.

4.1.3 Testes rápidos

Os testes rápidos (TR) constituem imunoensaios cromatográficos de execução simples, que podem ser realizados em até 30 minutos e não necessitam de estrutura laboratorial, embora, a depender da amostra trabalhada, sejam necessários cuidados de biossegurança. Os TR são fundamentais para a ampliação do acesso ao diagnóstico e aumentam a resolutividade do sistema. Além disso, permitem a imediata intervenção médica nos casos que requerem tratamento.

Esses testes são recomendados primariamente para testagens presenciais. Podem ser realizados com fluido crevicular gengival[G] – mais conhecido como fluido oral (FO) – soro, plasma ou sangue total (o que permite o uso de amostras obtidas por punção digital). O curso de capacitação para a realização dos TR está disponível mediante treinamento à distância pelo site www.telelab.aids.gov.br.

Os TR podem ser usados para pesquisar antígenos ou anticorpos contra os agentes infecciosos para os quais foram projetados. Caso o teste se destine à pesquisa de anticorpos, haverá antígenos (geralmente proteínas sintéticas) imobilizados na membrana de nitrocelulose para a captura dos anticorpos presentes na amostra. Caso a pesquisa seja para antígenos, haverá anticorpos imobilizados para a captura dos antígenos presentes na amostra.

Os testes rápidos utilizados para o diagnóstico das hepatites B e C baseiam-se na tecnologia de imunocromatografia de fluxo lateral. O teste para hepatite B permite a detecção do antígeno de superfície do HBV (HBsAg) no soro, plasma ou sangue total. Para hepatite C, o teste detecta o anticorpo anti-HCV no soro, plasma ou sangue total. A sensibilidade analítica[G] dos TR é menor que a dos imunoensaios de laboratório. Tal fato irá influenciar diretamente a janela diagnóstica[G] desses testes, que poderá ser maior do que a observada nos imunoensaios laboratoriais, implicando a não indicação do seu uso como testes de triagem em bancos de sangue (SCHEIBLAUER et al., 2010). Porém, no Brasil, a sua utilização em populações de risco na busca de infecções ativas tem demonstrado elevada sensibilidade (> 97%) nos portadores crônicos de hepatite B (dados não publicados, Fiocruz) e C (DA ROSA et al., 2013; SCALIONI et al., 2014), além de oferecer as vantagens da simplicidade de execução e resultados imediatos.

O uso dos TR constitui uma ferramenta importante no cenário epidemiológico brasileiro, pois a maior parte dos indivíduos é diagnosticada na fase crônica da doença. A seguir, estão descritas as principais situações nas quais o Ministério da Saúde indica o uso de TR:

a) Rede de serviços de saúde sem infraestrutura laboratorial ou localizada em regiões de difícil acesso;

b) Programas do Ministério da Saúde, tais como Rede Cegonha, Programa de Saúde da Família, Consultório na Rua, Quero Fazer, dentre outros;

c) Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) e Unidade de Testagem Móvel (UTM);

d) Segmentos populacionais flutuantes;

e) Populações vulneráveis[G]:

- Hepatite B: homens que fazem sexo com homens, profissionais do sexo, pessoas que fazem uso de drogas, pessoas privadas de liberdade, indivíduos em situação de rua, indígenas, quilombolas, indivíduos nascidos em áreas endêmicas[G];

- Hepatite C: indivíduos com 45 anos de idade ou mais, indivíduos que realizaram transfusão, transplante, compartilhamento de material de injeção, indivíduos em uso de hemodiálise.

f) Comunicantes[G] de pessoas vivendo com hepatites virais;

g) Acidentes biológicos ocupacionais;

h) Gestantes que não tenham sido testadas durante o pré-natal ou cuja idade gestacional não assegure o recebimento do resultado do teste antes do parto;

i) Parturientes e puérperas que não tenham sido testadas no pré-natal, ou quando não se conhece o resultado do teste no momento do parto;

j) Abortamento espontâneo, independentemente da idade gestacional;

k) Laboratórios que realizam pequenas rotinas (rotinas com até cinco amostras diárias para diagnóstico da infecção pela hepatite B ou C);

l) Pessoas em situação de violência sexual;

m) Indivíduos portadores de outras infeções sexualmente transmissíveis (IST);

n) Outras situações especiais definidas pelo Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais (DDAHV) para ações de vigilância, prevenção e controle das infecções sexualmente transmissíveis (IST) e Aids.

Desde 1988, a Organização Mundial da Saúde (OMS) realiza avaliações da qualidade dos conjuntos diagnósticos disponíveis comercialmente para hepatite B, hepatite C e outros agravos. Atualmente, os produtos que atendem aos critérios mínimos de seleção são elegíveis para participar do processo de qualificação da OMS (Tabela 1). Para mais informações, acesse o link: http://www.who.int/diagnostics_laboratory/publications/evaluations/en/

Tabela 1. Critérios de desempenho para testes rápidos aceitos pela Organização Mundial da Saúde (OMS)

Analito	Testes Rápidos
HBsAg[1]	Sensibilidade: 100% Especificidade: ≥98% Variabilidade entre-leituras: ≤5% Taxa de inválidos: ≤5%
Anti-HCV[2]	Sensibilidade: ≥98% Especificidade: ≥97% Variabilidade entre-leituras: ≤5% Taxa de inválidos: ≤5%

(1) Antígeno de superfície do vírus da hepatite B; (2) Anticorpo contra o vírus da hepatite C.
Fonte: WHO, 2013.

O Ministério da Saúde adquire e distribui testes rápidos para as hepatites virais desde 2011, e estabelece os critérios de sensibilidade e especificidade descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Critérios de sensibilidade e especificidade adotados pelo Ministério da Saúde para os testes rápidos adquiridos

	HBV[1]	HCV[2]
Sensibilidade	99,4%	99,4%
Especificidade	99,5%	99,4%

[1] Vírus da hepatite B
[2] Vírus da hepatite C
Fonte: Departamento de DST e Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

4.2 Teste molecular

A reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *polymerase chain reaction*) em tempo real permite o diagnóstico e quantificação dos vírus que causam hepatite por meio da detecção da síntese do *amplicon*[6] durante a reação de PCR, utilizando uma sonda fluorescente ligada a um neutralizador e anelada à sequência-alvo. Durante cada reação de PCR, a DNA polimerase, mediante sua atividade nuclease, libera o fluorocromo repórter, que então emitirá fluorescência. A quantidade de fluorescência liberada durante o ciclo de amplificação e detectada pelo sistema é proporcional à quantidade de *amplicons* gerados a cada ciclo de PCR e, consequentemente, à quantidade inicial de ácido nucleico (CHEVALIEZ; RODRIGUEZ; PAWLOTSKY, 2012).

A escolha do teste molecular deve levar em consideração a diversidade genética do vírus circulante na população. Esse conhecimento é fundamental para garantir a capacidade de detecção das variedades que circulam em nosso país, evitando assim a não detecção de certas populações virais.

5 Período de incubação e janela diagnóstica

As Tabelas 3 e 4 descrevem o período de incubação dos diferentes vírus que causam as hepatites e a janela diagnóstica para os testes disponíveis no Brasil para o diagnóstico das hepatites virais, respectivamente.

Tabela 3. Período de incubação, prevalência de forma ictérica e cronificação da infecção pelos diferentes vírus causadores das hepatites virais

Agente etiológico	Período de incubação	Forma ictérica	Cronificação
HAV[1]	15 a 45 dias	5% a 10% em menores de 6 anos; 70% a 80% em adultos	Não existem relatos de formas crônicas
HBV[2]	30 a 180 dias	30%	90% em recém-nascidos, 5% a 10% após 5 anos de idade
HCV[3]	15 a 150 dias	Cerca de 20%	70% a 85%
HDV[4]	É semelhante ao da hepatite B, porém menor na superinfecção: 15 a 56 dias	Variável	Variável
HEV[5]	15 a 60 dias (média de 42 dias)	Variável	Relatos de cronificação apenas em indivíduos imunossuprimido/ imunodeprimido[G]

(1) Vírus da hepatite A; (2) Vírus da hepatite B; (3) Vírus da hepatite C; (4) Vírus da hepatite delta; (5) Vírus da hepatite E.
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Tabela 4. Janela diagnóstica dos diferentes testes de diagnóstico das hepatites virais disponíveis no Brasil

Agente etiológico	Janela diagnóstica		
	Detecção de anticorpos	Detecção de antígeno	Detecção de ácidos nucleicos
HAV[1]	5 a 10 dias[6]	-	-
HBV[2]	30 a 60 dias	30 dias (HBsAg)	25 dias
HCV[3]	33 a 129 dias[7]	22 a 30 dias	22 dias
HDV[4]	84 dias	-	-
HEV[5]	14 dias	-	-

(1) Vírus da hepatite A; (2) Vírus da hepatite B; (3) Vírus da hepatite C; (4) Vírus da hepatite delta; (5) Vírus da hepatite E; (6) Os anticorpos IgM anti-HAV podem se tornar indetectáveis após a fase aguda; (7) Janela referente aos ensaios de segunda geração; os ensaios de terceira e quarta geração podem apresentar período menor de jan.
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

6 Fluxogramas para o diagnóstico laboratorial das hepatites virais

Os testes de função hepática, especialmente os níveis séricos da ALT/TGP e AST/ TGO, apesar de serem indicadores sensíveis da extensão do dano do parênquima hepático, não são específicos para as hepatites virais.

O diagnóstico sorológico das doenças infecciosas pode ser realizado com, pelo menos, dois testes, um para triagem e um segundo confirmatório. Dois ou mais testes combinados, formando um fluxograma, têm o objetivo de aumentar o valor preditivo positivo (VPP) de um resultado reagente no teste inicial. Na maioria das situações, o fluxograma mais comumente utilizado inclui o emprego de testes em série ou sequenciais (fluxograma em série).

O resultado não reagente é liberado com base em um único teste. Entretanto, caso persista a suspeita da infecção, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta da primeira amostra.

O fluxograma em série é lógico e custo-efetivo. No caso de resultados discordantes, os testes devem ser repetidos e, permanecendo a discordância, a pessoa deve ser testada após aproximadamente 30 dias para confirmar ou descartar a infecção, como no caso das hepatites B e C. Finalmente, é importante selecionar a correta combinação de testes para garantir o diagnóstico preciso.

Por outro lado, ao definirmos o fluxograma como “um método para resolver um problema utilizando um número definido de etapas”, fica claro que mais de um fluxograma será necessário para cobrir todas as necessidades de triagem e confirmação da infecção pelas hepatites virais, nas diferentes configurações de testes e perfis de pacientes que esse diagnóstico requer. Apresentamos a seguir oito fluxogramas para a testagem das hepatites virais, considerando diversas situações nas quais se faz necessária a realização do diagnóstico da infecção, e suas respectivas fundamentações técnicas.

Os fluxogramas de números 1, 3 e 7 são os preferenciais para serem adotados pelos serviços quando estes se deparam com os pedidos médicos que solicitam **“sorologia de hepatite”** sem explicitar quais os marcadores a serem investigados. Estes fluxogramas agilizam o diagnóstico da infecção e também apresentam melhor resolutividade.

Os fluxogramas aqui representados são opções que apresentam o melhor custo-benefício para o diagnóstico sorológico das hepatites A, B e C, sem comprometer a qualidade do diagnóstico, e devem ser adotados por todos os que realizam o diagnóstico das hepatites virais. Por esse motivo, são indicados pelo DDAHV como sendo os de primeira escolha nas situações para as quais está recomendada a sua aplicação.

7 O vírus da hepatite A (HAV)

A principal via de contágio do HAV é a fecal-oral, por contato inter-humano ou por meio de água e alimentos contaminados. Contribuem para a transmissão a estabilidade do HAV no meio ambiente e a grande quantidade de vírus presente nas fezes dos indivíduos infectados. A transmissão parenteral é rara, mas pode ocorrer se o doador estiver na fase de viremia do período de incubação. A disseminação está relacionada com a precariedade da infraestrutura de saneamento básico e condições de higiene praticadas. Nas regiões com mais problemas de infraestrutura de saneamento básico e de tratamento da água, as pessoas são expostas ao HAV em idades mais precoces, apresentando formas subclínicas ou anictéricas da doença. Na maioria dos casos, a hepatite A é autolimitada e de caráter benigno, sendo que a insuficiência hepática aguda grave ocorre em menos de 1% dos casos. Esse percentual é maior em pacientes idosos. Normalmente, os pacientes mais velhos apresentam doença sintomática e de resolução mais lenta. Pessoas que já tiveram hepatite A apresentam imunidade para tal doença, mas permanecem susceptíveis às outras hepatites virais (BRASIL, 2009b).

7.1 Partícula viral

O HAV pertence à família *Picornaviridae,* sendo representante único do gênero *Hepatovirus* (ICTV, 2014). O HAV é formado por um capsídeo de formato icosaédrico, composto pelas proteínas estruturais VP1, VP2 e VP3, o qual envolve o genoma viral (Figura

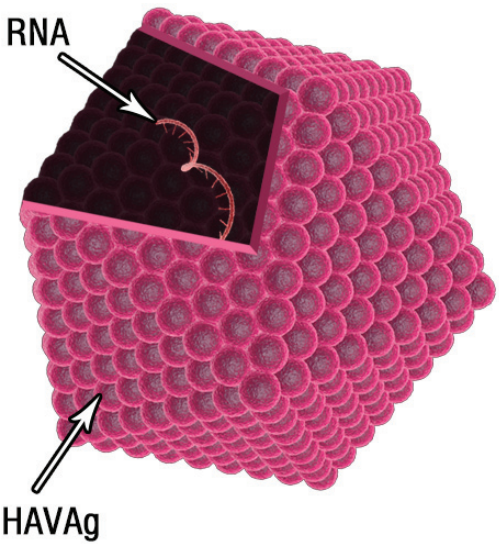


Figura 1. Estrutura da partícula do vírus da hepatite A (HAV)
Fonte: Brasil, 2014.

O genoma do HAV é constituído por uma molécula de RNA de fita simples, com polaridade positiva, que também funciona como RNA mensageiro. Com, aproximadamente, 7,5 kilobases (kb), o genoma viral apresenta uma única fase de leitura aberta (ORF, do inglês *open reading frame*), com três regiões distintas (P1, P2 e P3), flanqueada por regiões não traduzidas (NT): a região 3´NT e a 5´NT. A ORF é traduzida em uma única poliproteína com, aproximadamente, 2.225 aminoácidos. Seguindo a região 5´NT, a região P1 codifica as três principais proteínas estruturais do capsídeo, VP1, VP2 e VP3. Uma quarta proteína viral do capsídeo, a VP4, que é essencial para a formação do vírion, não é detectada nas partículas virais maduras. As proteínas não estruturais necessárias para replicação viral são codificadas pelas regiões P2 (2A, 2B, 2C) e P3 (3A, 3B, $3C^{pro}$, $3D^{pol}$) (Figura 2). O processamento da poliproteína ocorre simultaneamente à tradução, sob atividade da protease viral $3C^{pro}$ (GASPAR; VITRAL; DE OLIVEIRA, 2013; LEMON, 1997; NAINAN et al., 2006).

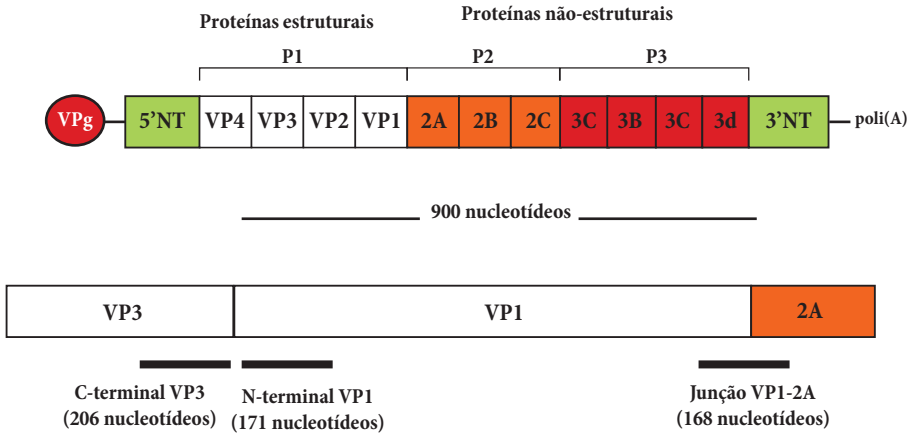


Figura 2. Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite A (HAV)
Fonte: Modifiacado de: Costa-Mattioli et al.,2003

7.2 Ciclo replicativo

Após a desencapsidação do RNA viral, ocorre a síntese da poliproteína (GASPAR; VITRAL; DE OLIVEIRA, 2013).

Para a replicação do genoma, o HAV sintetiza uma cópia de RNA complementar de polaridade negativa (intermediário replicativo), a qual servirá de molde para a síntese de novas fitas de polaridade positiva. A síntese das fitas positivas ocorre dentro do retículo endoplasmático liso e é auxiliada pelas proteínas não estruturais recém-formadas. Essas novas moléculas de RNA positivas podem ser traduzidas para a síntese de novas proteínas virais, servir de molde para a síntese de outras proteínas virais ou, ainda, ser empacotadas para a formação de novas partículas virais (GASPAR; VITRAL; DE OLIVEIRA, 2013).

A última etapa do ciclo replicativo consiste na montagem da partícula viral. As três proteínas do capsídeo, VP1, VP2 e VP3, são montadas em uma estrutura icosaédrica, contendo 60 cópias de cada proteína (GASPAR; VITRAL; DE OLIVEIRA, 2013).

A Figura 3 ilustra as principais etapas do ciclo replicativo do HAV.

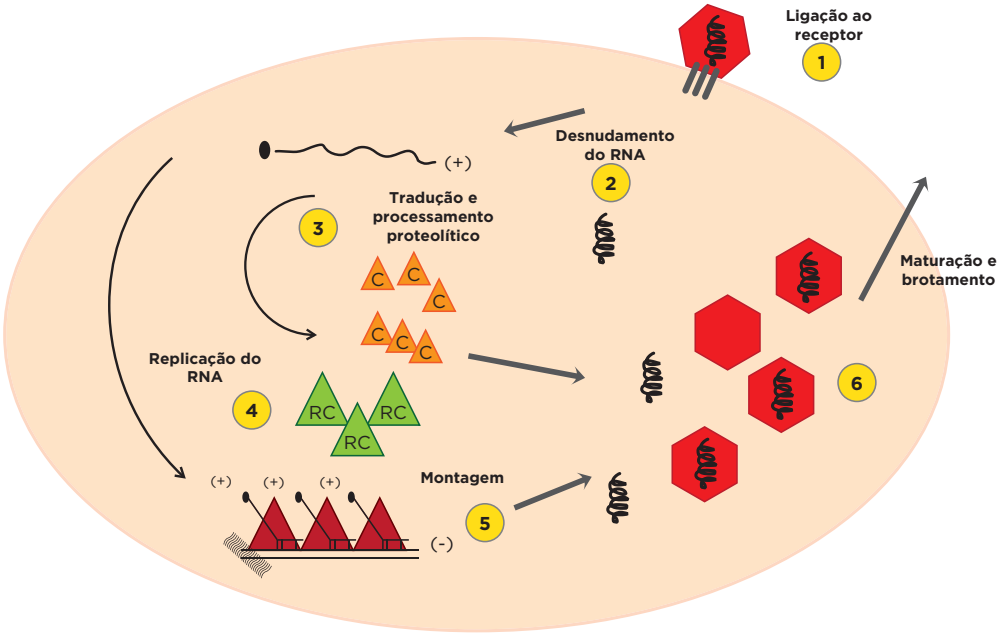


Figura 3. Ciclo replicativo do vírus da hepatite A (HAV)
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

7.3 Variabilidade genética

Estudos de variabilidade genética do HAV permitiram sua classificação em seis genótipos: três de origem humana (I, II e III) e três de origem símia (IV, V e VI) (GASPAR; VITRAL; DE OLIVEIRA, 2013; NAINAN et al., 2006).

A distribuição geográfica dos genótipos do HAV é variável. O genótipo I apresenta distribuição global. Na América do Norte, China, Japão e diversos países da Europa, os subgenótipos IA e IB são os mais frequentes. Já na América do Sul, observa-se a circulação exclusiva do subgenótipo IA (GASPAR; VITRAL; DE OLIVEIRA, 2013). Diferentemente do restante da América do Sul, no Brasil é possível identificar os genótipos IA e IB em circulação (VILLAR et al., 2006).

7.4 História natural da doença

A manifestação da hepatite A é abrupta e os sintomas da doença incluem: indisposição, fadiga, anorexia, náuseas, vômito, desconforto abdominal, febre, urina escura, fezes pálidas e icterícia do recobrimento conjuntival da esclera (LEMON, 1997; MATHENY; KINGERY, 2012; NAINAN et al., 2006). Pode ainda ocorrer diarreia em metade das crianças infectadas, o que entretanto é incomum em adultos (LEMON, 1997).

Por causa da sua capacidade de resistir ao pH ácido, o HAV passa pelo estômago, replicando-se no trato digestivo, e atravessa o epitélio intestinal, chegando às vias mesentéricas e ao fígado pelo sistema porta. O vírus se replica no hepatócito e é excretado pelos canais biliares, atingindo o intestino por meio da bile, onde, finalmente, é eliminado nas fezes (NAINAN et al., 2006). Apesar da possibilidade de existência de replicação extra-hepática, o vírus da hepatite A é órgão específico, e a patologia relacionada à infecção está praticamente restrita ao fígado (DA CONCEIÇAO; SICILIANO; FOCACCIA, 2013).

A idade de aquisição da doença exerce importante influência na evolução clínica. A infecção, quando ocorre em crianças menores de seis anos, está, frequentemente, associada a quadro clínico pouco sintomático ou assintomático, enquanto as infecções em indivíduos com mais de 50 anos evoluem de forma mais grave e sintomática, ocorrendo icterícia em mais de 70% dos pacientes. O período de incubação é, em média, de 28 dias, podendo variar de 15 a 50 dias, não existindo relatos de infecção por HAV levando a hepatite crônica ou hepatocarcinoma. No entanto, existem casos de evolução para hepatite fulminante (DA CONCEIÇAO; SICILIANO; FOCACCIA, 2013; LEMON, 1997; MATHENY; KINGERY, 2012).

Durante a fase aguda, ocorre viremia inicial acompanhada de eliminação fecal do vírus. A infecciosidade se verifica a partir de duas semanas antes até, pelo menos, uma semana após o início da icterícia, de outros sintomas clínicos ou da elevação dos níveis das enzimas hepáticas. A viremia nas fezes está presente após cerca de uma a duas semanas após a exposição ao HAV e persiste, em média, por 79 dias após o pico de ALT (DA CONCEIÇAO; SICILIANO; FOCACCIA, 2013; NAINAN et al., 2006). O período total da viremia é, em média, de 79 dias (variando de 36 a 391 dias). A concentração viral no soro é de duas a três unidades logarítmicas (log_{10}) menor que nas fezes. O vírus também é liberado na saliva da maioria dos pacientes, mas nenhum dado epidemiológico sugere que a saliva possa ser uma fonte importante de transmissão de HAV (Figura 4) (NAINAN et al., 2006).

A infecção por HAV, tradicionalmente, é dividida em duas fases. A primeira consiste na fase não citopática, durante a qual a replicação viral ocorre exclusivamente no citoplasma do hepatócito. A segunda fase corresponde à citopática, apresentando infiltração portal e zonal, necrose e erosão da placa limitante. Dano hepatocelular e destruição não são resultados de um efeito citopático direto do HAV, mas um processo mediado pela resposta imune do hospedeiro. Uma resposta imunológica excessiva, refletida por uma redução acentuada do RNA viral durante a infecção aguda, está associada com hepatite aguda e, eventualmente, com a forma fulminante (DA CONCEIÇAO; SICILIANO; FOCACCIA, 2013).

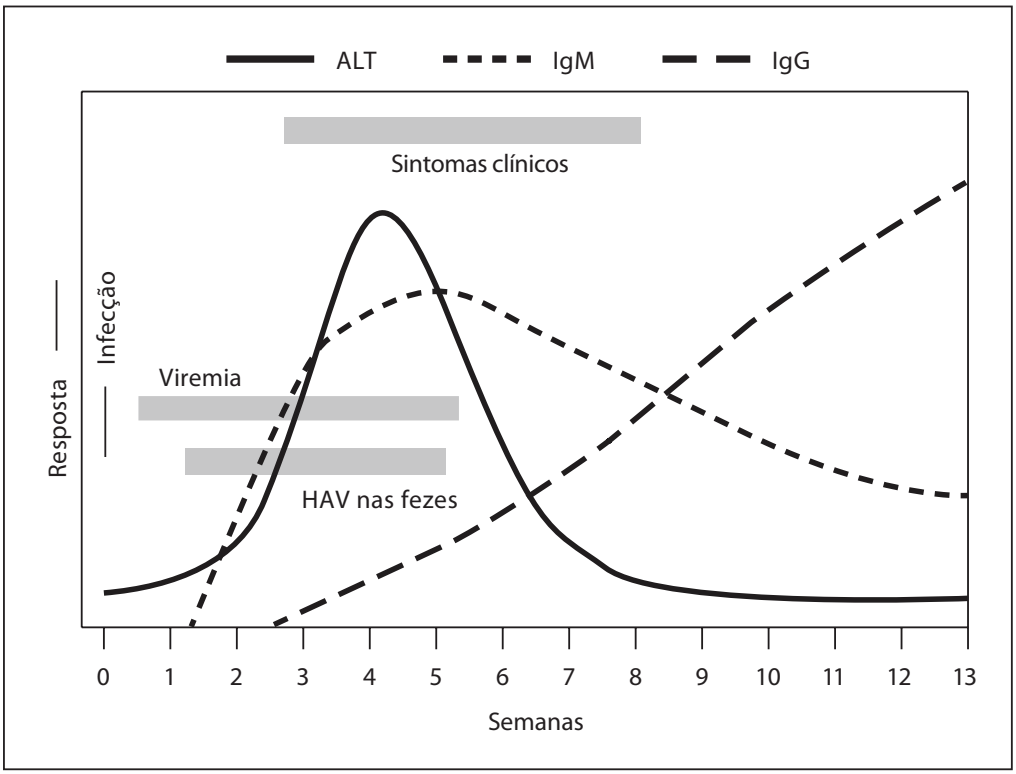


Figura 4. Curso natural da infecção pelo vírus da hepatite A (HAV)
Fonte: Adaptado de MATHENY; KINGERY, 2012.

7.5 Resposta imune contra o HAV

As respostas imunes humorais e celulares costumam manifestar-se pouco antes da elevação das transaminases. A imunoglobulina da classe IgM anti-HAV pode ser detectada antes ou no momento de manifestação dos sintomas clínicos e declinam em cerca de três a seis meses, tornando-se indetectáveis pelos testes diagnósticos comerciais disponíveis. A imunoglobulina da classe IgG anti-HAV surge logo após o aparecimento da IgM e pode persistir indefinidamente, conferindo imunidade ao indivíduo. Dessa forma, na fase aguda de infecção, são encontradas ambas IgM e IgG. Em indivíduos previamente infectados, encontra-se somente a IgG (DA CONCEIÇAO; SICILIANO; FOCACCIA, 2013; NAINAN et al., 2006).

Os anticorpos neutralizantes representam o principal mecanismo de proteção contra o vírus. São normalmente direcionados contra proteínas de superfície, em especial as proteínas de capsídeo VP1 e VP3. A detecção de anticorpos que reconhecem as proteínas não estruturais da região P2 permite diferenciar infecção (presença desse anticorpo) de vacinação (ausência desse anticorpo) como fontes de determinantes antigênicos (CUTHBERT, 2001).

7.6 Diagnóstico

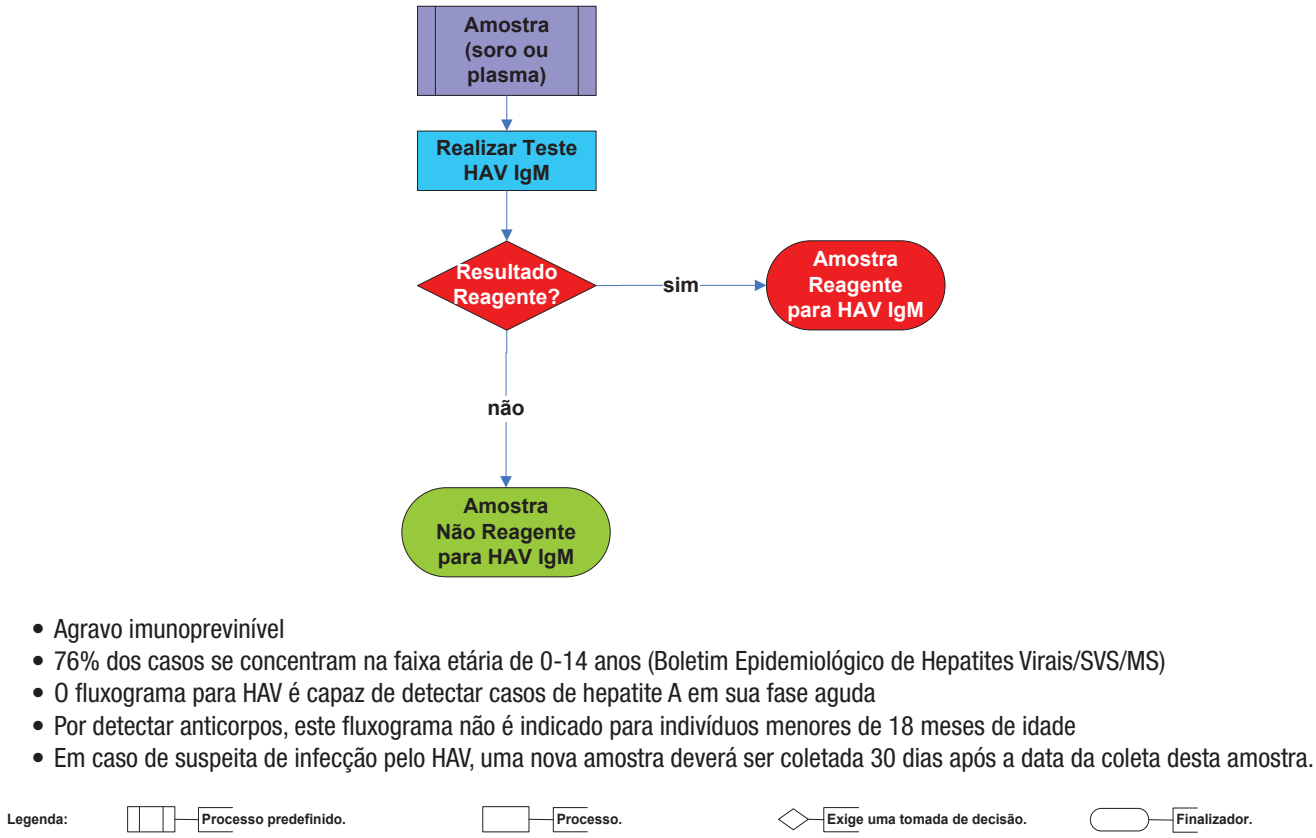
O diagnóstico da hepatite A é realizado por meio de imunoensaios que detectam IgM anti-HAV. Esses testes podem tornar-se positivos entre 5 e 10 dias após a infecção, desde que existam altas concentrações de IgM anti-HAV; porém, não são capazes de detectar baixas concentrações de IgM anti-HAV, situação que pode ser observada entre quatro e seis meses após a infecção aguda. Os imunoensaios para IgM anti-HAV apresentam sensibilidade de 100%, especificidade de 99% e valor preditivo positivo de 88%. Resultados falso-positivos podem ocorrer e, portanto, o teste sorológico deve ser realizado apenas em indivíduos sintomáticos. Os testes para anti-HAV total (IgM e IgG) permanecem reagentes após a infecção ou imunização durante toda a vida do paciente, sendo úteis apenas para identificar indivíduos em risco que não tiverem sido previamente imunizados (CUTHBERT, 2001; MATHENY; KINGERY, 2012).

No fluido oral (FO), soro, urina e fezes podem ser detectados os anticorpos IgG anti-HAV. Os testes que utilizam FO são indicados como uma alternativa ao teste sorológico convencional, devido à simplicidade da coleta de amostra. Vários estudos já demonstraram os benefícios de se implementar o teste de FO como ferramenta de triagem na investigação de surtos e em estudos epidemiológicos. A sensibilidade de detecção do anti-HAV no FO é de uma a três unidades logarítmicas menores que no soro (NAINAN et al., 2006), e, entretanto, essa sensibilidade ainda é aceitável para utilização nas situações acima.

7.7 Fluxograma 1. Diagnóstico para a infecção pelo vírus da hepatite A (HAV)

O Fluxograma 1 (Figura 5) emprega um imunoensaio capaz de detectar anticorpos IgM anti-HAV em amostras de soro.

Indicação de uso



- Agravo imunopreviníveL
- 76% dos casos se concentram na faixa etária de 0-14 anos (Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais/SVS/MS)
- O fluxograma para HAV é capaz de detectar casos de hepatite A em sua fase aguda
- Por detectar anticorpos, este fluxograma não é indicado para indivíduos menores de 18 meses de idade
- Em caso de suspeita de infecção pelo HAV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra.

Figura 5. Fluxograma para o diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite A (HAV)
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Deve-se utilizar esse fluxograma quando houver uma solicitação para "sorologia da hepatite A", "diagnóstico de HAV" ou termos afins.

O mesmo fluxograma deve ser utilizado em conjunto com os Fluxogramas 3 e 7, indicados para o diagnóstico do HBV e HCV, quando houver uma solicitação para **"sorologia de hepatite"** sem explicitar quais os marcadores a ser investigados.

Laudo

A amostra com resultado não reagente no imunoensaio será definida como: **"Amostra não reagente para HAV IgM"**.

A amostra com resultado reagente no imunoensaio será definida como: **"Amostra reagente para HAV IgM".** O laudo deverá ser emitido com a seguinte ressalva**: "Resultado reagente para o HAV IgM indica infecção aguda pelo vírus da hepatite A"**

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes

realizados, o ponto de corte (CO, do inglês *cut-off)* e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual. Os laudos deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Todos os laudos devem ser emitidos com as seguintes observações:

- "A vacina contra a hepatite A faz parte do calendário de vacinação do SUS para crianças menores de 12 a 23 meses. Além disso, ela está disponível nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE), sendo indicada para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites".
- "A vacina contra a hepatite B faz parte do calendário de vacinação da criança e está disponível nas salas de vacina do Sistema Único de Saúde (SUS) para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites".

Considerações para o uso do fluxograma

Esse fluxograma é indicado para o diagnóstico de uma infecção aguda pelo HAV. Caso o indivíduo não esteja na fase aguda da infecção, o resultado poderá ser não reagente. Nesse caso, o médico poderá solicitar um HAV IgG para verificar exposição ao vírus.

O resultado reagente em uma amostra na pesquisa pelo anticorpo IgM anti- HAV indica exposição recente ao HAV.

O fluxograma não é adequado para o diagnóstico da infecção pelo HAV em imunossuprimido/imunodeprimido[G] e crianças com idade igual ou inferior a 18 meses.

8 O vírus da hepatite B (HBV)

A transmissão do HBV se faz por via parenteral e, sobretudo, pela via sexual, sendo a hepatite B considerada uma IST. Dessa forma, o HBV pode ser transmitido por solução de continuidade (pele e mucosa), relações sexuais desprotegidas e por via parenteral (compartilhamento de agulhas e seringas, tatuagens, *piercings*, procedimentos odontológicos ou cirúrgicos, etc.). Outros líquidos orgânicos, como sêmen, secreção vaginal e leite materno podem igualmente conter o vírus e constituir fontes de infecção. A transmissão vertical (de mãe para filho) também é causa frequente de disseminação do HBV em regiões de alta endemicidade. De maneira semelhante às outras hepatites, as infecções causadas pelo HBV são habitualmente anictéricas. A cronificação da doença, ou seja, a persistência do vírus por mais de seis meses, ocorre em, aproximadamente, 5% a 10% dos indivíduos adultos infectados. Caso a infecção ocorra por transmissão vertical, o risco de cronificação dos recém-nascidos de gestantes com evidências de replicação viral (HBeAg reagente e/ou HBV DNA $> 10^4$) é de cerca de 70% a 90%, e entre 10 a 40% nos casos sem evidências de replicação do vírus. Cerca de 70% a 90% das infecções ocorridas em menores de cinco anos se cronificam, e 20% a 25% dos casos crônicos com evidências de replicação viral evoluem para doença hepática avançada (cirrose e hepatocarcinoma). Uma particularidade dessa infecção viral crônica é a possibilidade de evolução para câncer hepático, independentemente da ocorrência de cirrose, fato considerado pré-requisito nos casos de surgimento de carcinoma hepatocelular nas demais infecções virais crônicas, como a hepatite C.

8.1 Partícula viral

O HBV pertence à família *Hepadnaviridae* (vírus de DNA hepatotrópicos), que inclui vírus capazes de infectar diferentes animais. A partícula viral infecciosa do HBV (Figura 6) tem, aproximadamente, 42nm e inclui um nucleocapsídeo proteico (HBcAg) de aproximadamente 27nm. Ela é envolta por um envelope lipoproteico originado da última célula infectada pelo vírus, contendo as três formas do antígeno de superfície viral (HBsAg). Ainda dentro da partícula, está presente a enzima DNA polimerase viral, que irá completar o genoma do vírus durante a infecção (FIELDS; KNIPE; HOWLEY, 2007).

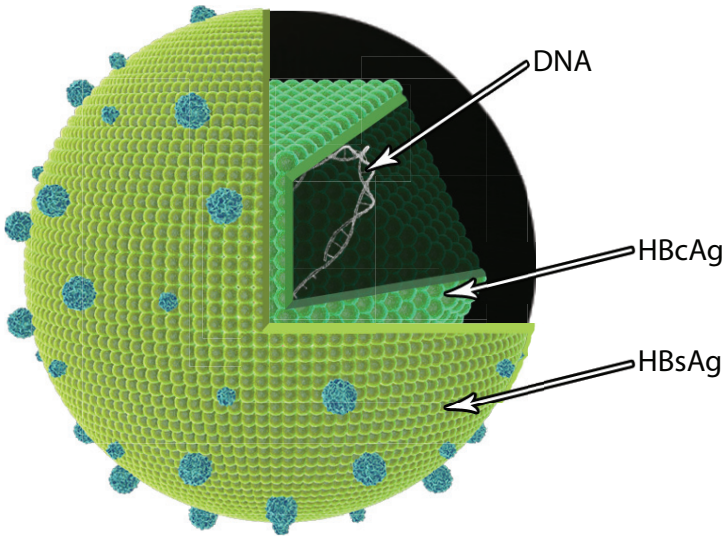


Figura 6. Estrutura da partícula do vírus da hepatite B (HBV)
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

O genoma do HBV (Figura 7) é composto por uma molécula de DNA parcialmente duplicada de, aproximadamente, 3.200 pares de bases (3,2kb). O genoma viral possui quatro fases abertas de leitura (ORFs) para a produção das proteínas virais: capsídeo, envelope, DNA polimerase e proteína regulatória X. A tradução do produto da ORF que codifica a proteína de envelope pode produzir as três formas dessa proteína: pequena (pré-S1), média (pré-S2) e grande (S). As três formas da proteína de envelope do vírus da hepatite B dão origem ao antígeno "*s*" do vírus da hepatite B (HBsAg). A ORF da proteína de capsídeo pode ser traduzida tanto na região Pré-Core (PréC) quanto na região do capsídeo (ou core). Os produtos de PréC são processados no retículo endoplasmático e um dos produtos de processamento é secretado da célula, dando origem ao antígeno "e" do vírus da hepatite B (HBeAg) (FIELDS; KNIPE; HOWLEY, 2007; LIANG, 2009).

8.2 Variabilidade genética

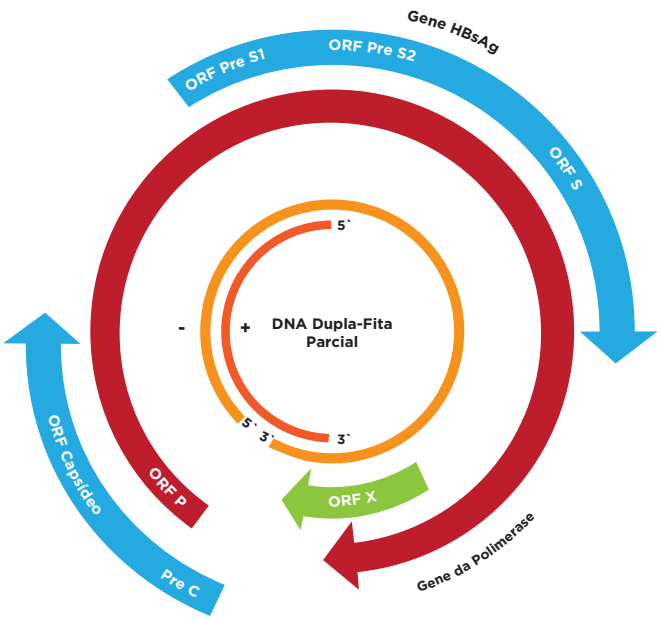


Figura 7. Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite B (HBV) mostrando as fases abertas de leitura (ORF) existentes
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Apesar de o HBV ser um vírus de DNA, a ausência de atividade revisora da DNA polimerase viral (que também tem função de transcriptase reversa) lhe confere uma grande diversidade genética, sendo identificados oito genótipos (denominados pelas letras de A até J), que podem apresentar uma divergência de 8% ou mais em relação às suas sequências nucleotídicas completas e com distribuição geográfica distinta (MELLO et al., 2007; SABLON; SHAPIRO, 2005; TATEMATSU et al., 2009; TRAN; TRINH; ABE, 2008).

A história evolutiva do HBV ainda não foi totalmente elucidada, mas estudos baseados em reconstruções filogenéticas do vírus estimam que a divergência entre os subtipos tenha ocorrido há menos de 6.000 anos. Ainda são necessárias análises extensas para que as divergências evolutivas do vírus sejam identificadas (GÜNTHER, 2006).

Segundo estimativas baseadas em doadores de sangue, a distribuição dos genótipos no Brasil é variada, com circulação predominante dos genótipos A, D e F (ARAUJO et al., 2004; MELLO et al., 2007).

8.3.Ciclo replicativo

O HBV é capaz de infectar, primariamente, células hepáticas. Os receptores de membrana usados pelo vírus ainda não estão completamente elucidados. O ciclo replicativo viral encontra-se esquematicamente representado na Figura 8. Após o reconhecimento dos receptores, a partícula viral é internalizada por endocitose, o envelope viral é removido e o capsídeo é liberado no citoplasma. Após ser transportado para o poro nuclear, o capsídeo libera o genoma no interior do núcleo celular. Uma vez no núcleo, o genoma viral se liga a fatores de reparo de DNA celulares e é maturado na forma de DNA circular covalentemente fechado (cccDNA, do inglês *circular covalently closed DNA*). Essas moléculas se mantêm de forma episssômica no núcleo celular e são usadas pela RNA polimerase II celular para transcrever RNAs mensageiros pré-genômicos e subgenômicos, que são transportados ao citoplasma para ser traduzidos em proteínas virais. Essas últimas serão usadas para a produção de novas partículas virais, ou são encapsuladas nas partículas nascentes junto à polimerase viral para, então, serem retrotranscritas, gerando assim novos genomas virais (FIELDS; KNIPE; HOWLEY, 2007; GERLICH, 2013).

Os capsídeos virais montados podem migrar novamente para o núcleo, liberando novos genomas virais no nucleoplasma, ou podem ser usados para a montagem de novos vírions em corpos multivesiculares, que serão

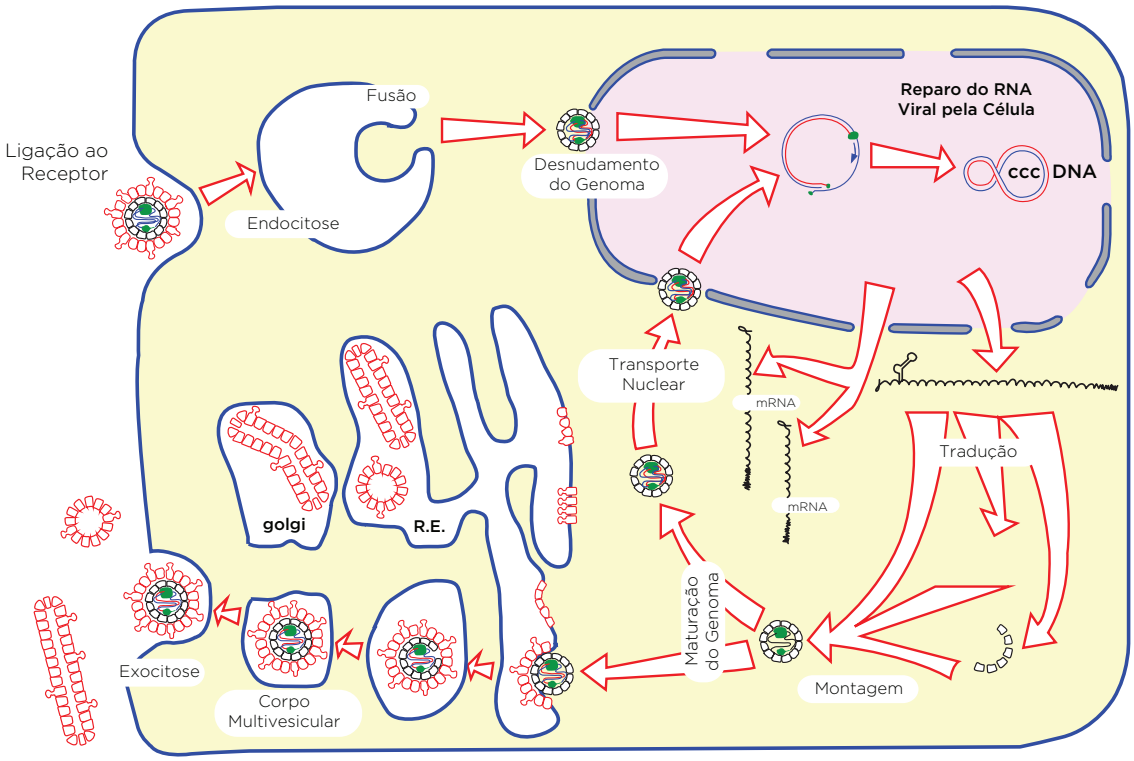


Figura 8. Ciclo replicativo do vírus da hepatite B (HBV)
Fonte: Adaptada de GERLICH, 2013.

liberados no meio extracelular. Adicionalmente, partículas subvirais são liberadas pela via trans-Golgi. Tais partículas podem ser filamentosas ou esféricas e, diferente da partícula de Dane (partícula viral completa), não são infecciosas (Figura 9). Essas partículas subvirais correspondem à maior parte do HBsAg detectado na corrente sanguínea dos indivíduos portadores do HBV (GERLICH, 2013; LEE; AHN, 2011).

8.4 História natural da doença

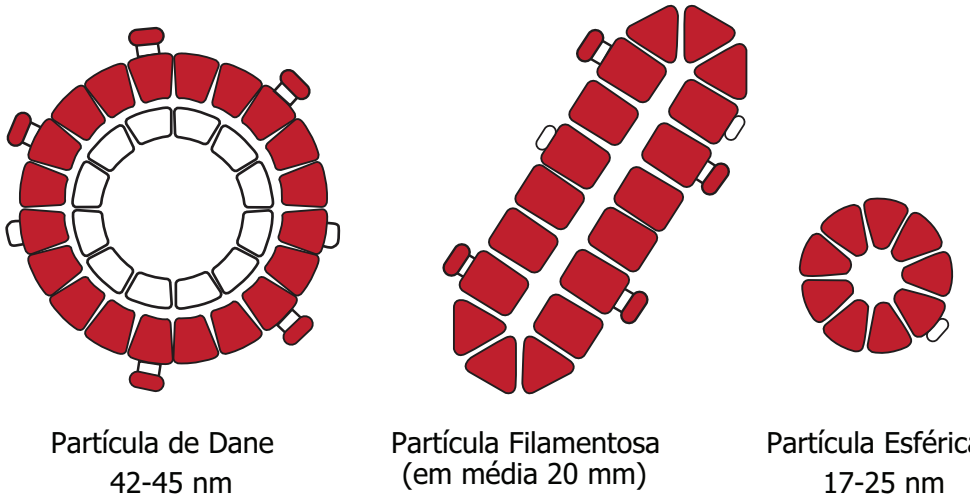


Figura 9. Representação esquemática da estrutura das partículas virais e subvirais do vírus da hepatite B (HBV)
Fonte: Adaptada de LEE; AHN, 2011.

A hepatite B pode se apresentar de forma aguda ou crônica nos indivíduos infectados. As hepatites agudas benignas costumam ser identificadas pelo aumento dos níveis séricos das aminotransferases, o que leva o indivíduo a apresentar sintomas de uma infecção viral inespecífica, com leves alterações gastrintestinais. Após essa fase inicial, pode ocorrer a forma ictérica da doença, seguida de uma fase de convalescença, com melhora progressiva do quadro clínico do indivíduo (GONÇALVES JUNIOR, 2013). Tipicamente, durante a hepatite B aguda, o DNA viral pode ser detectado com o uso de técnicas moleculares na circulação durante um período de um mês a partir da infecção. No entanto, por um período de seis semanas, esses níveis serão relativamente baixos – 10^2-10^4 cópias de genoma viral por mililitro. Os picos de detecção para o DNA do HBV e dos antígenos virais (HBeAg e HBsAg) acontecem após esse período de seis semanas. A presença dos antígenos virais é variável e, dependendo da fase da doença, eles poderão não ser detectados (ASPINALL et al., 2011). A primeira resposta humoral, normalmente, ocorre contra o antígeno core do HBV (HBcAg) e os anticorpos IgM surgem precocemente. Mais tardiamente, surgem os anticorpos IgG-AntiHBc, que persistem pela vida do paciente, independentemente do curso da infecção. Entre 10 e 15 semanas após a infecção, os níveis séricos de ALT e AST começam a se elevar, indicando dano hepático mediado por resposta a células T. Experimentos em animais demonstraram que o DNA do HBV no soro pode se tornar indetectável antes que o pico de secreção de ALT seja atingido (GUIDOTTI et al., 1999). No entanto, técnicas moleculares modernas são capazes de detectar uma carga viral abaixo de 100 cópias de genomas virais por mililitro de sangue (SILVA et al., 2004). Mais de 90% dos adultos infectados conseguem reverter os sintomas e desenvolver anticorpos específicos contra os antígenos HBeAg e HBsAg circulantes, que garantem proteção de longo prazo contra a doença. Apesar da recuperação clínica, o DNA do HBV ainda pode ser detectado em níveis basais e sua expressão é controlada pela imunidade humoral e celular (FIELDS; KNIPE; HOWLEY, 2007). No caso da ocorrência de mutantes nas regiões pré-core e core basal, a expressão do HBeAg será alterada e este marcador pode não ser detectado, assim como não ocorrerá a soroconversão para o anti-HBe (SITNIK; PINHO, 2004).

O HBV estabelece infecções crônicas, primariamente, por transmissão vertical de mães infectadas para o neonato, que ainda não possui um sistema imune totalmente desenvolvido. A infecção do feto pelo HBV é dependente do estado imune e da carga viral[G] da mãe, fatores que podem permitir ao vírus atravessar a barreira placentária. Situações que levam à mistura do sangue da mãe e do feto também possibilitam a infecção. Por isso, a maior parte das infecções ocorre durante o parto, e a transmissão é maior no parto normal do que na cesariana (JONAS, 2009).”

A infecção crônica é definida pela presença persistente do HBsAg no soro de um indivíduo por um período de seis meses ou mais (ASPINALL et al., 2011; BRASIL, 2009b; WHO, 2002). Como durante o percurso da infecção podem ocorrer integrações de parte do genoma do HBV ao genoma do hospedeiro, é possível haver indivíduos com HBsAg circulante, mesmo com replicação viral mínima ou inexistente no fígado. Por isso, o critério de definição da infecção crônica com base na presença de HBsAg circulante pode incluir um amplo espectro de estados virológicos e patológicos que devem ser avaliados em correlação com o estado clínico do paciente (ASPINALL et al., 2011; SEEGER; MASON, 2000). A infecção pelo HBV em pacientes que não apresentam o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) detectável é denominada de infecção oculta (IOB[G]). Estudos afirmam que a prevalência desse tipo de infecção é reduzida na população geral, sendo mais presente entre pessoas que fazem uso de drogas injetáveis, pessoas imunossuprimidas e hemodialisados (FERREIRA et al., 2009; MATOS et al., 2013; OCANA et al., 2011; SILVA et al., 2004).

De forma geral, a infecção crônica pelo HBV pode ser dividida em quatro fases (BRASIL, 2011):

- **Imunotolerância:** ocorre elevada replicação viral, com tolerância do sistema imune e sem evidência de agressão hepatocelular (transaminases normais ou próximas do normal).
- **Imunorreação:** com o esgotamento da tolerância imunológica, ocorre agressão aos hepatócitos, nos quais ocorre a replicação viral, gerando elevação das transaminases.
- **Portador inativo:** essa fase é caracterizada por níveis baixos ou indetectáveis de replicação viral, com normalização das transaminases e, habitualmente, soroconversão para anti-HBe. O escape viral pode ocorrer por integração do DNA viral ao genoma das células hospedeiras ou mediante escape viral por depressão da atividade imunológica do hospedeiro, seja por meio de mutações virais, seja por tratar-se de pacientes imunodeprimidos.
- **Reativação:** em seguida à fase do portador inativo, pode ocorrer reativação viral, com retorno da replicação.

A hepatite B é uma doença imunoprevenível; a vacina é altamente eficiente e é disponibilizada pelo governo brasileiro em seus serviços de saúde, fazendo parte do calendário de vacinações infantis. Qualquer indivíduo que se enquadre nos critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde tem acesso à vacina (BRASIL, [20-?]). Outras formas de prevenção da infecção são a adoção de práticas sexuais seguras com o uso de preservativo e o não compartilhamento objetos de uso pessoal, como lâminas de barbear e depilar, escovas de dente, material de manicure e pedicure, equipamentos para uso de drogas, confecção de tatuagem e colocação de *piercings* (BRASIL, [20-?]).

8.5 Resposta imune

A infecção pelo HBV pode ser espontaneamente curada (desaparecimento viral) antes do desenvolvimento de uma resposta imune humoral. O papel da resposta imune inata na resolução da infecção pelo HBV ainda não está totalmente elucidado. No entanto, esta não pode ser descartada, em virtude de observações laboratoriais em que o HBV desapareceu da circulação e do fígado antes que se tenha detectado qualquer resposta imune adaptativa (GUIDOTTI et al., 1999). Os efeitos antivirais dos interferons de tipo I (IFN-α e IFN-β) já foram demonstrados em laboratório. Nesses modelos laboratoriais, o IFN-α e o IFN-β foram capazes de induzir um mecanismo de inibição na formação de novos capsídeos do HBV, bem como de desestabilizar os capsídeos existentes e degradar RNA do HBV recentemente sintetizado (MCCLARY et al., 2000). Adicionalmente, a inibição da replicação do HBV pode também ser mediada pela ação do IFN-γ, que é produzido por células NK e por células T ativadas (BARON et al., 2002; KAKIMI et al., 2001).

Pacientes capazes de recuperar-se espontaneamente da infecção pelo HBV, normalmente, apresentam uma resposta imunológica vigorosa e multi-epítopo[G], mediada por células T CD4+ e CD8+ detectáveis no sangue circulante. Essa resposta CD8+ é determinante na recuperação do paciente (KAKIMI et al., 2001; THIMME et al., 2003).

Anticorpos específicos contra o HBV, juntamente com a pesquisa por antígenos e ácidos nucleicos virais, são importantes indicadores para estágios específicos da doença (Figura 10). A IgM anti-HBc é um marcador do início da infecção, enquanto que anticorpos específicos para o HBeAg e para o HBsAg indicam uma resolução favorável para a infecção (FUNG et al., 2014; MARUYAMA et al., 1993). Estudos recentes mostram que a avaliação da carga viral do paciente é o marcador mais informativo sobre a evolução da doença hepática causada pelo HBV (GONÇALVES JUNIOR, 2013; NGUYEN; KEEFFE, 2008; NGUYEN; LOCARNINI, 2009). Os anticorpos anti-HBs são neutralizantes e capazes de mediar imunidade preventiva, sendo induzidos pela vacinação. Os anticorpos anti-HBc e anti-HBs persistem por longos períodos no indivíduo, sendo que o anticorpo anti-HBs confere proteção contra o vírus (MARUYAMA et al., 1993).

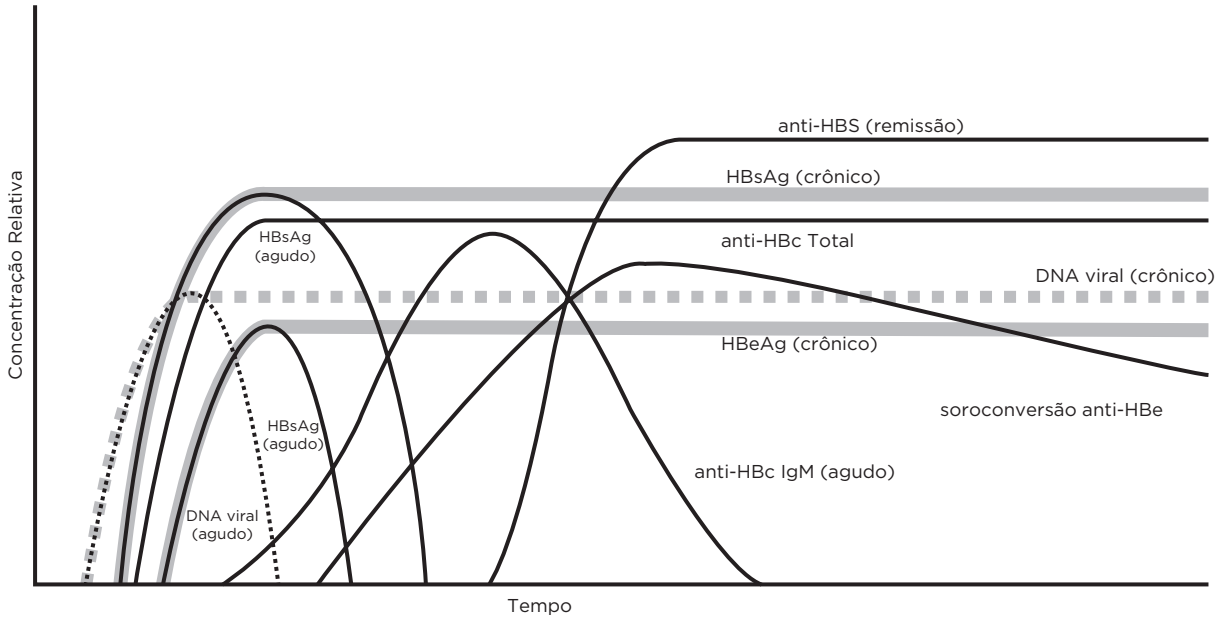


Figura 10. Evolução dos marcadores do vírus da hepatite B (HBV) nas infecções agudas e crônicas
Fonte: Adaptada de SABLON; SHAPIRO, 2005.

Apesar da ação protetora da imunidade adquirida por meio da infecção pelo HBV, traços do vírus podem ser detectados na corrente sanguínea de alguns indivíduos, indicando manutenção da replicação viral. Essa viremia seria controlada pela resposta imune celular e humoral. Um fato que corrobora essa hipótese é a observação de reativação do HBV em alguns indivíduos imunossuprimido/imunodeprimido[G] em virtude de quimioterapia (KAWATANI et al., 2001; LAU, 2002). Curiosamente, essa viremia residual pode estar envolvida na manutenção da imunidade específica ao HBV em indivíduos que se recuperam da infecção (REHERMANN et al., 1996).

Durante o curso da infecção, podem ser selecionadas variantes do HBV que possuem mutações nos epítopos imunogênicos virais. Apesar de estarem predominantemente relacionadas ao escape da imunidade induzida por vacinação, essas variantes se mantêm em baixos títulos, não afetando, necessariamente, a recuperação clínica do paciente. Mesmo na hepatite B crônica, tais variantes não são comuns, sendo observadas apenas nos indivíduos que apresentam respostas imunes vigorosas e direcionadas, o que pode exercer uma forte pressão seletiva sobre essas populações virais, possibilitando a sua emergência (GUIDOTTI et al., 1996; REHERMANN et al., 1995).

8.6 Diagnóstico

Com a suspeita de infecção pelo HBV, é o aparecimento de marcadores sorológicos do vírus que irá estabelecer o diagnóstico da doença (Tabela 5).

Tabela 5. Interpretação dos resultados sorológicos (Ag-Ab) para hepatite B

Testes sorológicos	Resultado	Interpretação
HBsAg Anti-HBc total Anti-HBs	Não Reagente Não Reagente Não Reagente	Ausência de contato prévio com o HBV. Susceptível a infecção pelo HBV.
HBsAg Anti-HBc total Anti-HBs	Não Reagente Reagente Reagente	Imune após infecção pelo HBV.
HBsAg Anti-HBc total Anti-HBs	Não Reagente Não Reagente Reagente	Imune após vacinação contra o HBV.
HBsAg Anti-HBc total Anti-HBs	Reagente Reagente Não Reagente	Infecção pelo HBV.

Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Os marcadores sorológicos circulantes podem ser detectados no soro, plasma ou sangue de pacientes infectados por meio de imunoensaios que apresentam, em média, especificidade acima de 99% e sensibilidade acima de 98%. O HBsAg também pode ser detectado por meio de testes rápidos (TR), que usam a tecnologia de imunocromatografia de fluxo lateral.

Os imunoensaios empregados estritamente em laboratório e os TR detectam o HBsAg, enquanto o anti-HBc só pode ser detectado por imunoensaio laboratorial. Com raras exceções, ambos os marcadores estão presentes em todas as fases da infecção pelo HBV.

No curso da infecção pelo HBV, o HBsAg é produzido em grandes quantidades e pode ser detectado no sangue da maioria dos indivíduos infectados cerca de 30 dias após a infecção. A cronificação da infecção é definida pela persistência do vírus, ou seja, pela presença do HBsAg por mais de seis meses, detectada por meio de testes laboratoriais ou TR. O anti-HBc total, isoladamente, indica contato prévio com o vírus. Por isso, o resultado reagente desse marcador não pode ser interpretado sem a realização de outros marcadores diretos da presença do vírus. Além disso, a janela imunológica[G] para os anticorpos contra o core viral é de aproximadamente 45 dias, posterior ao aparecimento do HBsAg.

Além dos imunoensaios laboratoriais e dos TR, os testes moleculares oferecem uma alternativa para a detecção cada vez mais precoce da infecção pelo HBV. Esses ensaios também servem para a confirmação de casos de hepatite B em que o HBsAg não é detectado, como, por exemplo, nos casos de infecção oculta pelo HBV.

O ácido nucleico viral pode ser detectado por meio de ensaios de PCR em tempo real, que possuem limite de detecção médio de 10 IU/mL de plasma ou soro e especificidade acima de 99% (CALIENDO et al., 2011; ISMAIL et al., 2011).

Conforme a RDC n° 34 (Anvisa/2014), amostras de banco de sangue devem ser testadas para HBsAg e anti-HBc. Amostras positivas para ambos os marcadores devem ser encaminhadas ao serviço de saúde[G] para

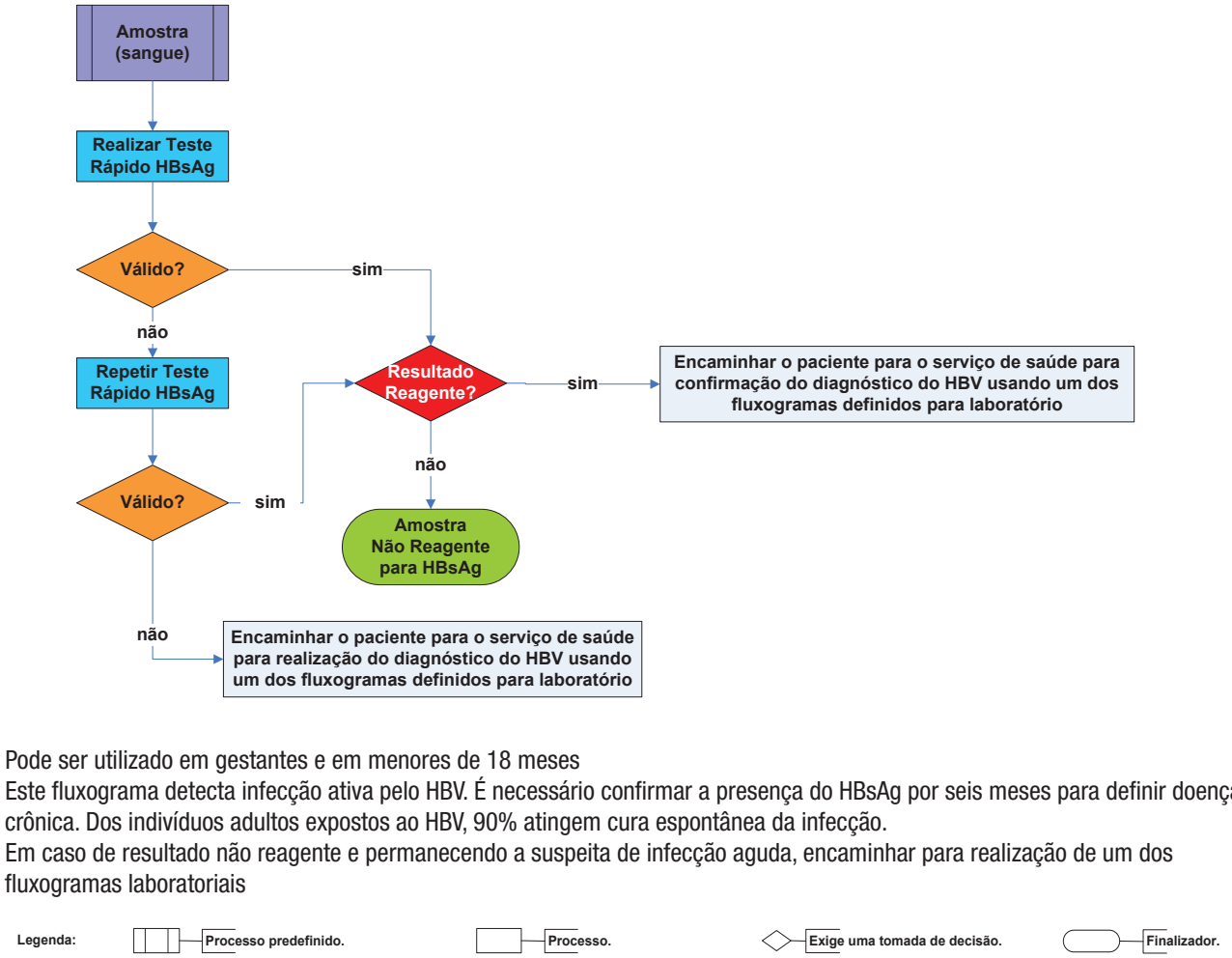
avaliação do estado da infecção no indivíduo. Amostras positivas para apenas um dos marcadores devem também ser encaminhadas ao serviço de saúde[G] para confirmação diagnóstica, usando um dos fluxogramas disponíveis e avaliando a necessidade de vacinação do indivíduo.

8.7 Fluxogramas de diagnóstico para a infecção pelo vírus da hepatite B (HBV)

Os fluxogramas propostos a seguir incorporaram as considerações acima descritas, com o intuito de propiciar, o mais precocemente possível, a detecção da infecção pelo HBV em indivíduos com doença crônica e aguda e, consequentemente, o seu encaminhamento ao serviço de assistência médica. A proposta de vários fluxogramas tem o intuito de oferecer opções que podem ser selecionadas dependendo da realidade local, da capacidade do laboratório e do contexto clínico envolvido.

8.7.1 Fluxograma 2. Triagem da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) por meio de testes rápidos (TR)

O Fluxograma 2 (Figura 11) emprega um teste rápido capaz de detectar o HBsAg em amostras de sangue total obtidas por punção digital. Esses testes também podem ser executados com soro ou plasma; porém, o sangue total obtido por punção digital deve ser preferencialmente utilizado porque permite a testagem na presença do indivíduo, eliminando a possibilidade de troca de amostra e, ainda, pelo seu imediato resultado. Esse fluxograma é indicado para as situações definidas no item 4.1.3. deste manual.



- Pode ser utilizado em gestantes e em menores de 18 meses
- Este fluxograma detecta infecção ativa pelo HBV. É necessário confirmar a presença do HBsAg por seis meses para definir doença crônica. Dos indivíduos adultos expostos ao HBV, 90% atingem cura espontânea da infecção.
- Em caso de resultado não reagente e permanecendo a suspeita de infecção aguda, encaminhar para realização de um dos fluxogramas laboratoriais

Figura 11. Fluxograma de triagem da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) utilizando testes rápidos (TR)
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Indicação de uso

Esse fluxograma é indicado para auxiliar o diagnóstico de uma infecção pelo HBV. O uso de TR está recomendado para as situações definidas no item 4.1.3. deste manual.

Procedimento

A coleta da amostra pode ser realizada por punção da polpa digital ou punção venosa. A maioria dos TR também permite a utilização de soro ou plasma como amostra para a realização do teste. Leia atentamente as instruções de uso que acompanham o conjunto diagnóstico antes de selecionar a amostra a ser testada.

Um TR só pode ter seu resultado interpretado se for considerado um teste válido. Para o teste ser considerado válido, é necessária a presença de uma linha ou ponto na região controle (C) do teste. Caso o resultado do TR seja inválido, deve-se repetir o teste, se possível, com um conjunto diagnóstico de lote distinto do que foi utilizado inicialmente. Persistindo o resultado inválido, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para teste com um dos fluxogramas definidos para laboratório.

Laudo

A amostra com resultado não reagente no TR será definida como: **"Amostra não reagente para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg)"**. Na amostra com resultado não reagente no TR, o laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"Em caso de suspeita de infecção pelo HBV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra, para a realização de um novo teste".** Essa é uma informação relevante, pois a presença dos antígenos virais varia dependendo da fase da infecção pelo HBV.

A amostra com resultado reagente no TR será definida como: **"Amostra reagente para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg)".** O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"Realizar confirmação do diagnóstico da infecção pelo HBV usando um dos fluxogramas laboratoriais".**

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, e estes deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Todos os laudos devem ser emitidos com as seguintes observações: **"A vacina contra a hepatite A faz parte do calendário de vacinação do SUS para crianças menores de 12 a 23 meses. Além disso, ela está disponível nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE), sendo indicada para as situações previstas em:** http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites**"** e **"A vacina contra a hepatite B faz parte do calendário de vacinação da criança, e está disponível nas salas de vacina do Sistema Único de Saúde (SUS) para as situações previstas em:** http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites**".**

Desdobramentos do fluxograma

O Fluxograma 2, com a utilização de um TR, permite uma testagem rápida e o imediato encaminhamento da pessoa com resultado reagente para atendimento médico. Nessa primeira consulta médica, um teste para a confirmação do resultado por meio de teste anti-HBc total deve ser solicitado.

Considerações sobre o fluxograma

O resultado reagente na pesquisa pelo HBsAg em uma amostra representa uma evidência direta da infecção pelo HBV. Esse resultado deverá ser confirmado por meio do teste anti-HBc total.

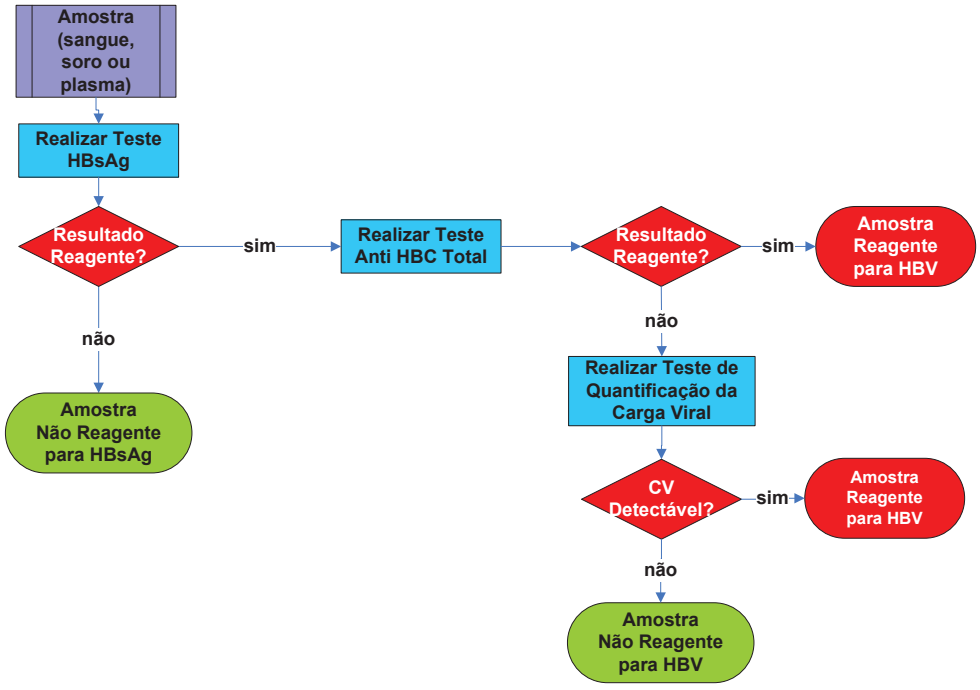
Esse fluxograma, por detectar antígenos virais, não possui restrições de uso com relação à idade do indivíduo e ao seu estado imunológico.

O mesmo fluxograma não será capaz de detectar uma infecção pelo HBV nas situações descritas a seguir:

- Nos casos de hepatite oculta, que ocorrem em aproximadamente 2,7% da população geral, 12% em pessoas que fazem uso de drogas injetáveis, 33% dos indivíduos positivos para o HCV e 58% dos hemodialisados.
- Nos casos de cepas virais com mutações no HBsAg.

8.7.2 Fluxograma 3. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV)

Esse fluxograma é capaz de diagnosticar a infecção pelo HBV em indivíduos na fase aguda ou crônica da doença. O Fluxograma 3 (Figura 12) se inicia com um imunoensaio capaz de detectar o HBsAg, como teste de triagem, e um imunoensaio capaz de detectar o Anti-HBc IgM/IgG (anti-HBc Total) do HBV, como teste confirmatório, usados sequencialmente. Caso haja discordância entre os resultados dos testes, o resultado deve ser confirmado com a realização de um teste de quantificação de carga viral. Uma discordância entre o primeiro e segundo testes pode se dar em virtude de um resultado falso-positivo no primeiro teste ou por se tratar de um indivíduo em janela imunológica para o surgimento dos anticorpos anti-HBc.



- Pode ser utilizado em gestantes.
- Por fazer uso de testes que detectam anticorpos totais, este fluxograma não pode ser usado em indivíduos menores de 18 meses, e também em indivíduos imunossuprimidos.
- Este fluxograma é capaz de identificar infecções ativa pelo HBV.
- Em laboratórios que realizam pequenas rotinas (máximo cinco testes por dia) o teste para detecção do HBsAg pode ser um teste rápido
- Em caso de resultado não reagente, e permanecendo a suspeita de infecção, após 30 dias coletar uma nova amostra para repetir o teste.

Figura 12: Fluxograma de diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV).

Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Indicação de uso

Esse fluxograma deve ser utilizado quando houver uma solicitação para a "sorologia da hepatite B" ou "diagnóstico de HBV", ou mesmo "sorologia de hepatite". O mesmo fluxograma deve ser usado juntamente com os Fluxogramas 1 e 7 em caso de suspeita de infecção pelos vírus causadores de hepatite.

Laudo

A amostra com resultado não reagente no imunoensaio para detectar o HBsAg será definida como: **"Amostra não reagente para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg)".** O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"Em caso de suspeita de infecção pelo HBV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra para a realização de um novo teste".**

A amostra com resultado reagente no imunoensaio para detectar o HBsAg será definida como: **"Amostra reagente para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg)".** A amostra com resultado reagente no imunoensaio para a detecção do anti-HBc total deverá ser definida como **"Amostra reagente para o anti-HBc total".** O laudo com resultado reagente para o HBsAg e para o anti-HBc total deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"A presença do HBsAg e do anti-HBc total é indicativa de infecção ativa pelo HBV".**

A amostra com resultado não reagente no imunoensaio para a detecção do anti-HBc total deverá ser definida como **"Amostra não reagente para o anti-HBc total".**

A amostra com carga viral indetectável deverá ser liberada como **"Amostra indetectável para HBV-DNA".** O laudo deverá ser emitido com a seguinte ressalva: **Em caso de suspeita de infecção pelo HBV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra para a realização de um novo teste."**

A amostra com carga viral detectável deverá ser liberada como **"Amostra com HBV-DNA detectável".** O laudo com resultado reagente para o HBsAg e com carga viral detectável deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"A presença do HBsAg e do HBV-DNA é indicativa de infecção ativa pelo HBV".**

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, incluindo valores de *cut-off,* carga viral e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual.

Os laudos deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Todos os laudos devem ser emitidos com as seguintes observações:

- **"A vacina contra a hepatite A faz parte do calendário de vacinação do SUS para crianças menores de 12 a 23 meses. Além disso, ela está disponível nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE), sendo indicada para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites".**

- **"A vacina contra a hepatite B faz parte do calendário de vacinação da criança, e está disponível nas salas de vacina do Sistema Único de Saúde (SUS) para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites".**

Desdobramentos do fluxograma

O Fluxograma 3 é capaz de detectar a infecção pelo HBV, seja ela aguda ou crônica. No caso de confirmação diagnóstica, caberá ao médico definir o encaminhamento do paciente conforme o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o tratamento da hepatite B.

Considerações para o uso do fluxograma

Esse fluxograma, por detectar anticorpos contra o vírus como confirmação diagnóstica, não é indicado para menores de 18 meses. Para menores de 18 meses, recomenda-se o Fluxograma 5.

O mesmo fluxograma não será capaz de detectar uma infecção pelo HBV nas situações descritas a seguir:

- Nos casos de hepatite oculta, que correspondem a aproximadamente 2,7% da população geral, 12% em pessoas que fazem uso de drogas injetáveis, 33% dos indivíduos HCV positivos e 58% dos hemodialisados.

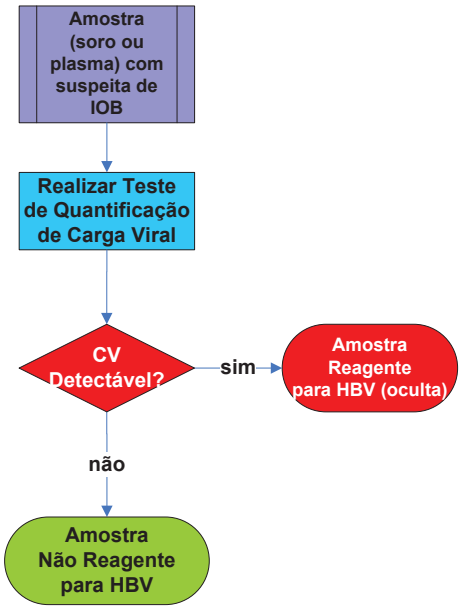
- Nos casos de cepas virais com mutações no antígeno HBsAg.

8.7.3 Fluxograma 4. Diagnóstico da infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB)

O Fluxograma 4 (Figura 13) emprega um teste molecular de alta sensibilidade (com capacidade de detectar pelo menos 100 UI/mL) para a confirmação diagnóstica da infecção oculta pelo HBV (IOB).

Indicação de uso

Deve-se utilizar esse fluxograma quando houver uma solicitação para “sorologia da hepatite B oculta”, “diagnóstico de HBV oculto”, “pesquisa para hepatite B oculta” ou termos afins.



- Este fluxograma é indicado para o diagnóstico da infecção pelo HBV em casos de IOB.
- Em caso de carga viral indetectável, e permanecendo a suspeita clínica, uma nova amostra deverá ser coletada para repetir o teste em 30 dias.
- É necessária a utilização de um teste de quantificação de carga viral de alta sensibilidade.

Figura 13.Fluxograma para o diagnóstico da infecção oculta pelo vírus da hepatite B (IOB)
Fonte: Departamento de DSTe Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

O mesmo fluxograma é indicado para indivíduos com suspeita de infecção pelo HBV, e que não possuem reatividade para testes que detectam o HBsAg. Os indivíduos com maior probabilidade de apresentarem IOB são: pessoas que fazem uso de drogas injetáveis, portadores do HCV, hemodialisados e indivíduos vivendo em áreas endêmicas para a infecção pelo HBV que apresentarem o HBsAg não reagente.

Laudo

A amostra com carga viral detectável deverá ser liberada como **"Amostra com HBV-DNA detectável".** O laudo também deverá conter a seguinte ressalva: **"A presença de carga viral detectável é indicativa de infecção pelo vírus da hepatite B."**

A amostra com carga viral indetectável deverá ser liberada como **"Amostra não detectável para HBV-DNA".** O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"Em caso de suspeita de infecção pelo HBV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra para a realização de um novo teste".**

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, o *cut-off,* a carga viral e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual.

Os laudos deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Todos os laudos devem ser emitidos com as seguintes observações: **"A vacina contra a hepatite A faz parte do calendário de vacinação do SUS para crianças menores de 12 a 23 meses. Além disso, ela está disponível nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE), sendo indicada para as situações previstas em:** http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites**"** e **"A vacina contra a hepatite B faz parte do calendário de vacinação da criança, e está disponível nas salas de vacina do Sistema Único de Saúde (SUS) para as situações previstas em:** http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites**".**

Desdobramentos do fluxograma

O Fluxograma 4, usando um teste molecular, permite identificar a infecção oculta pelo HBV e o encaminhamento desses pacientes ao serviço de saúde[G].

Considerações para o uso do fluxograma

Esse fluxograma é indicado apenas para indivíduos com suspeita de infecção oculta pelo HBV e com resultado prévio não reagente para HBsAg.

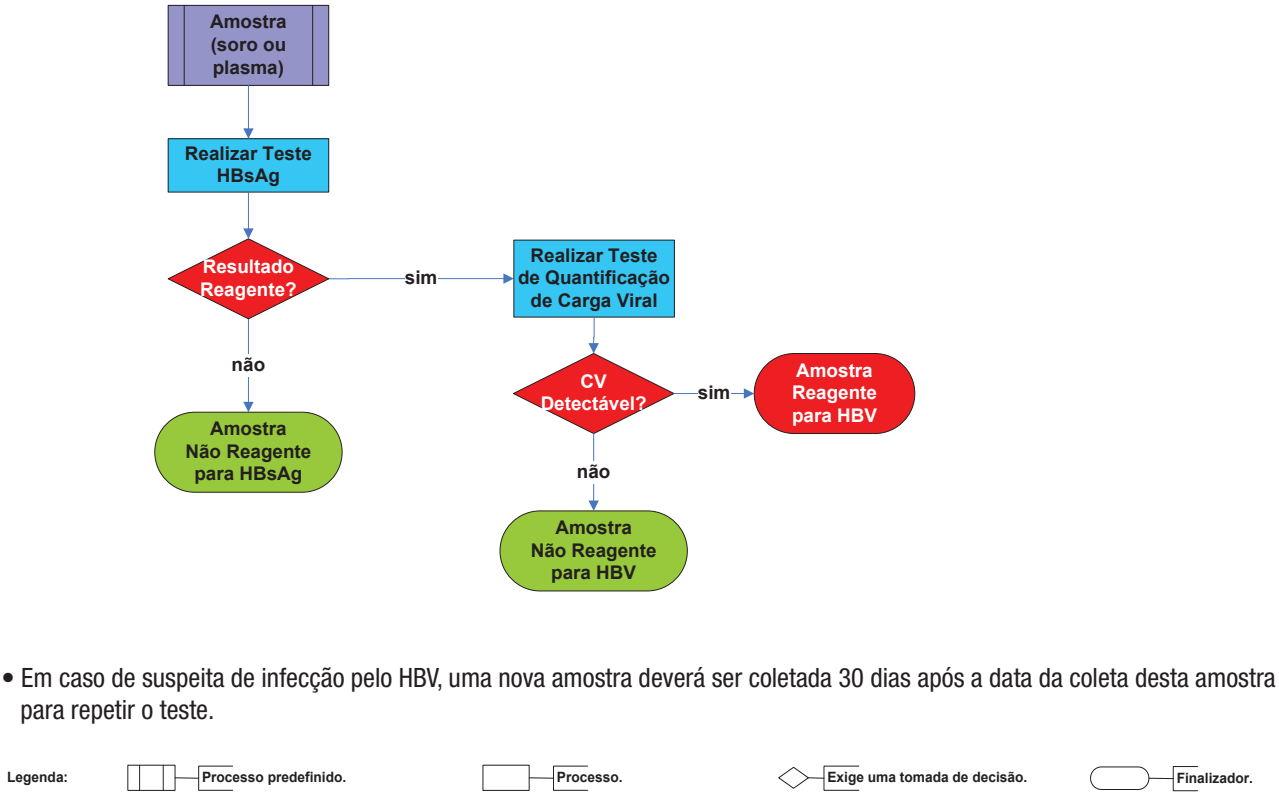
8.7.4 Fluxograma 5. Diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos menores de 18 meses

O Fluxograma 5 (Figura 14) emprega um imunoensaio para o HBsAg, cujo resultado positivo é confirmado com o uso de um teste de quantificação de carga viral para o diagnóstico da infecção pelo HBV em menores de 18 meses.

Indicação de uso

Esse fluxograma deve ser utilizado quando houver solicitação para a "sorologia da hepatite B", "diagnóstico de HBV" ou termos afins, em menores de 18 meses nascidos de mães reagentes no imunoensaio para HBsAg.

Indivíduos menores de 18 meses podem possuir anticorpos maternos e, por isso, é indicada a detecção direta do DNA do vírus através do diagnóstico molecular.



- Em caso de suspeita de infecção pelo HBV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra para repetir o teste.

Figura 14. Fluxograma para o diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) em indivíduos menores de 18 meses
Fonte: Departamento de DSTe Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Laudo

A amostra com resultado não reagente no imunoensaio para detectar o HBsAg será definida como: **"Amostra não reagente para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg)".** O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"Em caso de suspeita de infecção pelo HBV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra para a realização de um novo teste".**

A amostra com resultado reagente no imunoensaio para detectar o HBsAg será definida como: **"Amostra reagente para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg)".** A amostra com carga viral detectável deverá ser liberada como **"Amostra com HBV-DNA detectável". O** laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"A presença do HBsAg e de carga viral detectável é indicativa de infecção ativa pelo HBV".**

A amostra com carga viral indetectável deverá ser liberada como **"Amostra não detectável para HBV-DNA".** O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"Em caso de suspeita de infecção pelo HBV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra para a realização de um novo teste".**

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, o *cut-off*, a carga viral e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual.

Os laudos deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Todos os laudos devem ser emitidos com as seguintes observações: **"A vacina contra a hepatite A faz parte do calendário de vacinação do SUS para crianças menores de 12 a 23 meses. Além disso, ela está disponível**

nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE), sendo indicada para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites" e "A vacina contra a hepatite B faz parte do calendário de vacinação da criança, e está disponível nas salas de vacina do Sistema Único de Saúde (SUS) para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites".

Considerações para o uso do fluxograma

Esse fluxograma é indicado para indivíduos menores de 18 meses, nascidos de mães reagentes no imunoensaio para HBsAg, e para indivíduos que não tiveram seu resultado pela infecção definido pelo Fluxograma 3 (HBsAg e Anti-HBc total).

9 O vírus da hepatite C (HCV)

O HCV foi identificado por Choo e colaboradores, em 1989, nos Estados Unidos. O HCV é o principal agente etiológico da hepatite crônica, anteriormente denominada hepatite Não-A Não-B. Sua transmissão ocorre, principalmente, por via parenteral. É importante ressaltar que, em um percentual significativo de casos, não é possível identificar a via de infecção. São consideradas populações de risco acrescido para a infecção pelo HCV por via parenteral: indivíduos que receberam transfusão de sangue e/ou hemoderivados antes de 1993; pessoas que fazem uso de drogas injetáveis (cocaína, anabolizantes e complexos vitamínicos), inaláveis (cocaína) ou pipadas (crack), e que compartilham os equipamentos de uso; pessoas com tatuagem, *piercings* ou que apresentem outras formas de exposição percutânea (por exemplo, consultórios odontológicos, clínicas de podologia, salões de beleza, etc., que não obedecem às normas de biossegurança). A transmissão sexual é pouco frequente – menos de 1% em parceiros estáveis – e ocorre, principalmente, em pessoas com múltiplos parceiros e com prática sexual de risco (sem uso de preservativo), sendo que a coexistência de alguma IST, inclusive o vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês *human immunodeficiency virus*), constitui um importante facilitador dessa transmissão. A transmissão vertical é rara quando comparada à hepatite B. Entretanto, já se demonstrou que gestantes com carga viral do HCV elevada ou coinfectadas pelo HIV apresentam maior risco de transmissão da doença para os recém-nascidos. A cronificação ocorre de 70% a 85% dos casos, sendo que, em média, entre um quarto e um terço destes podem evoluir para formas histológicas graves ou cirrose, no período de 20 anos, caso não haja intervenção terapêutica. O restante evolui de forma mais lenta e talvez nunca desenvolva hepatopatia grave. É importante destacar que a infecção pelo HCV já é a maior responsável por cirrose e transplante hepático no mundo ocidental.

9.1 Partícula viral

A hepatite C é causada pelo HCV. Esse vírus foi o primeiro membro do gênero *Hepacivirus*, na família *Flaviridae*. A partícula viral (Figura 15) possui, aproximadamente, 65nm e é dotada de um envelope lipoproteico, contendo as duas glicoproteínas de envelope (E1 e E2), e um capsídeo proteico, composto pela proteína de capsídeo (C), que envolve o genoma viral (FIELDS; KNIPE; HOWLEY, 2007).

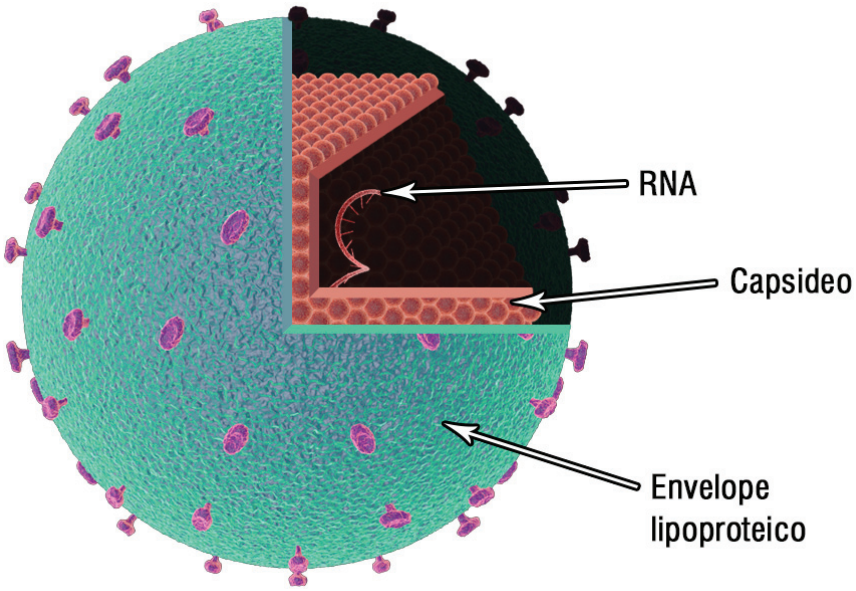


Figura 15. Estrutura da partícula do vírus da hepatite C (HCV)
Fonte: BRASIL. 2009a.

O HCV é um vírus cujo genoma é constituído por uma única molécula de RNA de polaridade positiva, que possui, aproximadamente, 9.600 bases (9,6kb). Esse RNA é composto por uma região 5' não traduzida (NTR, do inglês *non translated region*), a qual inclui um sítio interno de entrada do ribossomo (IRES, do inglês *internal ribosome entry site*), que é capaz de direcionar a tradução do genoma viral independentemente do cap[G], e codifica uma única ORF de 3006-3037 códons. Na porção final 3' do genoma há uma NTR (Figura 16).

O genoma viral é traduzido via IRES para produzir uma poliproteína, que é clivada durante e após a tradução por proteases celulares e virais em dez produtos gênicos. A região amino-terminal codifica as proteínas estruturais, que são aquelas incorporadas na partícula viral: a proteína do capsídeo (C) e as glicoproteínas de envelope (E1 e E2). Os dois terços carboxi-terminais da poliproteína codificam as proteínas não estruturais: p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B. Por definição, as proteínas não estruturais são expressas nas células infectadas, mas não são incorporadas na partícula viral. Elas servem para coordenar os aspectos intracelulares da replicação do HCV, incluindo a síntese de RNA, modulação dos mecanismos de defesa do hospedeiro e montagem da partícula viral. A porção N-terminal da NS3 codifica a serino-protease, responsável pelo processamento da poliproteína do HCV. A replicação do RNA viral é catalisada pela NS5B (RNA polimerase dependente de RNA). Tanto a protease quanto a RNA polimerase são enzimas essenciais para a replicação do HCV e têm sido alvos de intensos estudos para o desenvolvimento de medicamentos (LINDENBACH; RICE, 2013).

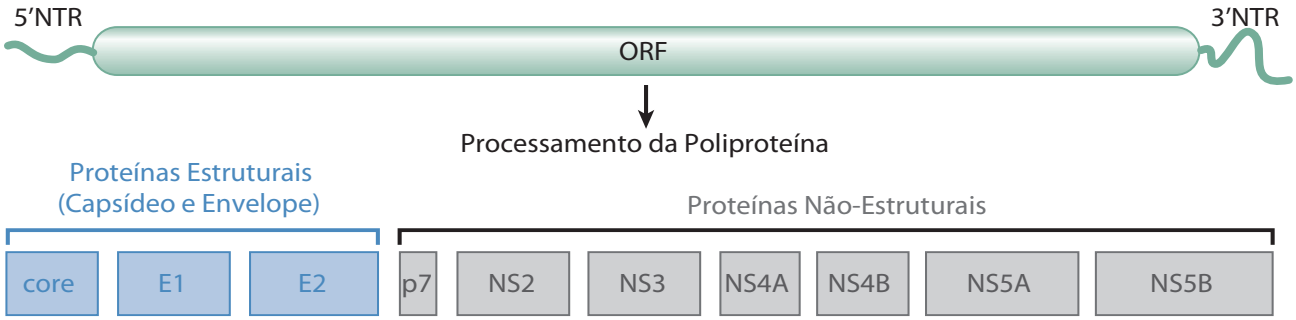


Figura 16. Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite C (HCV). O esquema mostra as proteínas estruturais, não estruturais e as atividades enzimáticas requeridas para a clivagem da poliproteína.
Fonte: Adaptado de RICE, 2011.

9.2 Variabilidade genética

A RNA polimerase dependente de RNA do HCV não possui atividade revisora; por isso, os isolados do HCV possuem grande variabilidade genética, podendo ser classificados em genótipos e subtipos. Existem sete genótipos principais, que possuem uma variabilidade de 30% a 35% entre si e são nomeados por números de 1 a 7 (SIMMONDS, 2013). Cada genótipo pode ser dividido em subtipos, que são identificados por letras (a, b, c, e assim sucessivamente). Existem 67 subtipos confirmados e 20 subtipos prováveis, que diferem entre si entre 15% a 25% de suas sequências nucleotídicas (MESSINA et al., 2014; SMITH et al., 2014). A eficácia do tratamento contra o HCV é dependente do genótipo. Indivíduos infectados com o genótipo 1 respondem melhor à terapia com interferon-α, ribavirina e com os inibidores de protease do que aqueles infectados com os genótipos 2 ou 3. Por essa razão, determinar o genótipo do vírus que infecta um paciente é fundamental para garantir o tratamento adequado (MORADPOUR; PENIN; RICE, 2007; PEARLMAN, 2012). A expectativa é que, com o licenciamento de fármacos ativos contra todos os genótipos, esse tipo de abordagem seja revisto (WHO, 2014).

No Brasil, podem ser encontrados os genótipos 1, 2, 3, 4 e 5. As frequências gerais são de 64,9% para o genótipo 1; 4,6% para o genótipo 2; 30,2% para o genótipo 3; 0,2% para o genótipo 4 e 0,1% para o genótipo 5 (CAMPIOTTO, 2005).

9.3 Ciclo replicativo

O modo de entrada do HCV na célula não está completamente elucidado, mas é um processo complexo que requer a ação coordenada de diversas proteínas do hospedeiro, incluindo glicosaminoglicanas (GAG), o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR, do inglês *low-density lipoprotein receptor*), o receptor de lipoproteína de alta densidade SR-BI, CD81, e duas proteínas de junção, claudina-1 (CLDN1) e ocludina (OCLN). É provável que o vírion utilize esses fatores de forma sequencial (PILERI et al., 1998; BARTOSCH et al., 2003; EVANS et al., 2007; PLOSS et al., 2009). Um grupo de receptores é, provavelmente, responsável por mediar interações iniciais de baixa afinidade, necessárias à entrada do HCV (MONAZAHIAN et al., 1999; KOUTSOUDAKIS et al., 2006; ZEISEL et al., 2007). A proteína de envelope (E2) se liga à CD81. Em seguida, eventos de sinalização são necessários para o recrutamento da CLDN1. O receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR, do inglês *epidermal growth factor receptor*) e receptor de efrina A2 (EphA2, do inglês *ephrin type-A receptor 2*) modulam a associação CD81-CLDN1. Após a ligação CD81-CLDN1, o complexo HCV-receptor interage com a OCLN e é internalizado nas junções celulares, via endocitose mediada por clatrina. O desencapsidamento ocorre em endossomos acidificados (BLANCHARD; BELOUZARD, 2006; LUPBERGER et al., 2011).

A poliproteína do HCV é traduzida na membrana do retículo endoplasmático rugoso, com a fita positiva de RNA servindo de molde. A tradução é iniciada de maneira independente do cap, por meio do IRES localizado na 5'NTR. É produzida uma poliproteína precursora de, aproximadamente, 3.000 aminoácidos, que é posteriormente processada por proteases celulares (ex.: peptidases de sinal) e virais (NS2 e NS3) para gerar as 10 proteínas virais: core, E1 e E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B (KIM; CHANG, 2013).

O genoma viral é replicado pela NS5B; a proteína NS5A tem papel regulatório para a replicação do vírus e a proteína NS3 possui uma porção com função helicase, que também é importante para a replicação do genoma viral. Finalmente, a NS4B é uma proteína com papel importante no rearranjo de membranas da célula, levando à formação da chamada "teia membranosa" (ou complexo de replicação) que suporta e compartimentaliza a replicação do HCV. Esse complexo se associa a proteínas virais, componentes celulares do hospedeiro e fitas nascentes de RNA (CHEVALIEZ; PAWLOTSKY, 2012).

Os estágios tardios do ciclo do HCV não estão completamente elucidados. No entanto, sabe-se que a montagem e liberação da partícula são processos firmemente regulados com a síntese de lipídios da célula hospedeira. Após a clivagem pelas proteases celulares, a proteína do core se realoca na membrana do retículo endoplasmático em gotículas de lipídios (SCHEEL; RICE, 2013). Acredita-se que o RNA viral é entregue ao core pela NS5B, além de ocorrer uma interação com NS5A. A interação NS5A-core aciona a formação do

nucleocapsídeo. Os capsídeos recém-formados brotam do lúmen do retículo endoplasmático em um processo ligado à síntese de VLDL. Dessa forma, o brotamento depende da síntese de VLDL e requer diversas enzimas do hospedeiro (BARTENSCHLAGER; COSSET; LOHMANN, 2010). O ciclo replicativo do HCV encontra-se representado esquematicamente na Figura 17.

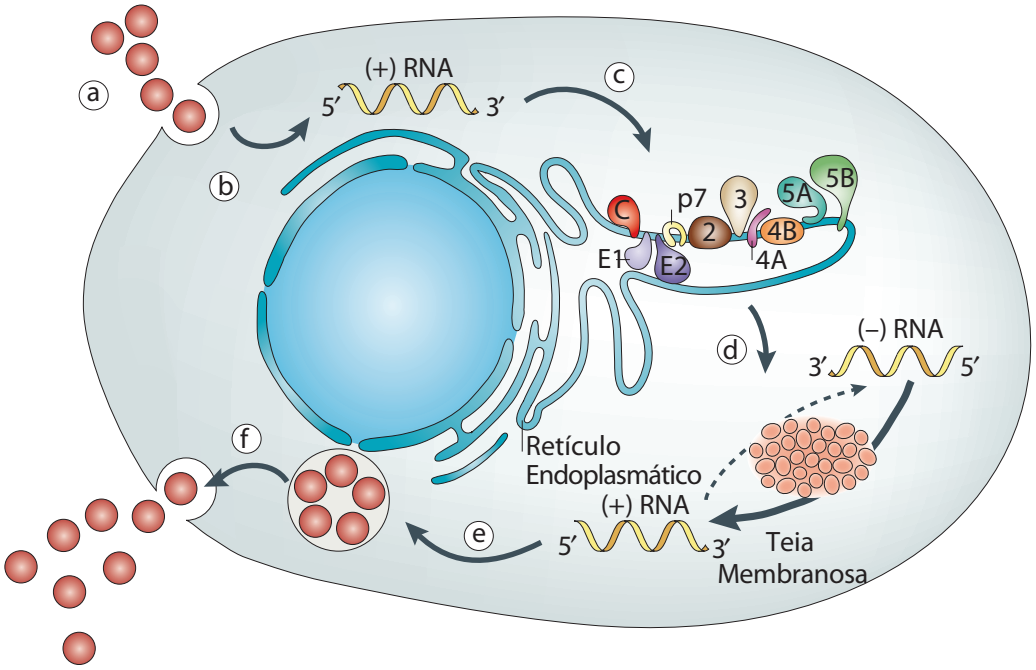


Figura 17. Ciclo replicativo do vírus da hepatite C (HCV). (a) Contato e internalização do vírion na célula; (b) liberação do RNA viral no citoplasma; (c) tradução mediada por IRES e processamento da poliproteína viral; (d) replicação do RNA viral; (e) empacotamento do RNA viral e montagem da partícula; (f) maturação do vírion e liberação.
Fonte: Adaptado de MORADPOUR; PENIN; RICE, 2007.

9.4 História natural da doença

A transmissão do HCV ocorre, primariamente, por via parenteral. Desde o advento da verificação das bolsas de sangue, a transmissão por meio do sangue e seus derivados foi praticamente eliminada em países desenvolvidos. Hoje, a epidemia continua se espalhando, principalmente, entre aqueles que compartilham seringas, agulhas e outros instrumentos para uso de drogas. Sob algumas condições, a transmissão iatrogênica, nosocomial, sexual e vertical pode ocorrer (DUSTIN; RICE, 2007).

De modo geral, a hepatite C aguda apresenta evolução subclínica, com cerca de 80% dos casos assintomáticos e anictéricos, dificultando o diagnóstico. Aproximadamente, 20% a 30% dos casos podem apresentar icterícia e 10% a 20% apresentam sintomas inespecíficos, como anorexia, astenia, mal estar e dor abdominal. Quando presente, o quadro clínico é semelhante àquele decorrente de outros agentes que causam hepatites virais e o diagnóstico diferencial somente é possível com a realização de testes para detecção de anticorpos específicos, antígenos virais ou material genético viral (DDAHV/SVS, 2011).

A persistência da infecção do HCV pode estar relacionada à grande variabilidade genética do vírus, que permitiria o escape do sistema imune. A via de contaminação também é um fator importante para definir a história natural da doença. Pacientes infectados por transfusão sanguínea evoluiriam mais frequentemente para as formas crônicas da doença do que aqueles infectados por outras vias. A infecção crônica se desenvolve em anos ou décadas. Acredita-se que a evolução para cirrose e carcinoma hepatocelular (HCC, do inglês *hepatocellular carcinoma*) dependa de fatores como carga viral e genótipo, mas ainda há discussão sobre o assunto. O dano celular causado pelo HCV é pequeno; por isso, acredita-se que o dano hepático ocorre, primariamente, por ação de mecanismos imunológicos (STRAUSS, 2013).

9.5 Resposta imune

O HCV é capaz de induzir uma forte resposta imune inata, uma vez que a infecção causa a ativação de genes de resposta ao interferon. No entanto, o vírus é capaz de resistir aos seus efeitos e ainda assim estabelecer infecções crônicas (REHERMANN; NASCIMBENI, 2005).

Pacientes capazes de se recuperar espontaneamente da infecção pelo HCV são os que estabelecem respostas imunes fortes, que podem ser prontamente detectadas no sangue. Pacientes que desenvolvem doenças crônicas apresentam respostas imunes focadas ou transientes, baseadas em células T. Anticorpos contra as proteínas de envelope podem ser associados à modulação dos níveis circulantes de vírus. No entanto, ainda não foi possível associar esses anticorpos a algum tipo de imunidade protetora, embora existam estudos indicando que os pacientes que se recuperam da infecção podem ser resistentes a novas exposições ao vírus (ASHFAQ et al., 2011; MEHTA et al., 2002; REHERMANN; NASCIMBENI, 2005).

9.6 Diagnóstico

A testagem de amostras de sangue total, soro, plasma ou FO é utilizada para triagem. Amostras com resultados reagentes nessa etapa têm seu resultado confirmado por meio de outro teste, que visa à detecção direta do vírus.

Os imunoensaios empregados estritamente em laboratório e os TR detectam o anticorpo anti-HCV, que indica contato com o vírus da hepatite C. O antígeno core do HCV pode ser detectado com uso de imunoensaio e é um indicador da presença de infecção ativa, podendo ser utilizado para confirmar o resultado da pesquisa de anticorpos.

Além dos imunoensaios e dos TR, o teste molecular oferece uma alternativa para a detecção cada vez mais precoce da infecção pelo HCV e também para a confirmação dos casos anti-HCV reagentes. Os fluxogramas propostos com testes utilizados em laboratório incorporaram essas considerações, e oferecem opções que podem ser selecionadas dependendo da capacidade do laboratório e do contexto clínico.

"Os testes de ácidos nucleicos são utilizados para quantificar o número de cópias de genomas virais circulantes em um paciente. As metodologias disponíveis hoje são similares no que se refere à sensibilidade (aproximadamente 10 UI/mL) e especificidade (>99%) (BELD et al., 2002; DREXLER et al., 2012; FRANCISCUS; HIGHLEYMAN, 2014)."

9.7 Fluxogramas para o diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV)

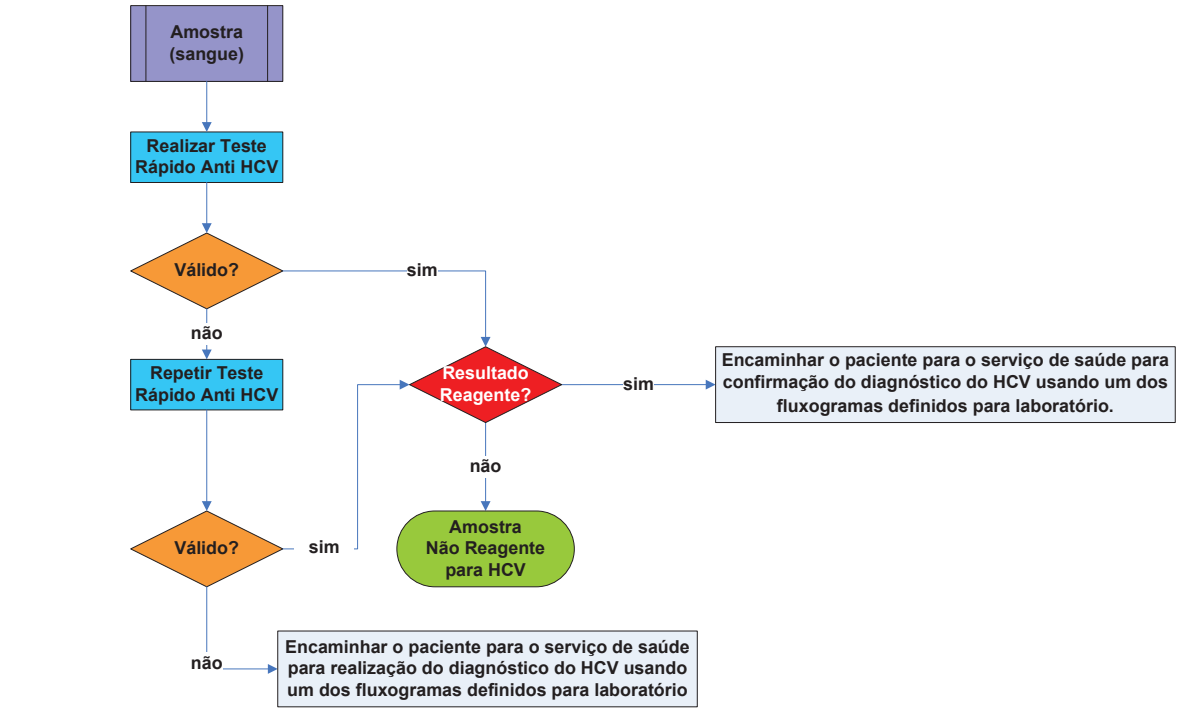
Os fluxogramas propostos a seguir incorporaram as considerações acima descritas, com o intuito de propiciar, o mais precocemente possível, a detecção da infecção pelo HCV em indivíduos com doença crônica e aguda e, consequentemente, o seu encaminhamento ao serviço de assistência médica. A proposta de vários fluxogramas tem o intuito de oferecer opções que podem ser selecionadas dependendo da realidade local, da capacidade do laboratório e do contexto clínico envolvido.

9.7.1 Fluxograma 6. Triagem da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) por meio de testes rápidos

O Fluxograma 6 (Figura 18) emprega o uso de um TR capaz de detectar o anticorpo anti-HCV em amostras de sangue total obtidas por punção digital. O sangue total obtido por punção digital deve ser preferencialmente utilizado porque permite a testagem na presença do indivíduo, eliminando a possibilidade de troca de amostra e permitindo o imediato conhecimento do resultado. Esse fluxograma é indicado para as situações definidas no item 4.1.3. deste manual.

Indicação de uso

Esse fluxograma é indicado para ampliar o acesso ao diagnóstico da infecção pelo HCV. O uso de TR está indicado para as situações descritas no item 4.1.3. deste manual.



- Pode ser utilizado em gestantes
- Por usar um teste que detecta anticorpos, não pode ser usado em indivíduos menores de 18 anos e imunossuprimidos
- Este fluxograma indica contato prévio com o HCV. É necessário confirmar a presença de infecção ativa por meio de testes moleculares ou de antígeno
- Em caso de resultado não reagente e permanecendo a suspeita de infecção, após 30 dias coletar uma nova amostra para repetir o teste.

Figura 18. Fluxograma para a triagem da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) por meio de testes rápidos.
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Procedimento

A coleta da amostra pode ser realizada por punção da polpa digital, punção venosa ou coleta de fluido oral. A maioria dos TR também permite a utilização de soro ou plasma como amostra para a realização do teste. Leia atentamente as instruções de uso que acompanham o conjunto diagnóstico antes de selecionar a amostra a ser testada.

Um TR só pode ter seu resultado interpretado se for considerado um teste válido. Para o teste ser considerado válido, é necessária a presença de uma linha ou ponto na região controle (C) do teste. Caso o resultado do TR seja inválido, deve-se repetir o teste, se possível, com um conjunto diagnóstico de lote distinto do que foi utilizado inicialmente. Persistindo o resultado inválido, uma amostra deverá ser coletada por punção venosa e encaminhada para teste com o Fluxograma 8 definido para o diagnóstico laboratorial.

Laudo

A amostra com resultado não reagente no TR será definida como: **“Amostra não reagente para o anticorpo contra o HCV”.** Na amostra com resultado não reagente no TR, o laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **“Em caso de suspeita de infecção pelo HCV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra, para a realização de um novo teste”.**

A amostra com resultado reagente no TR será definida como: **"Amostra reagente para o anticorpo contra o HCV".** O laudo deverá ser liberado com a seguinte observação: **"Realizar confirmação do diagnóstico da infecção pelo HCV usando um dos fluxogramas laboratoriais."**

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados. Estes deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Todos os laudos devem ser emitidos com as seguintes observações: **"A vacina contra a hepatite A faz parte do calendário de vacinação do SUS para crianças menores de 12 a 23 meses. Além disso, ela está disponível nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE), sendo indicada para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites"** e **"A vacina contra a hepatite B faz parte do calendário de vacinação da criança, e está disponível nas salas de vacina do Sistema Único de Saúde (SUS) para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites".**

Desdobramentos do fluxograma

O Fluxograma 6, com a utilização de um TR, permite a triagem e o imediato encaminhamento do indivíduo para um serviço de saúde[G]. Nessa primeira consulta médica, deverá ser solicitado um teste para a confirmação do resultado, a ser realizado em laboratório seguindo um dos fluxogramas propostos neste manual.

Considerações para o uso do fluxograma

O resultado reagente em uma amostra na pesquisa pelo anticorpo contra o HCV representa uma exposição ao HCV.

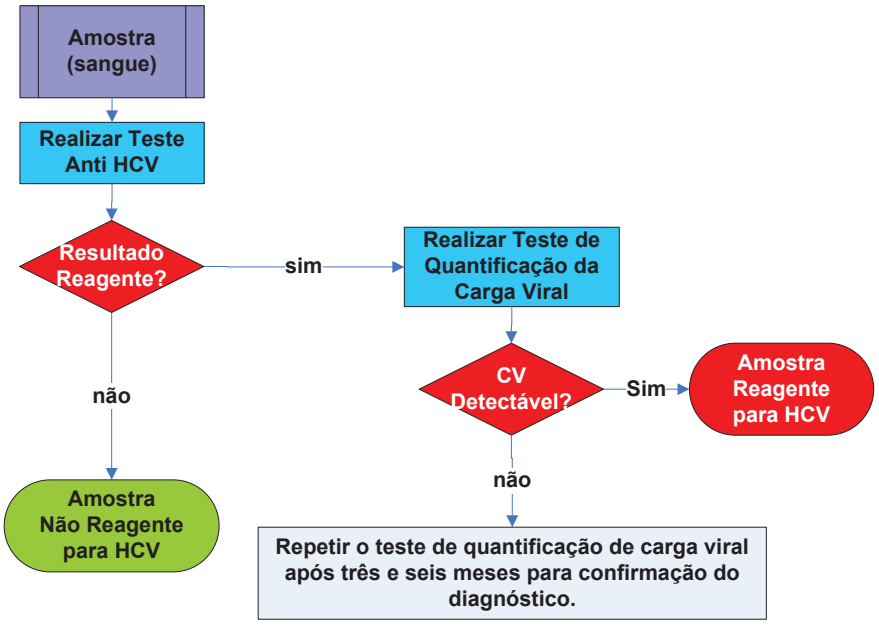
Esse fluxograma, por detectar anticorpos contra o vírus, não deve ser usado em indivíduos menores de 18 meses.

9.7.2 Fluxograma 7. Diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV)

O Fluxograma 7 (Figura 19) emprega um imunoensaio capaz de detectar o anticorpo contra o HCV, como teste de triagem, e um teste de quantificação de carga viral do HCV, como teste confirmatório, usados sequencialmente.

Indicação de uso

Deve-se utilizar esse fluxograma quando houver uma solicitação para "sorologia da hepatite C", "diagnóstico de HCV" ou termos afins. Também deve ser empregado nas solicitações que não especificam quais os marcadores a serem testados, como por exemplo "sorologia das hepatites". Nesses casos, também é necessário realizar os testes definidos nos Fluxogramas 1 e 3.



- Pode ser utilizado em gestantes.
- Por fazer uso de testes que detectam anticorpos, não pode ser usado em indivíduos menores de 18 meses e também em indivíduos imunossuprimidos.
- Em laboratórios que realizam pequenas rotinas (máximo cinco testes por dia) o teste para detecção do anti-HCV pode ser um teste rápido
- Em caso de resultado não reagente, e permanecendo a suspeita de infecção, após 30 dias coletar uma nova amostra para repetir o teste.

Figura 19. Fluxograma de diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV)
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

O mesmo fluxograma é capaz de diagnosticar a infecção pelo HCV. Amostras reagentes no primeiro teste indicam contato com o HCV, salvo em casos de falso-positivos. Uma discordância entre o primeiro e o segundo teste pode se dar em virtude de uma resolução natural da doença.

Laudo

A amostra com resultado não reagente no imunoensaio para detectar o anti-HCV será definida como: **"Amostra não reagente para o anticorpo contra o HCV".** O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"Em caso de suspeita de infecção pelo HCV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra para a realização de um novo teste".**

A amostra com resultado reagente no imunoensaio para detectar o anti-HCV será definida como: **"Amostra reagente para o anticorpo contra o HCV".** A amostra com carga viral indetectável deverá ser liberada como **"Amostra indetectável para HCV-RNA".** O laudo deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"Em caso de suspeita de infecção pelo HCV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra para a realização de um novo teste".**

A amostra com carga viral detectável deverá ser liberada como **"Amostra com HCV-RNA detectável".** O laudo com resultado reagente para o anti-HCV e com carga viral detectável deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"A presença do anti-HCV e do HCV-RNA é indicativa de infecção ativa pelo HCV".**

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, incluindo valores de *cut-off,* carga viral e a unidade de medição do método utilizado, excetuando-se os resultados obtidos por testes cuja leitura é visual.

Os laudos deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Todos os laudos devem ser emitidos com as seguintes observações:

- **"A vacina contra a hepatite A faz parte do calendário de vacinação do SUS para crianças menores de 12 a 23 meses. Além disso, ela está disponível nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE),sendo indicada para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites".**

- **"A vacina contra a hepatite B faz parte do calendário de vacinação da criança, e está disponível nas salas de vacina do Sistema Único de Saúde (SUS) para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites".**

Desdobramentos do fluxograma

O Fluxograma 7, com a utilização de um imunoensaio e um teste molecular, sequencialmente, é capaz de detectar a infecção pelo HCV, seja ela aguda ou crônica. A partir dessa confirmação diagnóstica, caberá ao médico definir o encaminhamento do paciente e seguir o estabelecido no protocolo de diretrizes terapêuticas para o tratamento da hepatite C (www.aids.gov.br).

Considerações para o uso do fluxograma

Por detectar anticorpos contra o vírus, esse fluxograma não deve ser usado em indivíduos menores de 18 meses. Nesse caso, indica-se usar o Fluxograma 8.

Esse fluxograma pode ser utilizado no diagnóstico em gestantes.

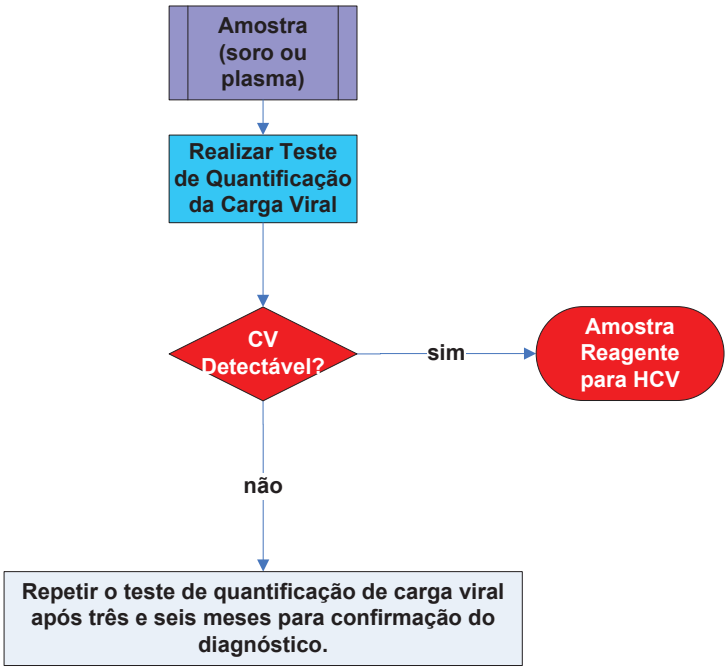
O mesmo fluxograma não será capaz de identificar indivíduos infectados no período de janela imunológica ou imunossuprimidos.

9.7.3 Fluxograma 8. Diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em indivíduos menores de 18 meses

O Fluxograma 8 (Figura 20) emprega um teste molecular para o diagnóstico da infecção pelo HCV em menores de 18 meses.

Indicação de uso

Esse fluxograma deve ser utilizado quando houver solicitação para "sorologia da hepatite C", "diagnóstico de HCV" ou termos afins, em menores de 18 meses nascidos de mães sabidamente positivas para a infecção pelo HCV.



- Este fluxograma é indicado para o diagnóstico da infecção pelo HCV em indivíduos menores de 18 meses nascidos de mães sabidamente HCV positivas e indivíduos imunossuprimidos
- Este fluxograma é capaz de identificar infecção ativa pelo HCV
- Em caso de suspeita de infecção pelo HCV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra pra repetir o teste.

Figura 20. Diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) em indivíduos menores de 18 meses de idade.
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Indivíduos menores de 18 meses podem possuir anticorpos maternos e, por isso, é indicada a detecção direta do vírus para o diagnóstico.

Laudo

A amostra com carga viral indetectável deverá ser liberada como **"Amostra indetectável para HCV-RNA".** A amostra com carga viral detectável deverá ser liberada como **"Amostra com HCV-RNA detectável".** O laudo para amostra com HCV-RNA detectável deverá ser liberado com a seguinte ressalva: **"A presença do HCV-RNA é indicativa de infecção ativa pelo HCV".**

Além das informações citadas anteriormente, os laudos devem conter os resultados de todos os testes realizados, e estes deverão estar de acordo com o disposto na Resolução RDC nº 302/Anvisa, de 13 de outubro de 2005, suas alterações, ou outro instrumento legal que venha a substituí-la.

Todos os laudos devem ser emitidos com as seguintes observações: **"A vacina contra a hepatite A faz parte do calendário de vacinação do SUS para crianças menores de 12 a 23 meses. Além disso, ela está disponível nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE), sendo indicada para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites" e "A vacina contra a hepatite B faz parte do calendário de vacinação da criança, e está disponível nas salas de vacina do Sistema Único de Saúde (SUS) para as situações previstas em: http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites".**

Considerações para o uso do fluxograma

Esse fluxograma é indicado apenas para indivíduos menores de 18 meses nascidos de mães sabidamente portadoras do HCV. O diagnóstico infantil também pode ser realizado utilizando um imunoensaio HCV/Ag, capaz de detectar e quantificar antígenos virais do HCV, o qual apresenta altíssima correlação na detecção do vírus HCV com o teste de quantificação da carga viral indicado nesse fluxograma.

Um resultado indetectável para HCV-RNA no primeiro teste deverá ser confirmado com a repetição do teste de quantificação de carga viral após três e seis meses da coleta da primeira amostra.

A documentação da soroconversão da criança deve ser confirmada com a realização de sorologia anti-HCV entre 12 e 18 meses de idade da criança.

10 O vírus da hepatite D (HDV)

A hepatite D é causada pelo HDV, podendo apresentar-se como infecção assintomática, sintomática ou como formas graves. O HDV é um vírus defectivo, satélite do HBV, que precisa do HBsAg para realizar sua infecção. A infecção delta crônica é a principal causa de cirrose hepática em crianças e adultos jovens em áreas endêmicas na Itália, na Inglaterra e na região amazônica do Brasil. Devido à sua dependência funcional em relação ao HBV, o vírus delta tem mecanismos de transmissão idênticos aos do HBV. Os portadores crônicos inativos do vírus B são reservatórios importantes para a disseminação do vírus da hepatite delta em áreas de alta endemicidade de infecção pelo HBV.

10.1 Partícula viral

O HDV é o único membro da família *Deltaviridae*, gênero *Deltavirus*, sendo um vírus considerado similar aos viroides, vírus de RNA que infectam plantas. O vírion é composto por uma partícula esférica de, aproximadamente, 36nm de diâmetro, que apresenta, em sua porção mais externa, um envelope bilipídico contendo as três formas do HBsAg, do qual o HDV depende para conseguir infectar novas células (Figura 21). O nucleocapsídeo é composto por uma molécula de RNA circular de fita simples (em formado de “rodo” ou “bastonete”) que contém 1.679 nucleotídeos e, aproximadamente, 200 cópias do antígeno do vírus da hepatite D (HDV-Ag) por genoma. A única proteína codificada pelo genoma viral é o HDV-Ag. A estrutura do genoma viral, bem como sua composição nucleotídica, permite relacionar o HDV com os viroides vegetais. O RNA viral é uma ribozima, ou seja, uma molécula de ácido nucleico com capacidade catalítica (HUGHES; WEDEMEYER; HARRISON, 2011; SMEDILE et al., 2013).

10.2 Variabilidade genética

Foram identificados, até o momento, oito genótipos do HDV, denominados por números (de 1 a 8), os quais possuem divergências de até 16% entre as sequências nucleotídicas dentro do mesmo genótipo e de 20% a 40% entre os diferentes genótipos. O genótipo 1 é o mais presente no mundo, e existem evidências de que pode haver subtipos dentro desse genótipo. O genótipo 2 foi, originalmente, identificado no Japão, sendo

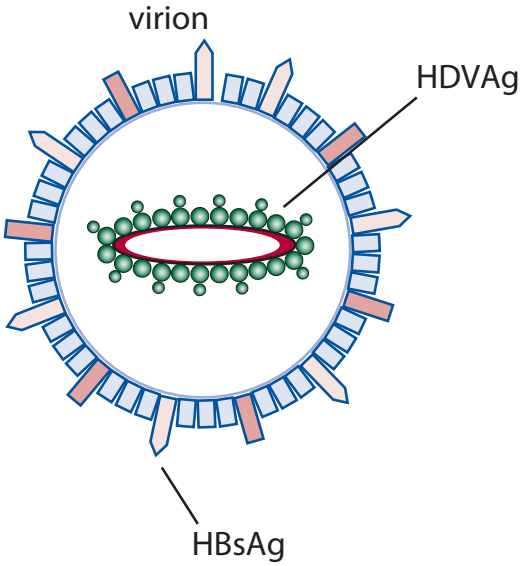


Figura 21. Estrutura da partícula do vírus da hepatite D (HDV)
Fonte: Adaptado de HUGHES; WEDEMEYER; HARRISON, 2011.

encontrado, predominantemente, em Taiwan. Esse genótipo está associado a uma doença menos agressiva do que a decorrente do genótipo 1. Os outros genótipos, em especial o genótipo 3, foram identificados em surtos ocorridos em diferentes locais do mundo, principalmente nos continentes americano e africano (ABBAS; AFZAL, 2013; HADZIYANNIS, 1997).

10.3 Ciclo replicativo

O vírion se liga ao hepatócito por interação entre o L-HBsAg e um receptor de membrana ainda não identificado; o material genético viral é então desnudado no citoplasma da célula. A ribonucleoproteína viral é direcionada ao núcleo, onde é transcrita na forma de RNA antigenômico, que é o molde para a replicação de novas transcrições do RNA circular viral. Os RNA mensageiros produzidos são transportados ao retículo endoplasmático, onde são traduzidos sob a forma de novas moléculas do HDV-Ag, as quais retornam ao núcleo e se associam às novas transcrições do RNA viral para formar novos complexos ribonucleoproteicos. Os complexos são exportados para o citoplasma e se associam às proteínas de envelope do HBV presentes no complexo golgiense, formando novas partículas virais, que são exocitadas pela via trans-Golgi. A Figura 22 resume o ciclo replicativo do HDV (HUGHES; WEDEMEYER; HARRISON, 2011).

10.4 História natural da doença

A infecção pelo HDV é dependente de uma infecção pelo HBV associada. A evolução da doença está associada ao contato inicial com os vírus. Caso a infecção com os vírus seja simultânea, é denominada coinfecção. Caso uma pessoa, cronicamente infectada com o HBV, seja, posteriormente, infectada com o HDV, ocorre o fenômeno da superinfecção (ALVARADO-MORA; PINHO, 2013; WHO, 2001).

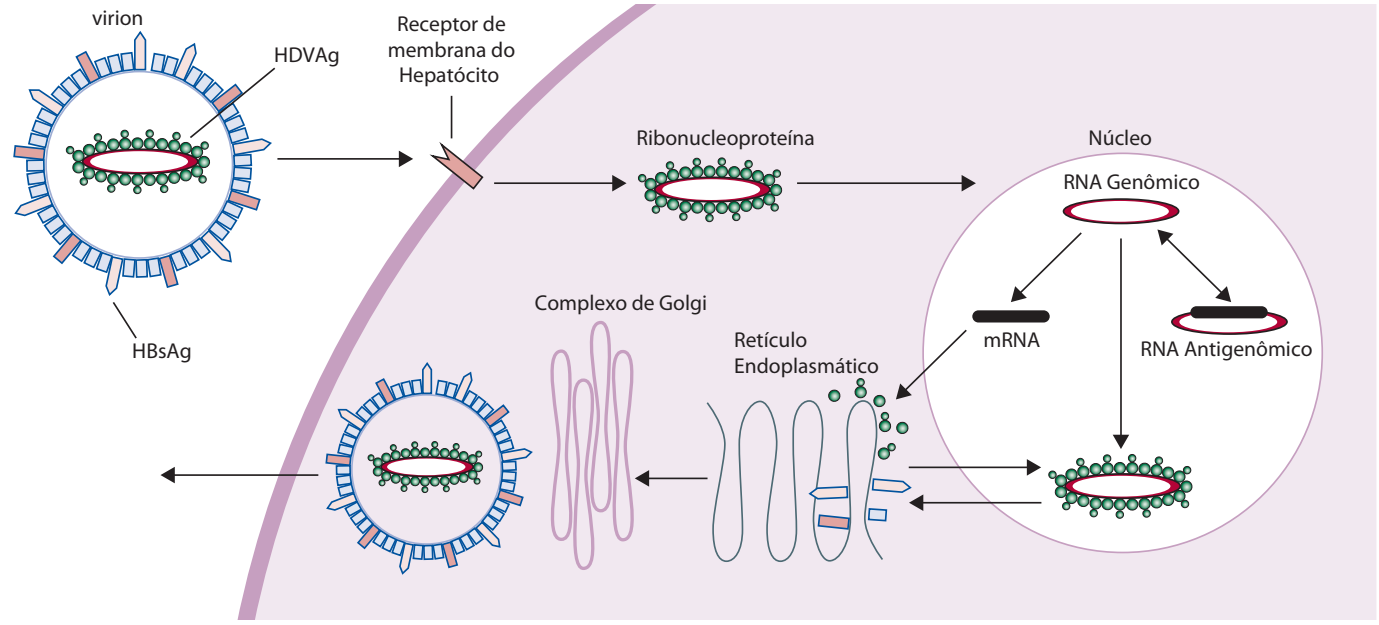


Figura 22. Ciclo replicativo do vírus da hepatite D (HDV)
Fonte: Adaptado de HUGHES; WEDEMEYER; HARRISON, 2011.

O resultado da coinfecção é um estado agudo de hepatite B e D. O tempo de incubação é dependente do título do inóculo inicial e, normalmente, a coinfecção é um estado autolimitado. Menos de 5% das pessoas coinfectadas desenvolvem a forma crônica da doença. Os sintomas surgem entre três a sete dias após a infecção e incluem fadiga, anorexia, náuseas e icterícia. Os níveis de transaminases sofrem alteração durante esse período. Nos pacientes que não desenvolvem a forma crônica, os sintomas clínicos desaparecem após esse intervalo de tempo.

A superinfecção causa um quadro de hepatite aguda grave, com um período de incubação curto, que leva à cronificação da hepatite D em 80% dos casos. A superinfecção é associada a casos de hepatite fulminante e a hepatite crônica severa, frequentemente evoluindo para cirrose hepática. A hepatite D crônica, normalmente, inicia-se com um quadro clínico semelhante ao da infecção aguda. Os sintomas clínicos são mais leves que na doença aguda, enquanto os níveis de transaminases sofrem elevação. Na hepatite D crônica, os marcadores do HBV podem ser inibidos. A evolução para cirrose costuma ocorrer em um período de dois anos após a infecção e, aproximadamente, 70% dos pacientes crônicos desenvolvem essa condição. A mortalidade nas infecções pelo HDV varia entre 2% a 20%, cerca de dez vezes maior que na hepatite B (WHO, 2001).

10.5 Resposta imune

A resposta imune na hepatite D ainda não foi totalmente compreendida. A patogenia é mediada pelo sistema imune, o qual é responsável pelos efeitos citotóxicos no fígado do infectado. O HDV-Ag é capaz de estimular uma resposta humoral IgM e IgG. Estudos em chimpanzés demonstram que a infecção resolvida pelo HDV é capaz de conferir proteção contra uma reinfecção precoce. O escape imunológico do vírus se dá em virtude de sua grande variabilidade genética (SMEDILE et al., 2013).

10.6 Diagnóstico

O diagnóstico da hepatite D pode ser realizado tanto pela detecção de anticorpos anti-HDV quanto pela pesquisa de marcadores diretos, como o antígeno do HDV, e pela detecção do genoma viral circulante (CIANCIO; RIZZETTO, 2014; SMEDILE et al., 2013).

A hepatite D deve ser investigada em indivíduos que apresentem resultados reagentes em imunoensaios para o HBsAg e que residem ou estiveram em áreas endêmicas para esse agravo.

11 O vírus da hepatite E (HEV)

O HEV é um vírus de transmissão fecal-oral. Essa via de transmissão favorece a disseminação da infecção nos países em desenvolvimento, nos quais a contaminação dos reservatórios de água mantém a cadeia de transmissão da doença. A transmissão interpessoal não é comum. Em alguns casos, os fatores de risco não puderam ser identificados. A doença é autolimitada e pode apresentar formas clínicas graves, principalmente em gestantes. Essa forma de hepatite viral é mais comum em países na Ásia e África, principalmente na Índia (BRASIL, 2009b).

11.1 Partícula viral

O HEV pertence ao gênero *Hepevirus*, família *Hepeviridae* (ICTV, 2014). O HEV é um vírus pequeno, não envelopado, com capsídeo icosaédrico de, aproximadamente, 27-34nm de diâmetro (Figura 23) (GONÇALES, 2013; MIRAZO et al., 2014).

O genoma é formado por uma fita simples de RNA positiva, com cerca de 7.200 nucleotídeos, que apresenta três fases de leitura aberta (ORFs) descontínuas e parcialmente sobrepostas (Figura 24). A ORF1 codifica as sete proteínas não estruturais e está envolvida na replicação viral e no processamento de proteínas virais, incluindo a codificação de uma RNA helicase, uma RNA polimerase dependente do RNA (RpRd), uma metiltransferase, uma cisteína protease e uma guanilil protease. A ORF2 codifica as proteínas do capsídeo viral (pORF2) e contém epitopos importantes, que podem induzir a produção de anticorpos neutralizantes. A ORF3 se sobrepõe às duas outras ORF e codifica uma fosfoproteína (pORF3), que é expressa intracelularmente e é capaz de se ligar ao citoesqueleto das células hepáticas, servindo como um âncora à qual a pORF2 e o RNA podem se ligar para iniciar o processo de estruturação do nucleocapsídeo viral (GONÇALES, 2013; MIRAZO et al., 2014; PARVEZ, 2013).

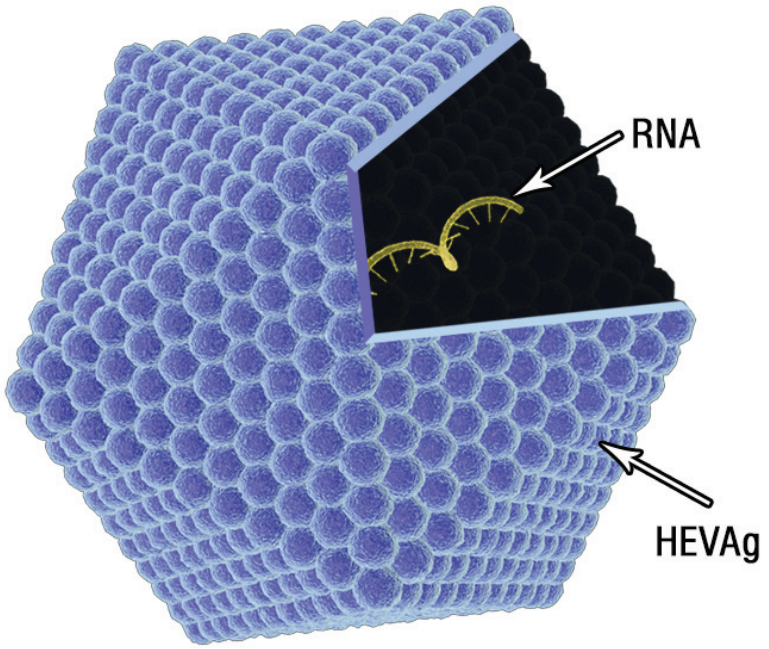


Figura 23. Estrutura da partícula do vírus da hepatite E (HEV).
Fonte: BRASIL, 2009.

11.2 Variabilidade genética

De acordo com análises filogenéticas de genomas completos e sequências parciais englobando as regiões ORF1 e ORF2, o HEV pode ser classificado em um único sorotipo, o qual, por sua vez, pode ser dividido em quatro genótipos principais (GONÇALES, 2013; PARVEZ, 2013). Os genótipos 1 e 2 podem ainda ser subclassificados em subtipos, de acordo com cinco reconstruções filogenéticas: 5' ORF1, 3' ORF1, 5' ORF2, 3' ORF2 e genoma completo. O genótipo 1 pode ser dividido em cinco subtipos (1a-e); o genótipo 2, em dois subtipos (2a-b); o genótipo 3, em 10 subtipos (3a-j) e o genótipo 4, em sete subtipos (4a-g) (MIRAZO et al., 2014).

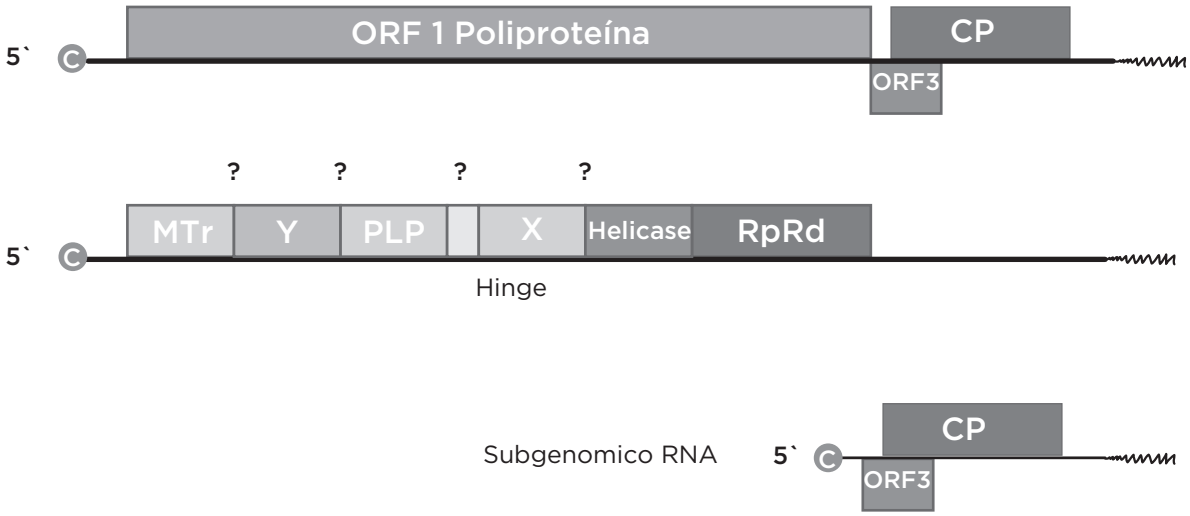


Figura 24. Representação esquemática da organização genômica do vírus da hepatite E (HEV)
Fonte: Adaptado de MIRAZO et al., 2014.

A infecção pelos genótipos 1 e 2 do HEV é considerada uma antroponose, isto é, uma infecção cuja transmissão se restringe aos seres humanos. Já a infecção pelo genótipo 3 é uma enzoonose, doença infecciosa de animais de uma área específica ou constantemente presente nesta; e a infecção pelo genótipo 4 é uma zoonose, infecção transmitida sob condições naturais de animais aos homens, e vice-versa (GONÇALES, 2013; PARVEZ, 2013).

O genótipo 1 é encontrado na Ásia e no norte da África e está associado, nessas regiões, a surtos com grande contaminação do suprimento de água (GONÇALES, 2013; PARVEZ, 2013). Pequenos surtos de HEV também foram relatados em Cuba e casos esporádicos foram descritos na Venezuela e no Uruguai (Figura 25) (MIRAZO et al., 2014).

O genótipo 2 foi caracterizado em uma única cepa isolada de fezes coletadas durante um surto de hepatite Não-A e Não-B no México, em 1986, e na África (Figura 25) (GONÇALES, 2013; MIRAZO et al., 2014).

O genótipo 3 apresenta alta prevalência em rebanhos suínos dos Estados Unidos, Canadá, México, Europa, Nova Zelândia, Coreia do Sul, Japão e Tailândia. O HEV pode ser a causa de casos raros e esporádicos de hepatite aguda por ingestão de alimentos de origem animal. Acredita-se que os suínos devam ser o reservatório natural do vírus ou que humanos e suínos compartilhem outro reservatório comum (Figura 25) (GONÇALES, 2013).

O genótipo 4 é encontrado na China, Japão, Índia, Indonésia e Vietnã, sendo identificados em humanos, suínos e outros animais. Nessas regiões, casos esporádicos de hepatite E podem estar associados à contaminação de alimentos de origem animal, mas sua presença em surtos por contaminação de suprimento água ainda permanece desconhecida (GONÇALES, 2013). Esse genótipo também já foi identificado em alguns países da Europa Central (Figura 25) (MIRAZO et al., 2014).

Mais de um genótipo pode circular em populações humanas em uma mesma região; mas a distribuição geográfica entre as cepas do HEV pode variar durante um dado período de tempo (GONÇALES, 2013).

11.3 Ciclo replicativo

No citoplasma celular, o RNA genômico de fita positiva é traduzido para produzir as proteínas não estruturais codificadas pela ORF1. O RNA complementar ao RNA genômico é, então, transcrito em RNA genômico e RNA subgenômico. Acredita-se que o RNA subgenômico seja responsável pela síntese das proteínas estruturais virais codificadas pelas ORF2 e ORF3. Essas proteínas podem encapsular o RNA genômico, resultando em uma partícula viral progenitora. Não está ainda bem definido o modo como a partícula viral deixa a célula infectada (GONÇALES, 2013) (Figura 26).

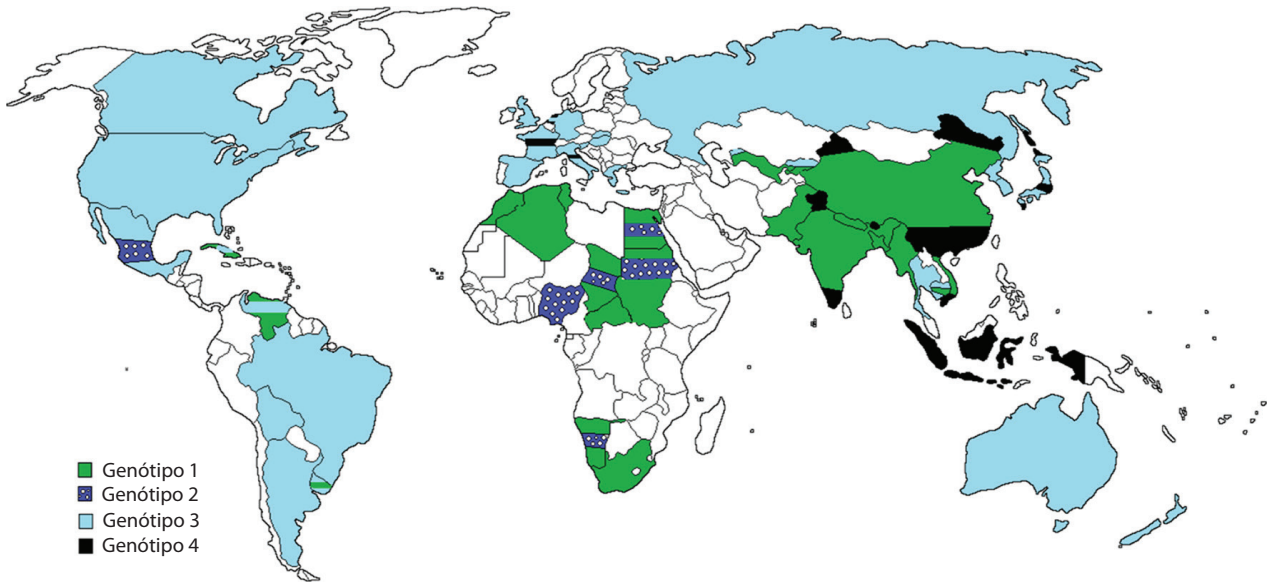


Figura 25. Distribuição geográfica dos principais genótipos do vírus da hepatite E (HEV)
Fonte: Adaptado de MIRAZO et al., 2014.

O HEV é um importante agente causador de surtos epidêmicos, ocorrendo, principalmente, em áreas tropicais e subtropicais. As principais vias de transmissão são: reservatórios de água potável contaminada (transmissão fecal-oral); ingestão de carne crua ou mal cozida de animais selvagens, como javalis e cervos, e animais domésticos, como porcos e galinhas (transmissão de alimentos-zoonótica); pelo sangue (transmissão parenteral) e da mãe para o filho (transmissão vertical perinatal) (GONÇALES, 2013).

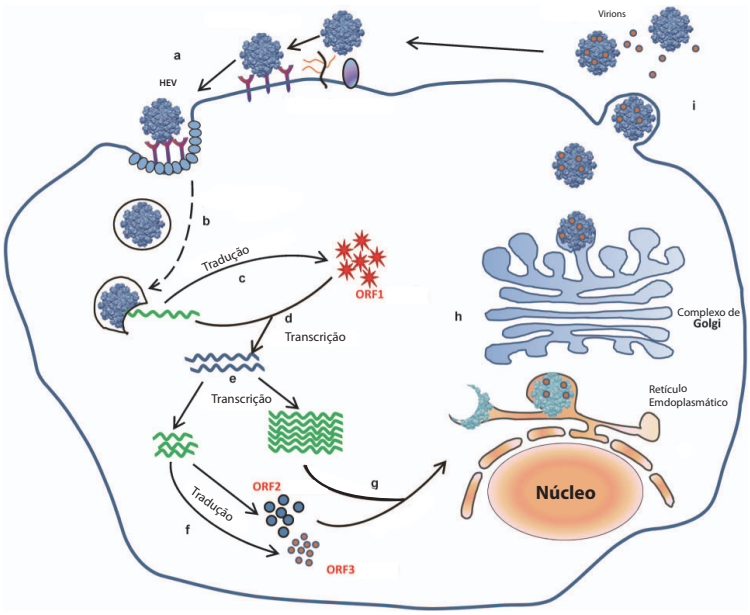


Figura 26. Ciclo replicativo do vírus da hepatite E (HEV)
Fonte: Adaptado de CAO; MENG, 2012.

A maioria dos casos de hepatite E aguda é silenciosa e se resolve rapidamente. O quadro sintomático aparece em, aproximadamente, 20% dos indivíduos infectados e é observado, principalmente, em jovens e adultos (14 a 40 anos) (MIRAZO et al., 2014; PARVEZ, 2013). Além do quadro ictérico característico de doença, são relatados, frequentemente, colúria, prurido e sintomas gastrointestinais, como dor epigástrica, náuseas, vômitos e hipocolia fecal. Metade dos pacientes infetados relata manifestação de febre e dois terços apresentam artralgias. Além disso, 85% dos indivíduos que desenvolvem quadro ictérico apresentam hepatomegalia (GONÇALES, 2013). A forma crônica da infecção pelo HEV é rara, apenas tendo sido reportada em indivíduos imunossuprimidos (WHO, [s.d.]).

Após a entrada do HEV no hospedeiro, habitualmente por via oral por meio da ingestão de água e alimentos contaminados, ele atinge o fígado e se replica no citoplasma dos hepatócitos (GONÇALES, 2013).

Em áreas de alta endemicidade, a forma clínica mais comum é a de hepatite aguda ictérica, com período de incubação de 15 a 50 dias. Infecções subclínicas podem ocorrer, mas a extensão e frequência destas não são bem conhecidas. Nos casos sem complicação, em um mês há remissão completa dos sintomas. A infecção pelo HEV raramente evolui para as formas crônicas, apresentando, na maioria das vezes, um curso benigno, embora tenham sido descritos casos com evolução fulminante. Os determinantes da severidade da doença ainda são pouco conhecidos, mas as gestantes, particularmente aquelas no terceiro trimestre, são mais frequentemente comprometidas durante os surtos de HEV, podendo ocorrer óbito por falha hepática fulminante em 20% a 30% das gestantes infectadas (GONÇALES, 2013; MIRAZO et al., 2014; PARVEZ, 2013).

11.4 Resposta imune

A detecção da imunoglobulina da classe IgM anti-HEV ocorre no período inicial da fase aguda de infecção, nas primeiras duas semanas após o início dos sintomas, podendo persistir até cinco meses (KHUDYAKOV; KAMILI, 2011). A imunoglobulina da classe IgG anti-HEV surge imediatamente após o aparecimento da IgM e persiste por períodos mais longos. A literatura demonstra que menos de 50% dos indivíduos infectados conseguem manter níveis detectáveis de IgG por longos períodos, ao contrário do IgG anti-HAV, que pode persistir indefinidamente. O IgG anti-HEV detectável após 30 anos é raro (KHUROO, 2011).

Os anticorpos neutralizantes representam o principal mecanismo de proteção contra o vírus e são, normalmente, direcionados contra proteínas do capsídeo viral, em especial da região codificada pelo ORF2. A proteína ORF2 tem elevada imunogenicidade. Os anticorpos produzidos contra os antígenos dessa proteína são duradouros e utilizados na produção de vacinas (KAMILI, 2011; ZHANG et al., 2012). A vacinação está indicada para indivíduos suscetíveis, inclusive aqueles com infecção anterior que apresentem ausência de manutenção de anticorpos IgG, pois a reinfecção pode ocorrer. Cabe ressaltar que a vacina nesse momento ainda não é recomendada pela OMS, e tem seu uso restrito à China (ZHANG et al., 2012).

11.5 Diagnóstico

O imunoensaio é o método laboratorial mais utilizado no diagnóstico de HEV devido à sua padronização e facilidade de execução e por permitir a detecção de anticorpos das classes IgM e IgG. Os antígenos-alvo para o imunoensaio são as proteínas recombinantes, peptídeos sintéticos que correspondem aos epítopos imunodominantes das proteínas estruturais (ORF2 e ORF3) (ECHEVARRÍA, 2014; GONÇALES, 2013). Entretanto, é importante considerar o fato de que a heterogeneidade genética expressa em relação aos aminoácidos das proteínas da ORF3 é maior que a da ORF2; os anticorpos derivados das proteínas da ORF3 têm uma vida média menor do que aqueles derivados da ORF2; e as proteínas derivadas da ORF 2 estimulam anticorpos neutralizantes, enquanto as proteínas derivadas da ORF3 não os estimulam. Dessa forma, as proteínas derivadas da ORF2 são suficientes para a produção de ensaios sensíveis e específicos para a detecção do HEV (GONÇALES, 2013).

O teste para a pesquisa de anticorpos IgM anti-HEV pode ser usado para o diagnóstico da infecção recente pelo HEV. Anticorpos IgG anti-HEV são encontrados desde o início da infecção, com pico entre 30 e 40 dias após a fase aguda da doença, e podem persistir por até 14 anos (GONÇALES, 2013; MIRAZO et al., 2014).

A detecção da viremia em amostras de fezes por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) tem auxiliado no diagnóstico dos casos agudos de hepatite E (MIRAZO et al., 2014). O HEV pode ser detectado nas fezes, aproximadamente, uma semana antes do início dos sintomas da doença e costuma persistir por mais duas semanas, podendo, em alguns casos, ser detectado em até 52 dias após o início da infecção. No soro, o RNA viral pode ser detectado, na maioria dos pacientes, duas semanas após o início da doença; em alguns casos, a reatividade chega a se prolongar por 4 a 16 semanas (GONÇALES, 2013).

A suspeita diagnóstica de HEV em áreas não endêmicas deve basear-se na exclusão dos agentes das hepatites A, B e C, além dos vírus Epstein-Barr e citomegalovírus. Histórico de viagem, procedência de regiões endêmicas para o HEV e ocorrência de epidemias que têm como fonte de contágio os reservatórios de água devem ser interpretados como indícios importantes de aquisição de infecção por HEV (GONÇALES, 2013).

A Figura 27 mostra a dinâmica dos principais marcadores utilizados no diagnóstico da infecção pelo HEV.

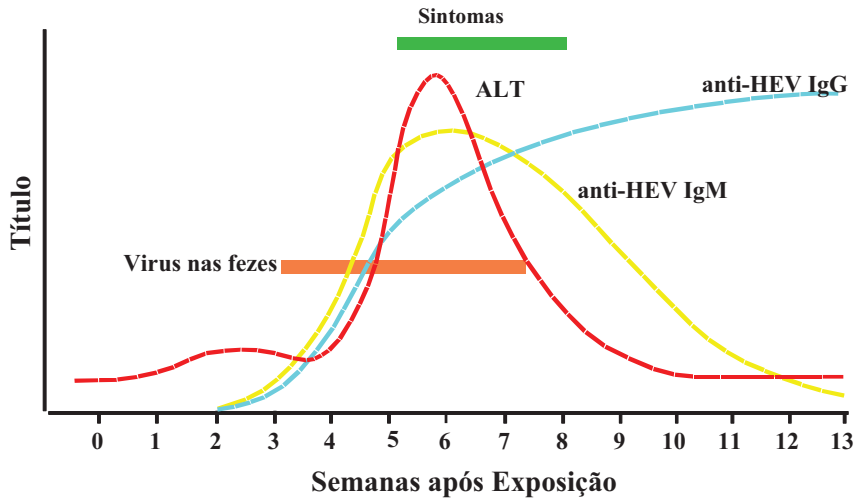


Figura 27. Dinâmica dos principais marcadores utilizados no diagnóstico da infecção pelo vírus da hepatite E
Fonte: Gonçalves, 2013.

12 Sistematização do diagnóstico das hepatites virais conforme requisição

Tabela 6. Sistematização do diagnóstico das hepatites virais conforme requisição

Requisição	Agravo	Conduta
"Sorologia de hepatite" (sem explicitar quais os marcadores a ser investigados)	Realizar diagnóstico das hepatites A, B e C	Realizar Fluxogramas 1, 3 e 8.
"Sorologia (ou diagnóstico) de HAV"	Realizar diagnóstico da hepatite A	Realizar Fluxograma 1
"Sorologia (ou diagnóstico) de HBV"	Realizar diagnóstico da hepatite B	Realizar Fluxograma 3
"Sorologia (ou diagnóstico) de hepatite B oculta"	Realizar diagnóstico da hepatite B (oculta)	Realizar Fluxograma 5
"Sorologia (ou diagnóstico) de hepatite B em menores de 18 meses"	Realizar diagnóstico da hepatite B	Realizar Fluxograma 6
"Sorologia (ou diagnóstico) de HCV"	Realizar diagnóstico da hepatite C	Realizar Fluxograma 8
"Sorologia (ou diagnóstico) de hepatite C em menores de 18 meses"	Realizar diagnóstico da hepatite C	Realizar Fluxograma 9

Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

13 Situações especiais no diagnóstico das hepatites

Tabela 7. Situações especiais no diagnóstico das hepatites

Agravo	Justificativa da requisição	Conduta
Hepatite C	Suspeita de hepatite C aguda	Realizar teste molecular*
Hepatite D	Suspeita de hepatite D (ou delta)	Realizar pesquisa de anticorpos anti-delta
Hepatite E	Suspeita de hepatite E	Realizar pesquisa de anticorpos anti-HEV ou encaminhar para laboratório de referência em hepatites virais*

* O diagnóstico somente será confirmado após soroconversão para anti-HCV, a qual irá depender da janela imunológica (período de até 90 dias).
Fonte: Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais/SVS/MS.

Em caso de suspeita de infecção pelo HEV, a unidade solicitante deverá entrar em contato com o Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais pelo e-mail clab@aids.gov.br para a definição da data da coleta da amostra e o procedimento de preenchimento da ficha de solicitação, na qual deverá ser confirmada a exclusão de outros agentes infecciosos (citados no item 11.5).

14 Tecnovigilância

A Tecnovigilância, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), do Ministério da Saúde, tem por objetivo monitorar e, quando apropriado, verificar a segurança sanitária e o desempenho de produtos para saúde na etapa pós-comercialização (equipamentos, materiais, artigos médico-hospitalares, implantes e produtos para diagnóstico de uso *in-vitro*), com vistas a identificar eventos e desvios da qualidade que produzem ou, potencialmente, podem produzir resultados inesperados ou indesejáveis, afetando a segurança do paciente. Consiste em um sistema de vigilância de eventos adversos (EA) e queixas técnicas (QT) em relação a esses produtos e recomenda a adoção de medidas que garantam a proteção e a promoção da saúde da população. Considera-se EA o evento que causou dano à saúde de um indivíduo. Se, até o momento da notificação, o problema observado no produto ainda não tiver acarretado nenhum dano à saúde, este deverá ser notificado como QT.

Outro objetivo importante da Tecnovigilância é a coordenação nacional dessas atividades de monitoramento. As diversas competências dessa área da Anvisa estão descritas na Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, atualizada pela Portaria nº 406, de 14 de outubro de 2005.

Os EA e as QT de produtos para a saúde, na fase de pós-comercialização, podem ser notificados à Tecnovigilância/Anvisa/Ministério da Saúde pelo Notivisa. Trata-se de um sistema informatizado em plataforma web, previsto pela Portaria n° 1.660, de 22 de julho de 2009, do Ministério da Saúde.

Podem utilizar o Notivisa os profissionais de serviços de saúde; a Anvisa; as Vigilâncias Sanitárias Estaduais e Municipais; as Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde; Laboratórios de Saúde Pública; Universidades/ Centros de Pesquisa; profissionais que atuam em drogarias, farmácias e em empresas detentoras de registro de produtos sob vigilância sanitária (fabricantes, importadores e distribuidores) e os profissionais de saúde liberais. Para acessar o sistema, é preciso se cadastrar de acordo com a categoria do notificante. Por exemplo, profissional liberal deve se cadastrar como profissional de saúde, mas se for um profissional vinculado a alguma instituição/empresa, deve providenciaro cadastro institucional. Os cidadãos poderão notificar EA e QT por meio dos formulários próprios de notificação.

O sistema Tecnovigilância da Anvisa está disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/notivisa/apresenta.htm e a notificação avulsa em: http://www.anvisa.gov.br/sistec/notificacaoavulsa/notificacaoavulsa1.asp.

15 Referências

ABBAS, Z.; AFZAL, R. Life cycle and pathogenesis of hepatitis D virus: A review. **World journal of hepatology**, [S.l.], v. 5, n. 12, p. 666-75, 27 dez. 2013.

AKUTA, N.; KUMADA, H. Influence of hepatitis B virus genotypes on the response to antiviral therapies. **The Journal of antimicrobial chemotherapy,** [S.l.], v. 55, n. 2, p. 139-42, fev. 2005.

ALVARADO MORA, M. V.; PINHO, J. R. R. Epidemiological update of hepatitis B, C and delta in Latin America. **Antiviral therapy,** [S.l.], v. 18, n. 3 Pt B, p. 429-33, jan. 2013.

ARAUJO, N. M. et al. High proportion of subgroup A' (genotype A) among Brazilian isolates of Hepatitis B virus. Archives of virology, [S.l.], v. 149, n. 7, p. 1383-95, jul. 2004.

ASHFAQ, U. A et al. An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. **Virology journal,** [S.l.], v. 8, n. 1, p. 161, jan. 2011.

ASPINALL, E. J. et al. Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. **Occupational medicine,** Oxford, v. 61, n. 8, p. 531-40, dez. 2011.

BARON, J. L. et al. Activation of a Nonclassical NKT Cell Subset in a Transgenic Mouse Model of Hepatitis B Virus Infection. **Immunity,** [S.l.], v. 16, n. 4, p. 583-594, 4 abr. 2002.

BARTENSCHLAGER, R.; COSSET, F.-L.; LOHMANN, V. Hepatitis C virus replication cycle. **Journal of hepatology,** [S.l.], v. 53, n. 3, p. 583-5, set. 2010.

BARTOSCH, B. et al. Cell entry of hepatitis C virus requires a set of co-receptors that include the CD81 tetraspanin and the SR-B1 scavenger receptor. **The Journal of biological chemistry,** [S.l.], v. 278, n. 43, p. 41624-30, out. 2003.

BELD, M. et al. Performance of the New Bayer VERSANT HCV RNA 3.0 Assay for Quantitation of Hepatitis C Virus RNA in Plasma and Serum: Conversion to International Units and Comparison with the Roche COBAS Amplicor HCV Monitor, Version 2.0, Assay. **Journal of Clinical Microbiology,** [S.l.], v. 40, n. 3, p. 788-793, 1 mar. 2002.

BLANCHARD, E.; et al. Hepatitis C virus entry depends on clathrin-mediated endocytosis. **Journal of Virology,** [S.l.], v. 80, n. 14, p. 6964-72, jul. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite Viral C e Coinfecções.** Brasília: Ministério da Saúde.

_____ Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **A B C D E do Diagnóstico para as Hepatites Virais.** Brasília: Ministério da Saúde, 2009a. 1. ed. p. 24.

_____Ministério da Saúde. **Hepatites virais: o Brasil está atento.** Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/hepatites_virais_brasil_atento_3ed.pdf>. Acesso em: 29 maio 2014. 2014b.

_____Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfecções.** Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

_____Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Vacina | Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais.** Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites>. Acesso em: 11 nov. 2014.

_____Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Hepatite B | Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais.** Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/hepatite-b>. Acesso em: 11 nov. 2014.

CALIENDO, A. M. et al. Multilaboratory evaluation of real-time PCR tests for hepatitis B virus DNA quantification. **Journal of clinical microbiology,** [S.l.], v. 49, n. 8, p. 2854-8, ago. 2011.

CAMPIOTTO, S. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biolocigal Research,** [S.l.], v. 38, n. 1, p. 41-49, 2005.

CAO, D.; MENG, X. J. Molecular biology and replication of hepatitis E virus. **Emerging Microbes & Infections,** [S.l.], v. 1, n. 8, p. e17, 22 ago. 2012.

CAO, G. W. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations. **World journal of gastroenterology**: WJG, [S.l.], v. 15, n. 46, p. 5761-9, 14 dez. 2009.

CHEVALIEZ, S.; PAWLOTSKY, J. M. Virology of hepatitis C virus infection. **Best practice & research. Clinical gastroenterology,** [S.l.], v. 26, n. 4, p. 381-9, ago. 2012.

CHEVALIEZ, S.; RODRIGUEZ, C.; PAWLOTSKY, J.-M. New virologic tools for management of chronic hepatitis B and C. **Gastroenterology,** [S.l.], v. 142, n. 6, p. 1303-1313.e1, maio 2012.

CIANCIO, A.; RIZZETTO, M. Chronic hepatitis D at a standstill: where do we go from here? Nature reviews. **Gastroenterology & hepatology,** [S.l.], v. 11, n. 1, p. 68-71, 10 jan. 2014.

CUTHBERT, J. A. Hepatitis A: old and new. **Clinical microbiology reviews,** [S.l.], v. 14, n. 1, p. 38-58, jan. 2001.

DA CONCEIÇAO, O. J. G.; SICILIANO, R. F.; FOCACCIA, R. Hepatite A: Patogenia. In: FOCACCIA, R. (Ed.). **Tratado de Hepatites Virais e Doenças Associadas.** 3. ed. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. p. 245-247.

DA ROSA, L. et al. Diagnostic Performance of Two Point-of-Care Tests for Anti-HCV Detection. **Hepatitis monthly,** [S.l.], v. 13, n. 9, p. e12274, jan. 2013.

DREXLER, J. F. et al. Performance of the novel Qiagen artus QS-RGQ viral load assays compared to that of the Abbott RealTime system with genetically diversified HIV and hepatitis C Virus plasma specimens. **Journal of clinical microbiology,** [S.l.], v. 50, n. 6, p. 2114-7, jun. 2012.

DUSTIN, L. B.; RICE, C. M. Flying under the radar: the immunobiology of hepatitis C. **Annual review of immunology,** [S.l.], v. 25, p. 71-99, jan. 2007.

ECHEVARRÍA, J. M. Light and Darkness: Prevalence of Hepatitis E Virus Infection among the General Population. **Scientifica**, [S.l.], v. 2014, p. 481016, jan. 2014.

EVANS, M.; HAHN, T. VON; TSCHERNE, D. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. **Nature,** [S.l.], v. 446, n. 7137, p. 801-5, abr. 2007.

FERREIRA, R. C. et al. Prevalence of hepatitis B virus and risk factors in Brazilian non-injecting drug users. **Journal of medical virology,** [S.l.], v. 81, n. 4, p. 602-9, abr. 2009.

FIELDS, B. N.; KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields' Virology.** 5. ed. [S.l.]: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

FRANCISCUS, A.; HIGHLEYMAN, L. HCV Viral Load Tests. HCSP Fact Sheet, **Sacramento,** v. 5, p. 1-3, 2014.

FUNG, J. et al. Hepatitis B Surface Antigen Seroclearance: Relationship to Hepatitis B e-Antigen Seroclearance and Hepatitis B e-Antigen-Negative Hepatitis. **The American journal of gastroenterology,** [S.l.], v. 109, n. 11, p. 1764-70, nov. 2014.

GASPAR, A. M. C.; VITRAL, C. L. A.; DE OLIVEIRA, J. M. Biologia Molecular do Vírus da Hepatite A. In: FOCCACIA, R. (Ed.). **Tratado de Hepatites Virais e Doenças Associadas.** São Paulo: Editora Atheneu, 2013. 3. ed. p. 249-255.

GERLICH, W. H. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. **Virology journal,** [S.l.], v. 10, n. 1, p. 239, jan. 2013.

GONÇALES, N. S. L. Vírus da Hepatite E: Virologia Molecular, Quadro Clínico, Diagnóstico, Transmissão e Prevençao. In: FOCACCIA, R. (Ed.). **Tratado de Hepatites Virais e Doenças Associadas.** 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. p. 973-985.

GONÇALVES JUNIOR, F. L. Hepatite por Vírus B: História Natural da Infecção. In: **Tratado de Hepatites Virais e Doenças Associadas.** São Paulo: Editora Atheneu, 2013. 3. ed. p. 327-339.

GUETTOUCHE, T.; HNATYSZYN, H. J. Chronic hepatitis B and viral genotype: the clinical significance of determining HBV genotypes. **Antiviral therapy,** [S.l.], v. 10, n. 5, p. 593-604, jan. 2005.

GUIDOTTI, L. G. et al. Intracellular Inactivation of the Hepatitis B Virus by Cytotoxic T Lymphocytes. **Immunity,** [S.l.], v. 4, n. 1, p. 25-36, 1 jan. 1996.

GUIDOTTI, L. G. et al. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. **Science,** New York, v. 284, n. 5415, p. 825-9, 30 abr. 1999.

GÜNTHER, S. Genetic variation in HBV infection: genotypes and mutants. **Journal of Clinical Virology,** [S.l.], v. 36, p. S3-S11, 5 maio 2006.

HADZIYANNIS, S. Review: hepatitis delta. **Journal of gastroenterology and Hepatology,** [S.l.], v. 12, n. 4, p. 289-298, apr. 1997.

HEIAT, M.; RANJBAR, R.; ALAVIAN, S. M. Classical and modern approaches used for viral hepatitis diagnosis. **Hepatitis monthly,** [S.l.], v. 14, n. 4, p. e17632, abr. 2014.

HUGHES, S. A.; WEDEMEYER, H.; HARRISON, P. M. Hepatitis delta virus. **Lancet,** [S.l.], v. 378, n. 9785, p. 73-85, 2 jul. 2011.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). **Virus Taxonomy: 2013 Release.** Disponível em: <http://ictvonline.org/virustaxonomy.asp>. Acesso em: 12 dez. 2014.

ISMAIL, A. M. et al. Performance characteristics and comparison of Abbott and artus real-time systems for hepatitis B virus DNA quantification. **Journal of clinical microbiology,** [S.l.], v. 49, n. 9, p. 3215-21, set. 2011.

JONAS, M. M. Hepatitis B and pregnancy: an underestimated issue. **Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver,** [S.l.], v. 29, Suppl 1, p. 133-9, jan. 2009.

KAKIMI, K. et al. Cutting Edge: Inhibition of Hepatitis B Virus Replication by Activated NK T Cells Does Not Require Inflammatory Cell Recruitment to the Liver. **The Journal of Immunology,** [S.l.], v. 167, n. 12, p. 6701-6705, 15 dez. 2001.

KAMILI, S. Toward the development of a hepatitis E vaccine. **Virus research,** [S.l.], v. 161, n. 1, p. 93-100, out. 2011.

KAWATANI, T. et al. Incidence of hepatitis virus infection and severe liver dysfunction in patients receiving chemotherapy for hematologic malignancies. **European Journal of Haematology,** [S.l.], v. 67, n. 1, p. 45-50, jul. 2001.

KHUDYAKOV, Y.; KAMILI, S. Serological diagnostics of hepatitis E virus infection. **Virus research,** [S.l.], v. 161, n. 1, p. 84-92, out. 2011.

KHUROO, M. S. Discovery of hepatitis E: the epidemic non-A, non-B hepatitis 30 years down the memory lane. **Virus research,** [S.l.], v. 161, n. 1, p. 3-14, out. 2011.

KIM, C. W.; CHANG, K. M. Hepatitis C virus: virology and life cycle. **Clinical and molecular hepatology,** [S.l.], v. 19, n. 1, p. 17-25, mar. 2013.

KOUTSOUDAKIS, G. et al. Characterization of the early steps of hepatitis C virus infection by using luciferase reporter viruses. **Journal of virology,** [S.l.], v. 80, n. 11, p. 5308v20, jun. 2006.

LAU, G. K. K. High hepatitis B virus (HBV) DNA viral load as the most important risk factor for HBV reactivation in patients positive for HBV surface antigen undergoing autologous hematopoietic cell transplantation. **Blood,** [S.l.], v. 99, n. 7, p. 2324–2330, 1 abr. 2002.

LEE, J. M.; AHN, S. H. Quantification of HBsAg: basic virology for clinical practice. **World journal of gastroenterology: WJG,** [S.l.], v. 17, n. 3, p. 283-9, 21 jan. 2011.

LEMON, S. M. Type A viral hepatitis: epidemiology, diagnosis, and prevention. **Clinical chemistry,** [S.l.], v. 43, n. 8, Pt 2, p. 1494-9, ago. 1997.

LIANG, T. J. Hepatitis B: the virus and disease. **Hepatology,** Baltimore, v. 49, n. 5, Suppl., p. S13-21, maio 2009.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. The ins and outs of hepatitis C virus entry and assembly. **Nature reviews: Microbiology,** [S.l.], v. 11, n. 10, p. 688-700, 10 set. 2013.

LUPBERGER, J. et al. EGFR and EphA2 are host factors for hepatitis C virus entry and possible targets for antiviral therapy. **Nature medicine,** [S.l.], v. 17, n. 5, p. 589-95, maio 2011.

MARUYAMA, T. et al. The serology of chronic hepatitis B infection revisited. **The Journal of clinical investigation,** [S.l.], v. 91, n. 6, p. 2586-95, jun. 1993.

MATHENY, S. C.; KINGERY, J. E. Hepatitis A. **American family physician,** [S.l.], v. 86, n. 11, p. 1027-34, quiz 1010-2, dez. 2012.

MATHEW, B. C.; BIJU, R. S.; THAPALIA, N. An overview of electrochemiluminescent (ECL) technology in laboratory investigations. **Kathmandu University medical journal (KUMJ),** [S.l.], v. 3, n. 1, p. 91-3, 2005.

MATOS, M. A. D. DE et al. Occult hepatitis B virus infection among injecting drug users in the Central-West Region of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,** [S.l.], v. 108, n. 3, p. 386-389, maio 2013.

MCCLARY, H. et al. Relative Sensitivity of Hepatitis B Virus and Other Hepatotropic Viruses to the Antiviral Effects of Cytokines. **Journal of Virology,** [S.l.], v. 74, n. 5, p. 2255-2264, 1 mar. 2000.

MEHTA, S. H. et al. Protection against persistence of hepatitis C. **Lancet,** [S.l.], v. 359, n. 9316, p. 1478-83, 27 abr. 2002.

MELLO, F. C. A. et al. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. **BMC microbiology,** [S.l.], v. 7, p. 103, 2007.

MESSINA, J. P. et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology,** [S.l.], v. 61, n. 1, p. 77-87, jan. 2015.

MIRAZO, S. et al. Transmission, diagnosis, and management of hepatitis E: an update. Hepatic Medicine: **Evidence and Research,** [S.l.], v. 6, p. 45-59, jan. 2014.

MONAZAHIAN, M. et al. Low density lipoprotein receptor as a candidate receptor for hepatitis C virus. **Journal of medical virology,** [S.l.], v. 57, n. 3, p. 223-9, mar. 1999.

MORADPOUR, D.; PENIN, F.; RICE, C. M. Replication of hepatitis C virus. **Nature reviews: Microbiology,** [S.l.], v. 5, n. 6, p. 453-63, jun. 2007.

NAINAN, O. V et al. Diagnosis of hepatitis A virus infection: A molecular approach. **Clinical Microbiology Reviews,** [S.l.], v. 19, n. 1, p. 63-79, jan. 2006.

NGUYEN, M. H.; KEEFFE, E. B. Are hepatitis B e antigen (HBeAg)-positive chronic hepatitis B and HBeAg-negative chronic hepatitis B distinct diseases? **Clinical infectious diseases,** [S.l.], v. 47, n. 10, p. 1312-4, 15 nov. 2008.

NGUYEN, T.; LOCARNINI, S. Hepatitis: Monitoring drug therapy for hepatitis B: a global challenge? **Nature Reviews: Gastroenterology & Hepatology,** [S.l.], v. 6, n. 10, p. 565-7, out. 2009.

OCANA, S. et al. Diagnostic strategy for occult hepatitis B virus infection. **World journal of gastroenterology: WJG,** [S.l.], v. 17, n. 12, p. 1553-7, 28 mar. 2011.

PARVEZ, M. K. Chronic hepatitis E infection: risks and controls. **Intervirology,** [S.l.], v. 56, n. 4, p. 213-6, jan. 2013.

PEARLMAN, B. L. Protease inhibitors for the treatment of chronic hepatitis C genotype-1 infection: the new standard of care. **The Lancet infectious diseases,** [S.l.], v. 12, n. 9, p. 717-28, set. 2012.

PEREIRA, L. M. B.; XIMENES, R. A. DE A.; MOREIRA, R. C. **Estudo de prevalência de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C nas capitais do Brasil.** Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2010.

PILERI, P. et al. Binding of hepatitis C virus to CD81. **Science,** New York, v. 282, n. 5390, p. 938v41, out. 1998.

PLOSS, A. et al. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. **Nature,** [S.l.], v. 457, n. 7231, p. 882-6, fev. 2009.

REHERMANN, B. et al. Hepatitis B virus (HBV) sequence variation of cytotoxic T lymphocyte epitopes is not common in patients with chronic HBV infection. **The Journal of clinical investigation,** [S.l.], v. 96, n. 3, p. 1527-34, set. 1995.

REHERMANN, B. et al. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. **Nature medicine,** [S.l.], v. 2, n. 10, p. 1104-8, out. 1996.

REHERMANN, B.; NASCIMBENI, M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. **Nature reviews. Immunology,** [S.l.], v. 5, n. 3, p. 215-29, mar. 2005.

RICE, C. M. New insights into HCV replication: potential antiviral targets. **Topics in antiviral medicine,** [S.l.], v. 19, n. 3, p. 117-20, 2011.

SABLON, E.; SHAPIRO, F. Advances in molecular diagnosis of HBV infection and drug resistance. ***International journal of medical sciences,*** [S.l.], v. 2, n. 1, p. 8-16, 2005.

SCALIONI, L. DE P. et al. Performance of rapid hepatitis C virus antibody assays among high- and low-risk populations. **Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology,** [S.l.], v. 60, n. 3, p. 200-5, 1 jul. 2014.

SCHAEFER, S. Hepatitis B virus: significance of genotypes. **Journal of Viral Hepatitis,** [S.l.], v. 12, n. 2, p. 111-124, mar. 2005.

SCHEEL, T. K. H.; RICE, C. M. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. **Nature medicine,** [S.l.], v. 19, n. 7, p. 837-49, jul. 2013.

SCHEIBLAUER, H. et al. Performance evaluation of 70 hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HBsAg) assays from around the world by a geographically diverse panel with an array of HBV genotypes and HBsAg subtypes. **Vox sanguinis,** [S.l.], v. 98, n. 3 Pt 2, p. 403-14, abr. 2010.

SEEGER, C.; MASON, W. S. Hepatitis B Virus Biology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews,** [S.l.], v. 64, n. 1, p. 51-68, 1 mar. 2000.

SILVA, C. et al. The influence of occult infection with hepatitis B virus on liver histology and response to interferon treatment in chronic hepatitis C patients. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases,** [S.l.], v. 8, p. 431-439, 2004.

SIMMONDS, P. **Hepatitis C Virus: From Molecular Virology to Antiviral Therapy.** Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013. v. 369. p. 1-15.

SITNIK, R.; PINHO, J. Hepatitis B virus genotypes and precore and core mutants in Brazilian patients. **Journal of Clinical Microbiology,** [S.l.], v. 42, n. 6, p. 2455-2460, 2004.

SMEDILE, A. et al. Hepatite Delta: Historia Natural - Transmissão - Imunodiagnostico. In: FOCACCIA, R. (Ed.). **Tratado de Hepatites Virais e Doenças Associadas.** 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. p. 939-955.

SMITH, D. B. et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. **Hepatology, Baltimore,** v. 59, n. 1, p. 318-27, jan. 2014.

STRAUSS, E. História Natural da Hepatite C - Fatores de Progressão. Avaliação Prognóstica da Hepatite C Crônica. In: ROBERTO FOCCACIA (Ed.). **Tratado de Hepatites Virais e Doenças Associadas.** 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. p. 453-470.

TATEMATSU, K. et al. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. **Journal of virology,** [S.l.], v. 83, n. 20, p. 10538-47, out. 2009.

THIMME, R. et al. CD8+ T Cells Mediate Viral Clearance and Disease Pathogenesis during Acute Hepatitis B Virus Infection. **Journal of Virology,** [S.l.], v. 77, n. 1, p. 68-76, 1 jan. 2003.

TRAN, T. T. H.; TRINH, T. N.; ABE, K. New complex recombinant genotype of hepatitis B virus identified in Vietnam. Journal of virology, [S.l.], v. 82, n. 11, p. 5657-63, jun. 2008.

VILLAR, L. M. et al. Co-circulation of genotypes IA and IB of hepatitis A virus in Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research,** [S.l.], v. 39, n. 7, p. 873-881, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hepatitis E., 2014.** Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/en/>. Acesso em: 12 dez. 2014.

_____ **List of diagnostics eligible to tender for procurement by WHO in 2013 (including WHO prequalified diagnostics), 2013.** Disponível em: <http://www.who.int/diagnostics_laboratory/procurement/130723_eligible_hiv_products_for_procurement_2013.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2014.

_____ **Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis c infection.** Geneva: World Health Organization, 2014.

_____ **Hepatitis Delta.** World Health Organization, 2001. Disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrncs20011/en/>. Acesso em: 12 dez. 2014.

_____ **Hepatitis B**. Genebra: World Health Organization, nov. 2002. p. 904-907.

ZEISEL, M. B. et al. Scavenger receptor class B type I is a key host factor for hepatitis C virus infection required for an entry step closely linked to CD81. Hepatology, Baltimore, v. 46, n. 6, p. 1722-31, dez. 2007.

ZHANG, J. et al. Hepatitis E virus: neutralizing sites, diagnosis, and protective immunity. **Reviews in medical virology,** [S.l.], v. 22, n. 5, p. 339-49, set. 2012.

16 Glossário

Ácido nucleico: Macromoléculas formadas por unidades monoméricas denominadas nucleotídeos. São as moléculas onde estão armazenadas as informações genéticas.

Algoritmo: Sequência de procedimentos utilizados para a resolução de problemas.

Aminotransferases: São enzimas essenciais envolvidas no metabolismo. São liberadas na corrente sanguínea quando ocorre dano na membrana dos hepatócitos.

Amplicon: Fragmento de DNA resultante de um evento de replicação ou amplificação, que pode ser natural ou artificial.

Anictérico: Pessoa com pele de aspecto normal, sem presença de Icterícia ou sinal de bilirrubina na pele.

Anorexia: Distúrbio alimentar que provoca perda de peso acima do que é considerado saudável considerando parâmetros como idade e peso.

Anticorpo: É uma proteína (imunoglobulina), produzida por linfócitos B, que se liga especificamente a uma substância reconhecida como estranha pelo organismo.

Antígeno: Qualquer substância ou material que possa estimular a produção de anticorpos em um organismo.

Bilirrubinas: Pigmentos resultantes da quebra de grupamentos químicos, principalmente provenientes do grupamento heme. Normalmente circulam no plasma sanguíneo, são absorvidas pelas células do fígado e secretadas na bílis.

Cap: Estrutura típica do mRNA eucariótico, sua função é de proteção contra a degradação do RNA por enzimas celulares e como promotores da ligação do mRNA com os ribossomos.

Carga viral: É a quantificação das partículas virais no plasma (HBV DNA ou HCV RNA). É conhecida também como teste molecular quantitativo.

Cirrose: Doença crônica do fígado que se caracteriza pela presença de fibrose e a formação de nódulos que impedem a circulação sanguínea.

Comunicantes: Contatos intradomiciliares, sexuais ou qualquer um que compartilhe objetos de uso pessoal do portador das hepatites virais (escova de dente, lâmina de barbear e outros objetos de uso pessoal). No caso de pessoas que fazem uso de drogas, estão incluídos aqueles que compartilham quaisquer materiais para o uso (seringas, agulhas, canudos, cachimbos e etc).

Custo-efetivo: É aquele que apresenta o melhor resultado em uma avaliação econômica que considera distintas intervenções de saúde e com seus resultados expressos em unidades monetárias e os efeitos em unidades clínico-epidemiológicas.

Diagnóstico etiológico: Refere-se ao diagnóstico realizado por médico a respeito de uma determinada doença a partir da comprovação de sua causa, seja por meio de método clínico ou por exames laboratoriais.

Área endêmica: Espaço ou região onde existe a ocorrência de um grande número de casos de uma doença de forma contínua.

Epítopo: Também conhecido como determinante antigênico, é a parte de um antígeno que é reconhecida pelo sistema imune.

Espécie química: Termo que se refere às diversas formas com as quais elementos ou substâncias químicas existem na natureza ou em uma reação. Podem ser átomos, íons, moléculas ou radicais.

Fase de leitura aberta: Sequencia de DNA que pode ser traduzida em proteína após ser reconhecida por ribossomos.

Fluido crevicular gengival: Líquido encontrado no sulco gengival, contendo proteínas plasmáticas e anticorpos. É obtido pressionando a gengiva acima dos dentes.

Fluido oral: Denominação popular para o fluido crevicular gengival.

Fluxograma: Diagrama que pode ser entendido como uma representação esquemática de um processo.
Fosfatase alcalina: Enzima hepática cujos níveis circulantes podem se elevar, entre outros, nos casos de doença hepática.
Iatrogênica: Reação adversa por uso de medicamento.
Ictérica: Pessoa com coloração amarelada na pele e mucosas devido ao aumento dos níveis de bilirrubina no sangue.
Imunoensaio: É um método que detecta a presença de um complexo antígeno-anticorpo em uma amostra biológica.
Imunossuprimido/imunodeprimido/imunodeprimido: Os termos se referem aos indivíduos onde ocorre a redução das reações imunitárias no organismo. A origem pode ser o tratamento terapêutico com medicamentos imunossupressores, a infecção por agentes etiológicos (como o vírus causador da aids, o HIV) ou ainda o tratamento quimioterápico para o câncer.
Infecção Oculta pelo Vírus da Hepatite B (IOB): É a detecção do DNA do HBV no soro ou no tecido hepático de pacientes negativos para o HBsAg.
Interferons: Proteínas da família das citocinas. Estimulam a resposta imune contra patógenos como vírus, bactérias, parasitas e células tumorais.
Janela diagnóstica: É um conceito mais amplo que o de janela imunológica. O período de janela diagnóstica é o tempo decorrido entre a infecção e o aparecimento ou detecção de um marcador da infecção, seja ele DNA viral, RNA viral, antígeno ou anticorpo. A duração desse período depende do tipo do teste, da sensibilidade do teste e do método utilizado para detectar o marcador.
Janela imunológica: É a duração do período entre uma infecção até a primeira detecção de anticorpos contra o agente infeccioso.
Linfocitose: Aumento do número de linfócitos no sangue.
ORF: Do inglês Open Reading Frame, o mesmo que Fase Aberta de Leitura.
Parênquima: Tecido com a função principal de um determinado órgão.
Populações vulneráveis: Pessoas e grupos mais susceptíveis às infecções e adoecimentos dos que outras, uma vez que dispõem de menos possibilidades de se proteger, se prevenir ou cujo comportamento as expõe a fontes de infecção.
Ribonucleoproteína: Complexo contendo proteínas e ácido ribonucleico (RNA).
Sensibilidade analítica: É a capacidade de um procedimento analítico em gerar um sinal para uma definida mudança de quantidade ou ângulo de inclinação da curva de calibração.
Serviço de Saúde: É o conjunto de instituições prestadoras de serviços de saúde no nível municipal, estadual e federal. Deve-se observar a estrutura do sistema de saúde local para o encaminhamento imediato do paciente ou de sua amostra dos locais de triagem para um laboratório com infraestrutura suficiente para confirmar o diagnóstico.
Tropismo: É a propensão que um vírus possui em infectar determinado tipo de célula. É diretamente relacionado ao reconhecimento de receptores celulares pelas proteínas virais.
Valor preditivo positivo: É a proporção de indivíduos com um resultado positivo em um teste e que apresentam a doença ou condição de interesse. Esse valor, normalmente, é apresentado em porcentagem.
Via parenteral: É a administração de fármacos ou nutrição por meios injetáveis, sejam eles intradérmicos, subcutâneos, intramusculares ou endovenosos.
Vírion: É a partícula viral completa que está estruturalmente intacta e é infecciosa.

DISQUE SAÚDE
136
Ouvidoria Geral do SUS
www.saude.gov.br

Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde
www.saude.gov.br/bvs

Organização Pan-Americana da Saúde
Organização Mundial da Saúde
ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS Américas
SUS
Ministério da Saúde
GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA