



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
E SAÚDE PÚBLICA**

JERUSA MARIELLE NUNES SEABRA DE OLIVEIRA

**SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE E EM
PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS EM GOIÂNIA-GOIÁS**

**Goiânia
2016**

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

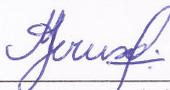
Nome completo do autor: Jerusa Marielle Nunes Seabra de Oliveira

Título do trabalho: Soroprevalência da infecção pelo vírus da hepatite E em pacientes transplantados renais em Goiânia – Goiás.

3. Informações de acesso ao documento:

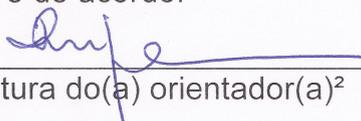
Concorda com a liberação total do documento **SIM** **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 26 / 07 /2018.

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

JERUSA MARIELLE NUNES SEABRA DE OLIVEIRA

**SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE E EM
PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS EM GOIÂNIA-GOÍÁS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Maria Bringel Martins

Goiânia

2016

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Nunes Seabra de Oliveira, Jerusa Marielle
SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE E
EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS EM GOIÂNIA-GOIÁS
[manuscrito] / Jerusa Marielle Nunes Seabra de Oliveira. - 2016.
xvi, 69 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de
Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) , Programa de Pós
Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Goiânia, 2016.

Inclui siglas, mapas, abreviaturas, símbolos, tabelas, lista de figuras,
lista de tabelas.

1. Hepatite E. 2. Transplantados Renais. 3. Soroprevalência. 4.
Goiânia. I. Maria Bringel Martins, Regina , orient. II. Título.



ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE JERUSA MARIELLE NUNES SEABRA DE OLIVEIRA - Aos vinte e seis dias do mês de fevereiro do ano de 2016 (26/02/2016), às 8:30 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profs. Drs. REGINA MARIA BRINGEL MARTINS, RODRIGO SEBBA AIRES e MARILIA DALVA TURCHI, para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada no INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: **“SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE E EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS EM GOIÂNIA-GOIÁS”**, em nível de **MESTRADO**, área de concentração em **DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**, de autoria de **JERUSA MARIELLE NUNES SEABRA DE OLIVEIRA**, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Orientadora, Profa. Dra. **REGINA MARIA BRINGEL MARTINS**, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou a Candidata sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida a autora da dissertação que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu a Candidata, tendo-se adotado o sistema de diálogo seqüencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 1304/2014 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública a Banca, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando a candidata **Aprovada** ou **Reprovada**:

Banca Examinadora

Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins

Prof. Dr. Rodrigo Sebba Aires

Profa. Dra. Marília Dalva Turchi

Aprovada / Reprovada

Aprovada

Aprovada

Aprovada

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata habilitada, (**Habilitada ou não Habilitada**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **MESTRE EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**, na área de concentração em **DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às 10 h 30 min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de tese e para constar eu, JOSÉ CLEMENTINO DE OLIVEIRA NETO, secretário do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor.

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:

sem alteração

Assinatura

Profa. Dra. Regina Maria Bringel Martins (IPTSP/UFG)

Prof. Dr. Rodrigo Sebba Aires (FM/UFG)

Profa. Dra. Marília Dalva Turchi (IPTSP/UFG)

Secretário da Pós-Graduação:

[Assinatura]
[Assinatura]
[Assinatura]
[Assinatura]

DEDICATÓRIA

*A Deus, por ser essencial em minha vida, meu guia e socorro presente em todas as horas.
Aos meus pais, Osvaldira e Maurício; meu esposo Luciano; meus filhos Lucas e Bruno;
e a toda minha família que com muito carinho e apoio, não mediram esforços para a
realização desse sonho.*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Regina Maria Bringel Martins, pela impecável orientação, dedicação, paciência, conhecimento compartilhado e apoio nos momentos difíceis.

À Nara Rúbia de Freitas, por apresentar-me à oportunidade e pessoas maravilhosas, estando ao meu lado em todos os momentos (do projeto à conclusão) com apoio científico e emocional.

A todos companheiros do Laboratório de Virologia IPTSP/UFG, Ágabo Macêdo da Costa Silva, Andréia Alves de Andrade, Brunna Rodrigues de Oliveira, Gabryella Teixeira dos Santos, Marina Pedroso de Oliveira que contribuíram de várias formas: nas coletas, criação do banco de dados, realização de exames sorológicos e moleculares, conferência de referências e busca de soluções diante dos desafios ao longo do percurso.

À Sueli Meira da Silva, pela disponibilidade e alegria matinal no processo de coleta das amostras de sangue.

À Prof^a Dr^a Sheila Araújo Teles, pelo auxílio na análise do banco de dados.

À minha colega de profissão Dra Sílvia Marçal Botelho, por todo apoio e palavras de fé, além de substituir-me nos afazeres médicos sempre que foi necessário.

Aos demais colegas médicos transplantadores da Santa Casa De Misericórdia de Goiânia, que apoiaram e convidaram os seus pacientes para participarem da pesquisa.

Às secretárias, em especial Mayanne Souza Silva, pelo compromisso e ajuda no convite aos pacientes e organização da minha agenda profissional.

A todos os pacientes que participaram espontaneamente desta pesquisa e são a razão da busca pelo conhecimento e aperfeiçoamento.

À Santa Casa de Misericórdia, por permitir transplantar e realizar a pesquisa ambulatorial.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública do IPTSP/UFG e todo seu quadro de funcionários e professores, pelo compromisso, apoio acadêmico e difusão do conhecimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pelo apoio financeiro para execução deste trabalho.

À banca do exame de qualificação, composta pelos professores: Prof^ª Dr^ª Márcia Alves Dias de Matos, Prof^ª Dr^ª Renata Carneiro Ferreira, Dr^º Rodrigo Sebba Aires, pelas importantes e precisas sugestões na conclusão desta dissertação.

Enfim, a todos aqueles que rezaram por mim e me desejaram votos de vitória. Em especial duas pessoas que sempre me incentivaram (e me cobraram) a realização do mestrado: minha amada mãe e a Prof^ª Dr^ª Edna Regina Silva Pereira.

A Deus, sem Ele nada sou.

Meu muito obrigado!

“Talvez seja este o aprendizado mais difícil: manter o movimento permanente, a renovação constante, a vida vivida como caminho e mudança.”

Maria Helena Kuhner

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS.....	xi
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	xii
RESUMO	xv
ABSTRACT.	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Considerações Iniciais	1
1.2. Vírus da Hepatite E.....	2
1.3. Características Clínicas.....	5
1.4. Diagnóstico	7
1.5. Epidemiologia.....	9
1.5.1 Reservatórios.....	9
1.5.2. Transmissão.....	11
1.5.3. Prevalência	14
1.5.4. Distribuição Geográfica dos Genótipos e Subtipos.....	16
1.6. Prevenção, Controle e Tratamento	18
1.7. Hepatite E em Transplantados Renais	21
2. JUSTIFICATIVA	25
3. OBJETIVOS.....	26
3.1. Objetivo Geral.....	26
3.2. Objetivos Específicos.....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1. Delineamento, Local e População do Estudo	27

4.2. Entrevista e Coleta de Sangue.....	28
4.3. Testes Sorológicos	29
4.4. Teste Molecular.....	30
4.5. Processamento e Análise dos Dados	31
5. RESULTADOS	32
5.1. Características da População Estudada	32
5.2. Prevalência da Infecção pelo VHE.....	37
5.3. Características dos Pacientes anti-VHE positivos	38
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – O vírus da hepatite E visto na microscopia eletrônica (modificada).....	3
Figura 2 – Genoma do VHE (modificada)	5
Figura 3 – Diagnóstico da infecção aguda pelo VHE (modificada).....	8
Figura 4 – Distribuição mundial dos reservatórios do VHE (modificada).....	10
Figura 5 – Modo de transmissão do VHE (modificada).....	12
Figura 6 –Níveis de endemicidade para VHE (modificada).....	14
Figura 7 –Distribuição geográfica dos diferentes genótipos do VHE (modificada)	17
Figura 8 – Tratamento da infecção pelo VHE em transplantados renais (modificada)..	24
Figura 9 – Fluxograma do estudo	28
Figura 10 – Distribuição dos pacientes estudados, conforme a etiologia da IRC	34

ÍNDICE DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Estudos de prevalência da infecção pelo VHE em transplantados renais ...	22
Quadro 2 - Sequência dos oligonucleotídeos utilizados no estudo	31
Tabela 1 - Características sociodemográficas dos 316 pacientes transplantados renais estudados em Goiânia-Goiás	33
Tabela 2 - Distribuição dos 316 transplantados renais estudados, segundo o tratamento da insuficiência renal crônica	35
Tabela 3 - Condições de moradia e comportamentos/práticas relacionadas à transmissão fecal-oral de 316 pacientes transplantados renais em Goiânia-GO	36
Tabela 4 - Prevalência do marcador anti-VHE IgG e IgM em 316 pacientes transplantados renais estudados.....	37
Tabela 5 - Características dos pacientes anti-VHE IgG positivos e negativos.....	38

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ABTO	Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos
ALT	Alanina aminotransferase
Anti-HCV	Anticorpos contra o vírus da hepatite C
cDNA	Ácido desoxirribonucléico complementar
Ct	<i>Cycle Threshold</i> /Ciclo limiar
D	Domínios hidrofóbicos
dNTPs	Desoxirribonucleotídeos trifosfatados
dp	Desvio padrão
DRPA	Doença renal policística do adulto
ELISA	Ensaio imunoenzimático
G	Grupos
HBsAg	Anticorpos contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
Hel	Helicase
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IRC	Insuficiência renal crônica
Kb	Kilobases
LAMP	<i>Loop-mediated Isothermal Amplification</i> /Amplificação isotérmica mediada por <i>loop</i>
MeT	Metiltransferase
mL	Mililitros
mTor	Inibidores do alvo da rapamicina nos mamíferos

N	Número
NANBNC	Hepatite não A, não B, não C
NAT	Ácidos nucleicos
nm	Nanômetro
NT	Nucleotídeos
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORF	<i>Open Reading Frames</i> /Regiões abertas de leitura
P	Domínio rico em prolina
PCP	Cisteína protease <i>like</i> papaína
PCR	Reação da polimerase em cadeia
PEG-IFN α	Interferon alfa peguilado
PNAD	Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios
Poli A	Poliadenina
RBT	Registro Brasileiro de Transplantes
RdRp	RNA polimerase-RNA-dependente
RNA	Ácido ribonucleico
RVS	Resposta virológica sustentada
SBN	Sociedade Brasileira de Nefrologia
SCMG	Santa Casa de Misericórdia de Goiânia
sm	Salário mínimo
SP	São Paulo
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMB	Tetrametilbenzidina
UDI	Usuários de drogas injetáveis

UFG	Universidade Federal de Goiás
UI/L	Unidades internacionais por litro
UTR	Região não traduzida
V	Região de proliprolina
VHE	Vírus da hepatite E
VHE-Ag	Antígeno do vírus da hepatite E
WHO	<i>World Health Organization</i>
μL	Microlitro

RESUMO

A infecção pelo vírus da hepatite E (VHE) é uma importante causa de hepatite aguda no mundo, podendo ainda ocasionar infecção crônica e rápida progressão para cirrose em receptores de transplante renal. Apesar da relevância desse tema, ainda são raras as investigações sobre o VHE no Brasil. Este é o primeiro estudo na Região Centro-Oeste com o objetivo de estimar a soroprevalência da infecção pelo vírus da hepatite E em pacientes transplantados renais em Goiânia-Goiás. Estudo de corte transversal em pacientes transplantados renais que se encontravam em acompanhamento médico ambulatorial na Santa Casa de Misericórdia de Goiânia, no período de abril a novembro de 2014. Dos 370 pacientes cadastrados, 316 foram entrevistados e submetidos à coleta de sangue para obtenção de amostras de soro. Destas, 10 amostras foram anti-VHE IgG reagentes e uma indeterminada por ensaio imunoenzimático (ELISA). Oito amostras foram subsequentemente confirmadas como positivas por immunoblot, resultando em uma prevalência de 2,5% (IC 95%: 1,2-5,1). O marcador anti-VHE IgM foi detectado em apenas uma amostra por ELISA/immunoblot. O RNA viral não foi detectado nas amostras anti-VHE positivas. A população estudada e os pacientes expostos ao VHE apresentaram comportamento/práticas de risco relacionados à transmissão parenteral, fecal-oral e zoonótica. Os achados deste estudo mostram uma soroprevalência baixa para infecção pelo VHE, indicando uma circulação reduzida desse vírus em transplantados renais em Goiânia-Goiás.

ABSTRACT

Hepatitis E virus (HEV) infection is an important cause of acute hepatitis in the world; in addition it may cause chronic infection and rapid progression to cirrhosis in renal transplant recipients. Despite of the relevance of this subject, the investigations concerning HEV in Brazil are still rare. This is the first study in the Midwest region aiming to estimate the seroprevalence of hepatitis E virus infection in renal transplant patients in Goiânia, Goiás. Cross-sectional study in renal transplant patients who were seen at Santa Casa de Misericórdia de Goiânia from April to November 2014. Among 370 patients who were registered, 316 were interviewed and blood was collected to obtain serum samples. Of these, 10 samples were anti-HEV IgG reactive and one indetermined by enzyme linked-immunosorbent assay (ELISA). Eight samples were subsequently confirmed as positive using immunoblot, resulting in a prevalence of 2.5% (95% CI 1.2-5.1). The anti-HEV IgM marker was detected in only one sample by ELISA/immunoblot. HEV RNA was not detected in the anti-HEV-positive samples. The studied population and patients exposed to HEV showed risk behaviors/practices related to parenteral, fecal-oral, and zoonotic transmission. The findings of this study show a low seroprevalence of HEV infection, indicating a reduced circulation of HEV in renal transplant patients in Goiânia, Goiás.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Iniciais

As hepatites virais representam um grave problema de saúde pública no mundo. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que cerca de 1,4 milhões de pessoas morrem a cada ano devido às várias formas de hepatite viral (WHO, 2015).

As hepatites virais são doenças causadas por diferentes agentes etiológicos que possuem distribuição universal e uma característica em comum, o hepatotropismo. No entanto, apresentam diferenças clínicas, epidemiológicas e marcadores sorológicos específicos. Os cinco agentes etiológicos são: vírus da hepatite A (FEINSTONE; KAPIKIAN; PURCELI, 1973), vírus da hepatite B (DANE; CAMERON; BRIGGS, 1970), vírus da hepatite C (CHOO et al., 1989), vírus da hepatite D ou delta (RIZZETTO et al., 1977) e vírus da hepatite E (VHE) (BALAYAN et al., 1983).

Historicamente, grandes surtos de hepatite ocorreram na Índia, como os de Delhi (1955-1956), de Ahmadabad (1975-1976) e de Kashmir (1978). Apesar da epidemia de Delhi ter sido inicialmente relatada como hepatite A, os estudos retrospectivos dessa e de outras epidemias de hepatite transmitidas pela água não detectaram os marcadores sorológicos da hepatite A, sugerindo a existência de uma nova forma de hepatite viral de transmissão entérica com diferenças epidemiológicas e clínicas, a qual foi denominada de hepatite entérica não A, não B (WONG et al., 1980).

Tais diferenças epidemiológicas e clínicas dessa forma de hepatite também foram observadas durante estudos do surto de hepatite aguda na Somália, em 1988. Nesse surto epidêmico, grande parte da população acometida residia em pequenas vilas supridas com água de rio, sendo que 11.413 indivíduos desenvolveram hepatite aguda com 146 óbitos e alta letalidade (13,8%) em mulheres gestantes (BILE; ISSE; MOHAMUD, 1994; MUSHAHWAR et al., 1993).

O VHE foi identificado, em 1983, por Balayan e colaboradores quando estudavam um surto de hepatite de etiologia desconhecida em soldados soviéticos no Afeganistão. Após ingerir uma mistura de extrato fecal de militares afetados, Balayan

desenvolveu hepatite aguda, mas não foram detectados marcadores dos vírus das hepatites A e B durante o curso da doença. Pequenas partículas virais foram visualizadas por imunomicroscopia eletrônica na fase pré e pós-clínica (BALAYAN et al., 1983; TREPO, 2014). O passo seguinte foi a transmissão com sucesso do vírus para macacos *Cynomolgus* (KRAWCZYNSKI; BRADLEY, 1989).

Em 1990, Reyes et al. (1990) conseguiram clonar o genoma do vírus da hepatite E. TAM et al. (1991) revelaram a organização genômica do VHE e estratégias de sua expressão. Ensaio imunoenzimático também foram desenvolvidos para a detecção de anticorpos contra o VHE (ANDERSON et al., 1999; DAWSON et al., 1992). Em 1997, foi descrita a hepatite E suína, bem como foi evidenciada que a infecção pelo VHE se trata de uma zoonose, expandindo a compreensão da história natural e ecologia dessa infecção (MENG et al., 1997). As análises filogenéticas de vários isolados desse vírus levou a identificação de quatro principais genótipos (LU; LI; HAGEDORN, 2006).

O VHE é importante causa de hepatite viral aguda no mundo. Uma melhor compreensão da história natural foi alcançada na última década. Vários reservatórios e modos de transmissão foram identificados. As características clínicas e epidemiológicas diferem entre países em desenvolvimento e desenvolvidos. É uma doença geralmente aguda autolimitada, mas pode ocorrer infecção crônica com cirrose rapidamente progressiva em transplantados, pacientes com neoplasia hematológica em quimioterapia e indivíduos HIV soropositivos (KAMAR et al., 2014).

1.2 Vírus da Hepatite E

O vírus da hepatite E é classificado na família *Hepeviridae* (ICTV, 2014). A nomenclatura do VHE está em constante modificação, devido a identificação de novos isolados virais em várias espécies animais. Recentemente, uma nova classificação foi proposta, dividindo a família em dois gêneros: *Orthohepevirus* e *Piscihepevirus*, distribuídos em nove genótipos. Essa necessidade surgiu para diferenciar o primeiro gênero, o qual inclui os isolados virais que infectam aves e mamíferos, do segundo, cujos isolados são provenientes de trutas e outras espécies de peixes (PAVIO; MENG; DOCEUL, 2015).

Dentro do gênero *Orthohepevirus*, existem quatro espécies, designadas de A a D. A espécie *Orthohepevirus A* engloba os sete genótipos conhecidos (VHE 1-7). Os genótipos 1 e 2 (VHE-1 e VHE-2) infectam os seres humanos exclusivamente. Os genótipos 3 e 4 (VHE-3 e VHE-4) são detectados em seres humanos e também em outras espécies animais. Já os genótipos 5 e 6 (VHE-5 e VHE-6) são exclusivos de javali, e o genótipo 7 (VHE-7) é encontrado em camelos e dromedários (PAVIO; MENG; DOCEUL, 2015). Adicionalmente, os quatro principais genótipos do VHE (VHE 1-4) são ainda classificados em 24 subtipos (1a-1e, 2a, 2b, 3a-3j, 4a-4g) (SMITH; PURDY; SIMMONDS, 2013).

O vírus da hepatite E é não envelopado com capsídeo icosaédrico e genoma RNA de fita simples. A partícula viral apresenta um diâmetro de 27 a 34 nm (TAM et al., 1991) (Figura 1).

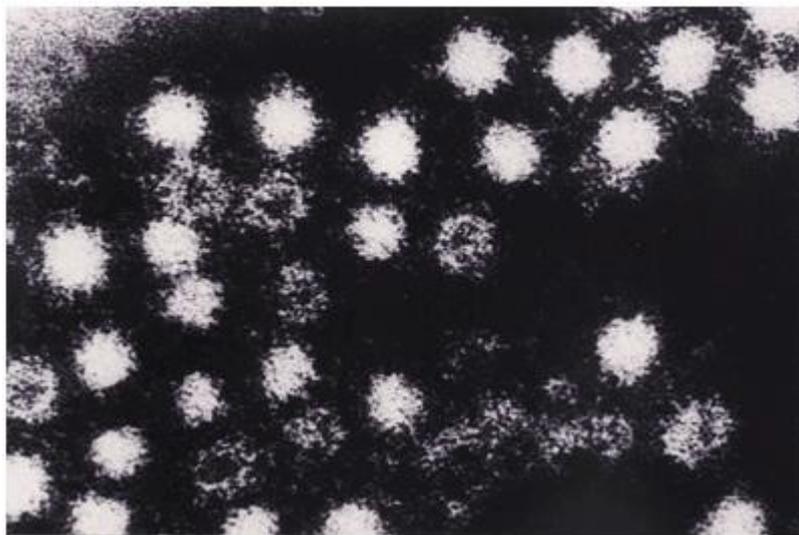


Figura 1 - O vírus da hepatite E visto na microscopia eletrônica
Fonte: PARANÁ; SCHINONI (2002)

O genoma de 7,2 Kb tem polaridade positiva e contém três regiões abertas de leitura (*Open Reading Frames* - ORFs), denominadas de ORF1, ORF2 e ORF3. A extremidade 5' possui a estrutura cap 7-metilguanina e, a extremidade 3', uma cauda de poliadenina (poli A) (REYES et al., 1990; TAM et al., 1991). O genoma apresenta também regiões 5' e 3' não traduzidas (UTRs) curtas e, na ORF1, uma região conservada de 58 nucleotídeos (nt) (localizada próxima a 5' UTR) e uma sequência homóloga aos

Alfavírus (próxima a parte 3'). Essas estruturas desempenham um papel importante na replicação e transcrição do genoma do VHE (PÉREZ-GRACIA; SUAY; MATEOS-LINDEMANN, 2014) (Figura 2).

A ORF1 é heterogênea e apresenta um comprimento de 5 Kb. Essa região codifica proteínas não estruturais envolvidas na replicação e transcrição do genoma, tais como: RNA polimerase RNA dependente (RdRp), RNA helicase (Hel), metiltransferase (MeT) e cisteína protease *like* papaína (PCP). Existem também duas regiões denominadas de domínios X e Y, além de uma região de proliprolina (V) de alta variabilidade entre as sequências de nucleotídeos dos diferentes isolados do VHE (FRY et al., 1992).

Separada da ORF1 por 38 pares de bases na direção 3', a ORF2 tem 2 Kb de comprimento e codifica proteínas estruturais. Essa ORF dá origem a uma proteína precursora que é capaz de se automontar e glicosilar (KHUDYAKOV et al., 1993). A referida proteína apresenta três domínios lineares: S forma o capsídeo, enquanto M e P estão envolvidos na interação do vírus com a célula hospedeira (MORI; MATSUURA, 2011). O domínio P é exposto na membrana celular, sendo sítio para ligação de anticorpos neutralizantes, bem como alvo para vacinas (AHMAD; HOLLA; JAMEEL, 2011). A ORF2 codifica, portanto, as proteínas do capsídeo viral relacionadas com a montagem do vírion, além da interação com células-alvo e imunogenicidade (KALIA et al., 2009; XING et al., 2011).

A ORF3 apresenta um comprimento de 369 pares de bases. Essa região sobrepõe parcialmente as ORF1 e ORF2, codificando uma fosfoproteína que se expressa intracelularmente e combina-se com o citoesqueleto dos hepatócitos. A proteína codificada pela ORF3 tem dois domínios hidrofóbicos N-terminais: D1 e D2, bem como dois domínios ricos em prolina: P1 e P2. Estudos sugerem que essa proteína é responsável pela patogenicidade do VHE (CHANDRA et al., 2008; CHANDRA et al., 2011; JAMEEL, 1999).

O ciclo de replicação do VHE é pouco conhecido devido à dificuldade de propagação em culturas celulares. No entanto, há relatos de infecções bem sucedidas em linhagens de células de hepatocarcinoma humano: Huh7, PLC/PRF/5 e HepG2/C3A, carcinoma pulmonar: A549 e carcinoma do cólon: Caco-2 (SHUKLA et al., 2011).

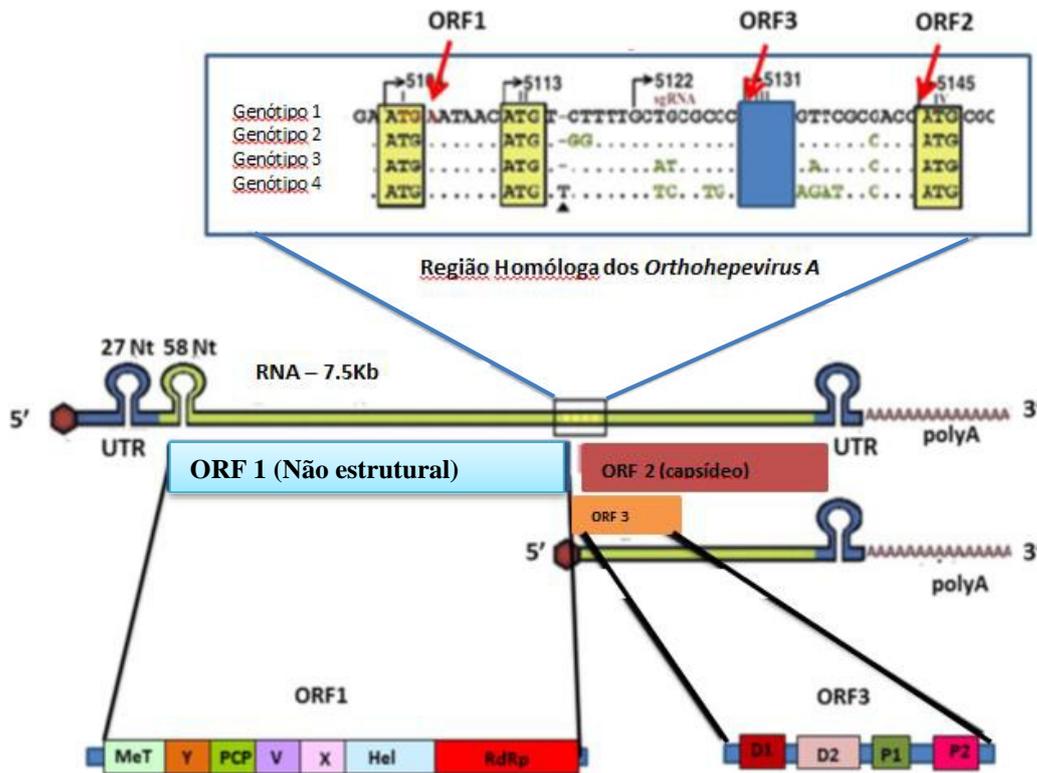


Figura 2 - Genoma do VHE (modificada)
 Fonte: PÉREZ-GRACIA; SUAY; MATEOS-LINDEMANN (2014)

1.3 Características Clínicas

A infecção pelo VHE pode causar uma grande variedade de apresentações clínicas desde formas subclínicas ou assintomáticas até insuficiência hepática fulminante e evolução para hepatite crônica (AGGARWAL, 2011).

O período de incubação varia entre 15 e 60 dias (média de 40 dias). Na maioria dos pacientes, o VHE causa uma doença autolimitada. Os sintomas prodrômicos de hepatite aguda (febre e náuseas) são seguidos de dor abdominal, diarreia, vômitos, hepatomegalia, anorexia e mal estar, geralmente por algumas semanas. A icterícia ocorre em torno de 40% a 75% dos casos, sendo mais frequente em pacientes de países em desenvolvimento. Os níveis de alanina aminotransferase (ALT) usualmente estão entre 1000 e 3000 UI/L. Alguns pacientes podem apresentar um aumento discreto, e raramente

o nível de ALT é normal em amostras de sangue coletadas no momento da viremia. A recuperação e normalização bioquímica ocorrem dentro de quatro a seis semanas (KAMAR et al., 2014).

O curso da infecção pelo VHE em seres humanos é em geral autolimitado. No entanto, a associação com hepatite fulminante e alta letalidade tem sido observada em mulheres grávidas e em pacientes com doença hepática subjacente (AGGARWAL, 2011; KUMAR et al., 2004). A infecção crônica está relacionada com o genótipo 3 em indivíduos imunocomprometidos, como transplantados, portadores do HIV e pacientes em quimioterapia ou com doença hepática pré-existente, os quais podem progredir rapidamente para doença hepática avançada (KAMAR et al., 2012b; KAMAR; ROSTAING; IZOPET, 2013; RIVEIRO-BARCIELA et al., 2014).

Além das manifestações hepáticas clássicas, a infecção pelo VHE, em uma minoria de pacientes, pode apresentar-se com sintomas neurológicos, lesão renal, alterações hematológicas e pancreatite (DENIEL et al., 2011).

As manifestações neurológicas observadas são Síndrome de *Guillain-Barré*, paralisia de Bell, mielite transversa e meningoencefalite aguda (KAMAR et al., 2011b; TSE et al., 2012). Essas estão associadas com o genótipo 1 e 3. Kamar e colaboradores documentaram o RNA do VHE no líquido cefalorraquidiano de pacientes com infecção crônica pelo VHE e síndromes neurológicas. Isso sugere que a lesão neurológica associada ao VHE pode estar ligada ao aparecimento de variantes neurotrópicas (KAMAR et al., 2011b).

Foram observadas doença glomerular e insuficiência renal, tanto nas infecções agudas, como nas crônicas pelo VHE. Os padrões histológicos encontrados foram: glomerulonefrite membranoproliferativa e membranosa (KAMAR et al., 2012a; TATON et al., 2013). Os mecanismos fisiopatológicos da lesão renal relacionada ao VHE são incertos, talvez a crioglobulinemia tenha um papel importante (TATON et al., 2013).

Trombocitopenia e anemia aplástica são as desordens hematológicas relacionadas na infecção aguda pelo VHE (COLSON et al., 2008; SHAH et al., 2012).

Em áreas de alta endemicidade para o VHE, a maioria dos pacientes apresenta um quadro de hepatite aguda, enquanto nas de baixa endemicidade, as apresentações clínicas são mais variadas. Davern et al. (2011) relataram que alguns pacientes nos Estados Unidos, diagnosticados inicialmente como tendo lesão hepática induzida por fármacos, apresentavam na verdade hepatite E.

A taxa de letalidade pode variar de 1% na população geral até mais de 20% em mulheres grávidas (DALTON et al., 2014; SULTANA; HUMAYUN, 2014). Nessas, apesar dos mecanismos fisiopatológicos da infecção pelo VHE não serem bem estabelecidos (KOURTIS; READ; JAMIESON, 2014; SMITH; SIMMONDS, 2015), há evidências da participação de fatores virais e do hospedeiro, como nutricionais e alterações hormonais e imunológicas que promovem diminuição da imunidade celular, propiciando a replicação viral (NAVANEETHAN; MOHAJER; SHATA, 2008; SHALIMAR; ACHARYA, 2013). Diferentemente, no Egito, a hepatite E parece ter um curso benigno durante a gravidez. A explicação para essa observação pode estar relacionada com a exposição ao VHE na primeira infância, resultando em imunidade de longa duração e doença branda quando há exposição posterior ao vírus (GAD et al., 2011), ou ainda menor virulência dos isolados virais circulantes (STOSZEK et al., 2006).

1.4 Diagnóstico

A infecção pelo VHE pode ser diagnosticada indiretamente, pela detecção no soro de anticorpos anti-VHE, ou diretamente pela pesquisa do RNA viral no sangue ou outros fluidos corporais por técnicas moleculares, como a reação da polimerase em cadeia (PCR) (KUMAR et al., 2013).

A partícula viral ou seu RNA pode ser detectado nas fezes uma semana antes do início dos sintomas e persistir por cerca de duas semanas após o início do quadro clínico (KRAIN; NELSON; LABRIQUE, 2014) (Figura 3). A viremia está presente durante o período de incubação e se torna indetectável no prazo de três semanas após início dos sintomas (AGGARWAL et al., 2000; BAYLIS et al., 2013; CHANDRA et al., 2010).

Após o período de incubação, surgem os anticorpos anti-VHE, sendo uma resposta inicial rápida e de curta duração do tipo IgM, seguida por anticorpos IgG de

duração mais prolongada (Figura 3). No início dos sintomas, o marcador anti-VHE IgM atinge o pico, o qual coincide com o aumento da ALT e permanece relativamente alto durante oito semanas. Os anticorpos IgM diminuem, caindo abaixo do nível de *cut-off* na maioria dos pacientes após 32 semanas de infecção. Os níveis de IgG começam a subir no momento da apresentação clínica e são mantidos em níveis elevados por anos (HUANG et al., 2010). No entanto, a duração exata do marcador anti-VHE IgG permanece incerta. Os níveis aumentados de IgM são indicativos de infecção aguda, enquanto que os de IgG estão relacionados com exposição prévia ao VHE (AGGARWAL, 2012; KRAIN; NELSON; LABRIQUE, 2014).

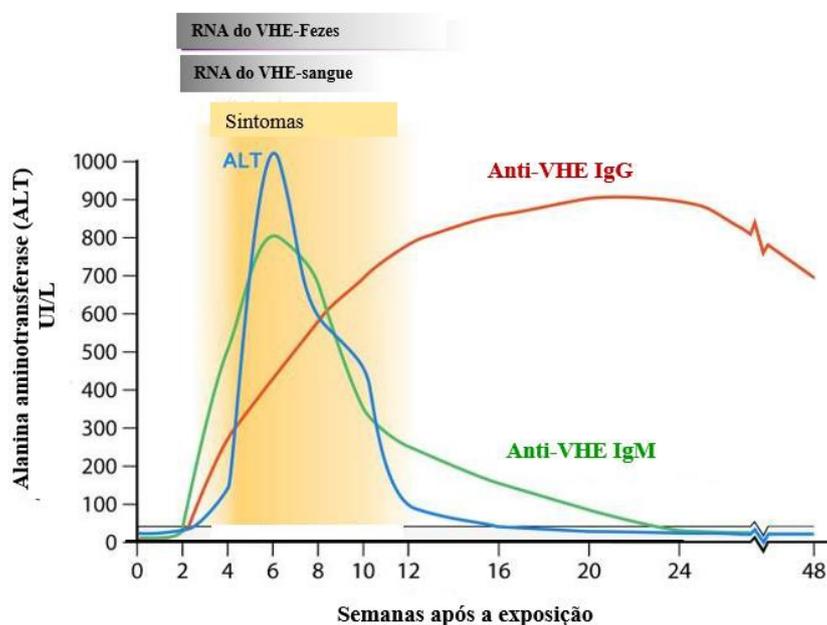


Figura 3 - Diagnóstico da infecção aguda pelo VHE (modificada)
 Fonte: KRAIN; NELSON; LABRIQUE (2014)

Ensaio imunoenzimático e imunocromatográfico comerciais com base em peptídeos sintéticos ou antígenos recombinante correspondentes às ORFs 2 e 3 do VHE-1 podem detectar a presença de anticorpos IgM ou IgG induzidos pelos quatro genótipos principais do VHE (DROBENIUC et al., 2010; ENGLE et al., 2002). No entanto, não há testes sorológicos específicos para diferenciar os genótipos. Infelizmente, os ensaios sorológicos demonstram uma ampla variabilidade em ensaios independentes, tanto em termos de sensibilidade, quanto de especificidade (AGGARWAL, 2012; DROBENIUC et al., 2010; WENZEL et al., 2013). Recentemente, encontra-se em

avaliação um ensaio imunoenzimático para a detecção do antígeno do VHE (VHE-Ag) (ZHAO et al., 2015).

O RNA do VHE é um importante marcador de infecção aguda, especialmente na fase inicial, antes da resposta humoral tornar-se evidente. A detecção do RNA do VHE é realizada por técnicas de amplificação dos ácidos nucleicos (NAT), a partir do soro, plasma ou amostras fecais. Essas técnicas incluem a PCR convencional, PCR em tempo real e amplificação isotérmica mediada por *loop* (*Loop-mediated Isothermal Amplification/LAMP*) (LAN et al., 2009; LA ROSA et al., 2014).

Em pacientes imunocomprometidos, a pesquisa do RNA viral é importante ferramenta diagnóstica, pois podem ocorrer resultados falso-negativos nos testes sorológicos. A detecção do RNA do VHE é essencial para delinear a infecção crônica, a qual é definida quando ocorre persistência do RNA por mais de seis meses. Se isso ocorre é muito improvável que o paciente alcance eliminação viral espontânea, sem intervenção terapêutica (KAMAR; ROSTAING; IZOPET, 2013).

A pesquisa por PCR tem a vantagem de apresentar uma alta sensibilidade e especificidade, sendo útil também para determinar o genótipo do VHE pelo sequenciamento de nucleotídeos a partir do produto de amplificação. Por outro lado, a PCR requer equipamentos especializados e reagentes de alto custo, bem como técnicos experientes. Essas limitações dificultam a sua utilização na maioria dos hospitais e centros clínicos dos países em desenvolvimento (KAMAR et al., 2014).

1.5 Epidemiologia

1.5.1 Reservatórios

Originalmente, o VHE foi considerado restrito aos seres humanos, mas é de conhecimento atual a existência de vários reservatórios animais desses vírus com a ecologia complexa e diversidade genética, exemplo é a recente descoberta do VHE em dromedários e camelos, um reservatório previamente subestimado de vírus zoonótico antes do surgimento da síndrome respiratória do Oriente Médio (SRIDHAR; LAU; WOO, 2015).

Os porcos domésticos são os reservatórios mais importantes dos genótipos do VHE capazes de infectar humanos. O VHE-3 foi isolado pela primeira vez a partir de amostras de suínos nos Estados Unidos em 1997 (MENG et al., 1997). Nessa época, também foi descoberto que grandes proporções de rebanhos norte americanos eram soropositivos para o VHE (MENG et al., 1997). Posteriormente, o VHE-4 foi identificado a partir de suínos em Taiwan (HSIEH et al., 1999), China (LIU et al., 2012) e Japão (TAKAHASHI et al., 2003). Há relato de infecções humanas autóctones com esse genótipo na Europa (COLSON et al., 2012; HAKZE-VAN DER HONING et al., 2011). Em 2007, um estudo realizado em São Paulo demonstrou pela primeira vez a circulação do VHE em suínos no Brasil (PAIVA et al., 2007). Outros reservatórios importantes relacionados com o consumo de carne de caça por humanos são veados e javalis (SRIDHAR; LAU; WOO, 2015) (Figura 4).



Figura 4 - Distribuição mundial dos reservatórios do VHE (modificada)
Fonte: SRIDHAR; LAU; WOO (2015)

Recentemente, foi encontrado o RNA do VHE-3 em marisco, o qual pode ser um veículo emergente para a transmissão zoonótica (CROSSAN et al., 2012). A gama completa das espécies de mamíferos que pode atuar como reservatórios do VHE é desconhecida (KAMAR et al., 2014). As populações de ratos, coelhos e mangustos são conhecidas por abrigar isolados do VHE que estão intimamente relacionados com vírus patogênicos para humanos, porém ainda permanece incerto o papel desses reservatórios

na infecção humana. O potencial de ratos para abrigar o VHE é uma preocupação devido à sua proximidade das habitações rurais e urbanas (SRIDHAR; LAU; WOO, 2015).

1.5.2 Transmissão

As vias de transmissão do vírus da hepatite E apresentam importantes diferenças entre as áreas geográficas onde a infecção é considerada endêmica ou esporádica (Figura 5). A principal via é a fecal-oral nos países em desenvolvimento, responsável pela maioria dos surtos epidêmicos, geralmente resultantes do consumo de água contaminada com fezes que contêm o vírus. Essa via de transmissão está associada com inundações e chuvas torrenciais que misturam águas de consumo humano com as de consumo animal e de esgoto. O aparecimento de surtos repetidos sem antecedente de desastre natural sugere contaminação continuada das fontes de água potável, como na Índia (AGGARWAL et al., 2000), China (ZHUANG et al., 1991), Vietnã (CORWIN et al., 1996) e Indonésia (HAU et al., 1999). A rota fecal-oral é responsável pela transmissão dos genótipos 1 e 2 do VHE (KAMAR et al., 2014).

Nos países desenvolvidos, onde a maioria dos casos de infecção pelo VHE é de origem autóctone, os reservatórios animais são de grande importância. Suínos domésticos, javalis, veados e coelhos são agentes causadores de infecção zoonótica em humanos, sendo relacionada com os genótipos 3 e 4 (PAVIO; MENG; RENO, 2010).

O contato direto com animais infectados é outra possível via de transmissão do VHE. Estudos de soroprevalência mostram que os veterinários e tratadores de suínos são mais propensos do que a população geral a apresentarem positividade para anti-VHE IgG (MENG et al., 2002; RENO et al., 2007). Outra via de transmissão zoonótica do VHE ocorre pelo consumo de alimentos contaminados, como frutas e legumes lavados com água contaminada, além da ingestão de carne crua ou mal cozida de animais infectados. Estudos epidemiológicos têm identificado o consumo de carne suína (WICHMANN et al., 2008) e de carne de caça como fator de risco para a infecção pelo VHE (MANSUY et al., 2011). Mexilhões e ostras, eventualmente, podem servir como fonte potencial de transmissão de origem alimentar, conforme estudo em uma área no Reino Unido, onde mais de 50% das amostras de mexilhões foram positivas para

o RNA do VHE (CROSSAN et al., 2012), assim como o relato de um surto de hepatite E em um cruzeiro relacionado com frutos do mar (SAID et al., 2009).

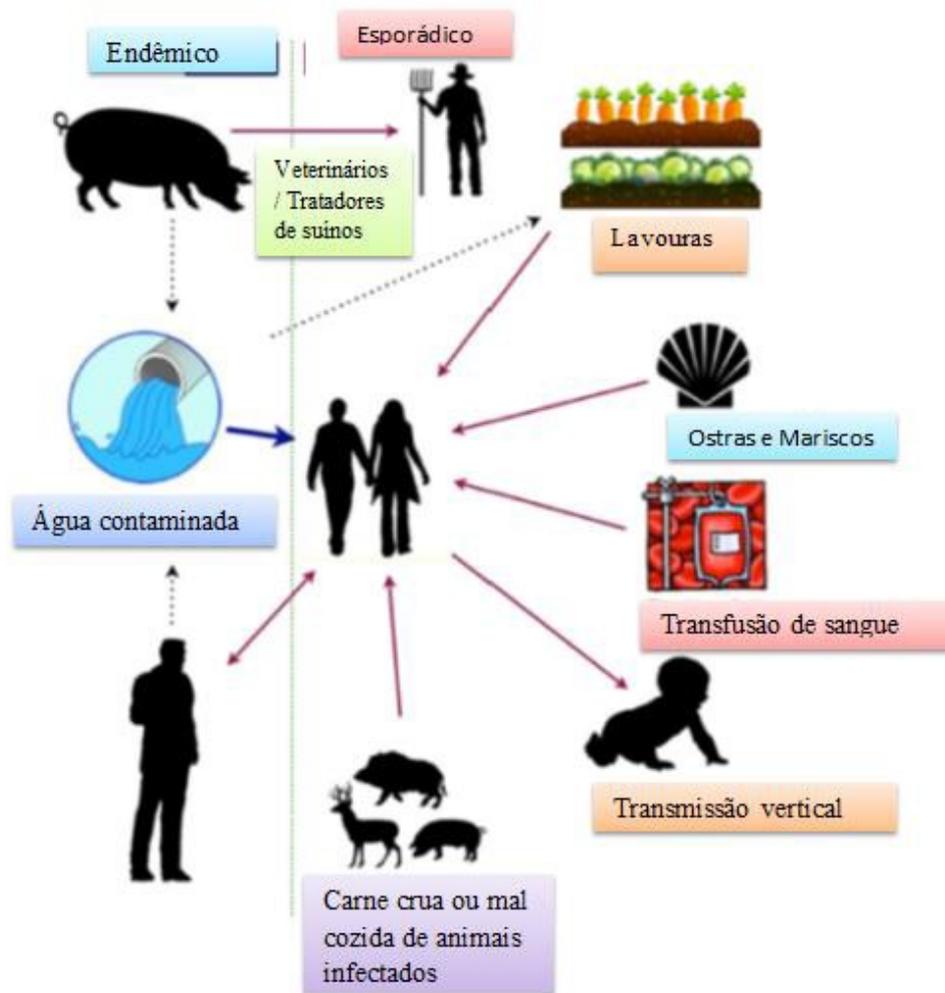


Figura 5 - Modo de transmissão do VHE (modificada)
Fonte: PÉREZ-GRACIA; SUAY; MATEOS-LINDEMANN (2014)

A transmissão do VHE pode ocorrer em frequências menores por contato direto pessoa-a-pessoa, além das vias sexual, vertical e parenteral. Alguns estudos, especialmente de surtos em campos de refugiados na África, evidenciaram a transmissão direta do VHE pessoa-a-pessoa (TESHALE et al., 2010). Também tem sido demonstrado um aumento do risco de transmissão em domicílios com um caso pré-existente (SOMANI et al., 2003). Em homens que fazem sexo com homens, a hepatite E tem sido relatada, sugerindo a ocorrência de transmissão sexual pela via fecal-oral em decorrência das

práticas sexuais, como o uso de saliva para a lubrificação anal (BALI et al., 2006; MONTELLA et al, 1994; PAYNE et al., 2013).

A transmissão vertical (da mãe para o filho) do VHE tem sido documentada (KHUROO; KAMILI, 2009; KUMAR et al., 2001; SINGH et al., 2003; ZAKI et al., 2013). Em 66% das mulheres grávidas infectadas por esse vírus, foram observados nascimentos prematuros, bem como um aumento na probabilidade de mortalidade pré-natal (KHUROO; KAMILI; JAMEEL, 1995). A transmissão por amamentação não tem sido descrita (KRAIN et al., 2014).

Alguns pesquisadores detectaram o RNA viral em hemoderivados (ARANKALLE; CHOBE, 1999; COLSON et al., 2007; MATSUBAYASHI et al., 2004), sugerindo a transmissão do VHE pela via parenteral. Em um estudo na Holanda, os soros de 40.176 doadores de sangue foram analisados, verificando-se positividade do marcador anti-VHE em 25% desses, e 17 pacientes apresentaram viremia (SLOT et al., 2013). Adicionalmente, investigações realizadas na Inglaterra (BEALE et al., 2011), na Alemanha (VOLLMER et al., 2012) e na China (GUO et al., 2010) evidenciaram o risco de transmissão viral por transfusão. Outros autores detectaram níveis mais altos de anticorpos contra o VHE em pacientes hemodialíticos quando comparados a indivíduos saudáveis, uma população considerada como politransfundida (KHERADPEZHOUH et al., 2007; MITSUI et al., 2004). Embora a frequência de transmissão do VHE por transfusão e suas implicações sejam desconhecidas, em uma análise retrospectiva realizada no sudeste da Inglaterra com 225.000 doações de sangue, 79 foram positivas para o RNA do VHE e utilizadas para preparar 129 hemoderivados. O seguimento de 43 dos 60 pacientes que receberam esses derivados contaminados revelou que 18 (42%) foram infectados pelo VHE por transfusão, e 10 desses apresentaram viremia prolongada ou persistente (HEWITT et al., 2014). Embora haja evidência da transmissão do VHE por hemoderivados, a triagem para esse agente não foi ainda introduzida nos bancos de sangue. A necessidade da implantação de tal medida encontra-se em apreciação pelas autoridades de saúde (PAWLOTSKY, 2014).

1.5.3 Prevalência

Os padrões epidemiológicos são claramente distinguidos entre as regiões endêmicas e não endêmicas. O VHE é considerado endêmico em muitos países em desenvolvimento, como Índia, Bangladesh e China, onde grandes surtos estão relacionados com a contaminação hídrica e geralmente associados aos isolados dos genótipos 1 e 2. Em países desenvolvidos e regiões não endêmicas, a ocorrência de infecção pelo VHE geralmente tem sido associada com viajantes retornando de regiões endêmicas e casos esporádicos de origem alimentar associados com os genótipos 3 e 4 (MIRAZO et al., 2014). Os países endêmicos apresentam uma prevalência global maior que 25% (Figura 6), sendo que a soroprevalência em doadores de sangue saudáveis pode atingir 45% (MUSHAHWAR, 2008).

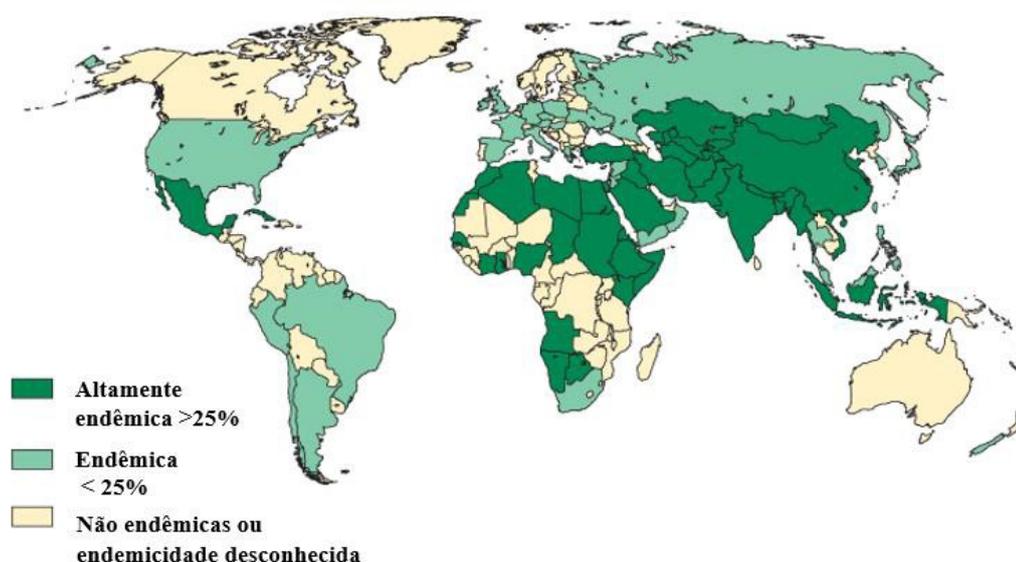


Figura 6 - Níveis de endemidade para o VHE (modificada)

Fonte: <http://www.clevelandclinicmeded.com/medicalpubs/diseasemanagement/hepatology/hepatitis-E/>

Em países em desenvolvimento, os estudos de soroprevalência de anti-VHE IgG em crianças com idade inferior a 10 anos indicaram que as mesmas não foram expostas ao VHE (ARANKALLE et al., 1995; KRAIN; NELSON; LABRIQUE, 2014). A soroprevalência aumenta consideravelmente com a idade de 15 a 30 anos, para cerca de 30%, com uma relação masculino/feminino de 2:1 (KAMAR et al., 2014). Uma

exceção a essas observações foi verificada no Egito, onde as taxas de soroprevalência anti-VHE foram elevadas (mais de 60%) nas crianças com idade inferior a 10 anos (FIX et al., 2000).

Nos países desenvolvidos, a infecção autóctone tem uma predileção por pacientes do sexo masculino com média de idade de 60 anos e uma relação masculino/feminino de 3:1 (KAMAR et al., 2014). A hepatite E autóctone é um problema na Europa, América do Norte, Nova Zelândia e Japão (DALTON et al., 2007; DALTON et al., 2008; MANSUY et al., 2004; MITSUI et al., 2006). Há uma variação geográfica considerável na prevalência e incidência do VHE em países desenvolvidos. Por exemplo, a soroprevalência no sul da França é quatro vezes maior que a encontrada no norte daquele país (BOUTROUILLE et al., 2007; MANSUY et al., 2008). No Reino Unido, há também uma diferença significativa no sentido norte-sul, com taxas de 16% na Inglaterra, 12% no País de Gales e 4,7% na Escócia (CLELAND et al., 2013). Fato também observado em doadores de sangue no Japão com índices de 5,6% na parte oriental e de 1,8% na ocidental (TAKEDA et al., 2010). A soroprevalência no EUA foi estimada em 6% (DITAH et al., 2014).

Na América do Sul, a primeira evidência sorológica de infecção por VHE foi descrita na Venezuela (PUJOL et al., 1994). Uma revisão em populações distintas dos diferentes países reportou que as taxas de soroprevalência variaram de 0,15%, na população pediátrica da Argentina, a 20% em indígenas na Bolívia (ECHEVARRÍA et al., 2013).

No Brasil, um estudo retrospectivo de prevalência da infecção pelo VHE foi realizado em populações selecionadas do Rio de Janeiro. Um total de 1.115 indivíduos foi testado para anti-VHE IgG, incluindo 146 pacientes com hepatite viral aguda não A, não B e não C (NANBNC), 65 pacientes em hemodiálise, 93 doadores de sangue, 102 usuários de drogas injetáveis (UDI), 304 gestantes, 145 indivíduos de área rural e 260 indivíduos de área urbana. As taxas de prevalência de anti-VHE IgG nesses grupos foram de 2,1%, 6,2%, 4,3%, 11,8%, 1%, 2,1% e 0%, respectivamente (TRINTA et al., 2001).

Em Campinas, um estudo de soroprevalência para o marcador anti-VHE IgG em 214 mulheres que frequentavam um centro de testagem anônima para HIV e 170

funcionários de um hospital universitário mostrou taxas de 2,6% e de 17,7%, respectivamente. Em 205 doadores de sangue saudáveis, o índice encontrado para esse marcador foi de 3%, enquanto naqueles com níveis elevados de ALT foi de 7,5% (GONÇALES et al., 2000).

Outros estudos, realizados também em doadores de sangue no Brasil, verificaram prevalência variando de 2,0 a 10% para anti-VHE. Paraná et al. (1997), avaliando amostras coletadas entre 1992 e 1994, em um hospital universitário em Salvador, encontraram uma taxa de 2,0% (N = 200). No estudo transversal de Bortoliero et al. (2006), conduzido de maio a dezembro de 1999 com 996 voluntários inscritos no Banco de Sangue Regional de Londrina, 23 foram positivos para o anti-VHE IgG, resultando em uma taxa de 2,3%. Em uma investigação na cidade de Cuiabá em 101 doadores de sangue, foi observada uma soroprevalência de 4% (SILVA et al., 2012). Recentemente, Passos-Castilho et al. (2015) testaram por métodos sorológicos e molecular amostras de soros de 300 doadores de sangue do Vale do Itajaí, Santa Catarina. O marcador anti-VHE IgG foi detectado em 30 amostras (10%), enquanto anti-VHE IgM em apenas uma e nenhuma foi positiva para o RNA viral.

As amostras de soro coletadas de 397 indivíduos de assentamentos agrícolas na Bacia Amazônica (Acre), com idade entre 5 e 90 anos, apresentaram uma soropositividade de 12,9% para anti-VHE IgG (VITRAL et al., 2014). Na Região Centro-Oeste, no Mato Grosso, a prevalência foi de 8,4% (N = 310) em indivíduos da área rural em contato com suínos (SILVA et al., 2012). Em Goiânia, a soroprevalência foi de 5,1% na população de catadores de materiais recicláveis (N = 431) (MARTINS et al., 2014).

A prevalência varia, portanto, entre os países e dentro de cada país, podendo refletir, em parte, as populações estudadas, assim como a sensibilidade dos diferentes ensaios laboratoriais utilizados (KHUDYAKOV; KAMILI, 2011).

1.5.4 Distribuição geográfica dos genótipos e subtipos

A distribuição geográfica dos genótipos do VHE é complexa e encontra-se em constante evolução (Figura 7). O genótipo 1 circula na Ásia, englobando a Índia, o

Paquistão, Nepal, Bangladesh, China, Quirguistão, Uzbequistão, e na África incluindo Egito, Argélia, Marrocos, Namíbia, Sudão e Chade (PELOSI; CLARKE, 2008). O genótipo 2 foi isolado no México (HUANG et al., 1992) e em alguns países africanos dentre eles a Nigéria, Namíbia, Chade e Sudão (BUISSON et al., 2000; MAILA; BOWYER; SWANEPOEL, 2004; NICAND et al., 2005). Já o genótipo 3 foi detectado em todos os continentes, com exceção da África, ao passo que o genótipo 4 é restrito a Índia e ao leste da Ásia, particularmente a China, Taiwan e ao Japão (PELOSI; CLARKE, 2008). Nos países em desenvolvimento, os subtipos 1a, 1b, e 1c são predominantes na Ásia, enquanto 1d e 1e são encontrados na África (LU; LI; HAGEDORN, 2006). Já nos países desenvolvidos, os subtipos 3a e 3b, que circulam nos Estados Unidos e no Japão, são distintos dos presentes na Europa (3c, 3e e 3f) (KAMAR et al., 2014).

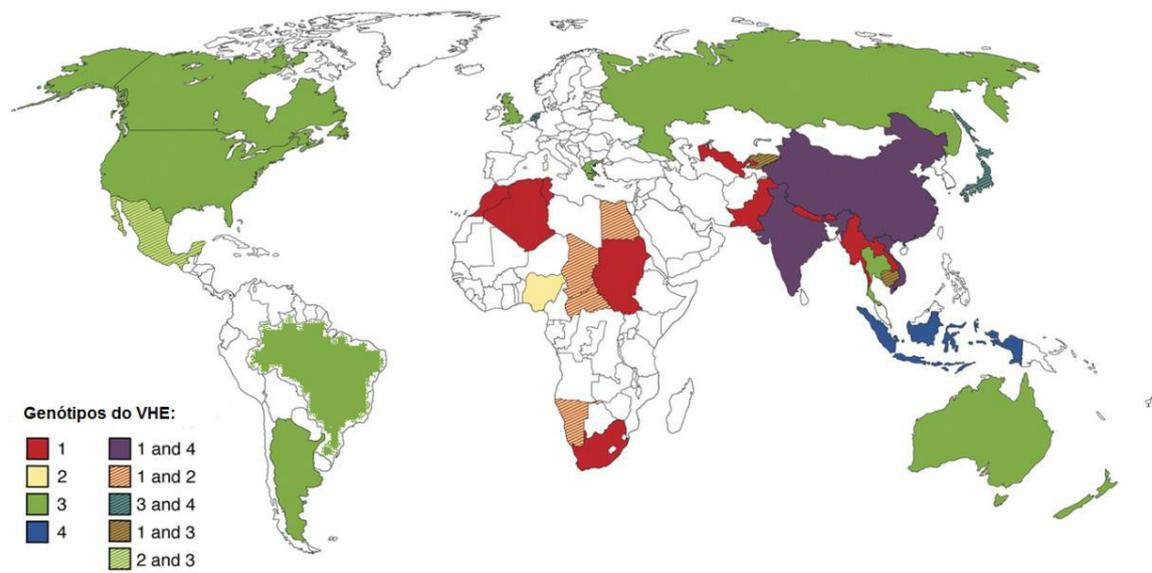


Figura 7 - Distribuição geográfica dos diferentes genótipos do VHE (modificada)
 Fonte: WEDEMEYER; PISCHKE; MANNS (2012)

No Brasil, a primeira evidência molecular da infecção pelo VHE em rebanhos suínos foi documentada em 2009 (DOS SANTOS et al., 2009). A seguir, outros estudos também em suínos identificaram o VHE-3 em Mato Grosso (subtipos 3b e 3f) (DA COSTA LANA et al., 2014) e no Pará (subtipos 3c e 3f) (DE SOUZA et al., 2012). Em humanos, o primeiro relato foi de um caso autóctone com hepatite aguda não A-C, sendo identificado o genótipo 3, subtipo 3b (LOPES DOS SANTOS et al., 2010). Na

população transplantada renal, apenas um estudo de caracterização molecular foi realizado em São Paulo, no qual as amostras foram classificadas como do genótipo 3 (PASSOS et al., 2013).

1.6 Prevenção, Controle e Tratamento

As principais abordagens para prevenção e controle da infecção pelo vírus da hepatite E são: medidas sanitárias e imunoprofilaxia, incluindo a vacinação (MUSHAHWAR, 2008).

As medidas sanitárias se constituem na proteção do sistema de água da contaminação fecal, desenvolvimento de infraestrutura em saneamento básico nos países em desenvolvimento, boas práticas de higiene (lavar as mãos antes das refeições, após contato com animais e os alimentos com água livre de contaminação), evitar beber água de origem desconhecida, assim como o consumo de carne crua e mal cozida de animais sabidamente conhecidos como reservatórios do VHE (PAVIO; MENG; RENOU, 2010). No estudo de Nigel Cook e Van Der Poel, foi concluído que o aquecimento a uma temperatura de 71°C durante 20 minutos é capaz de inativar o vírus (COOK; VAN DER POEL, 2015). Além disso, os veterinários, tratadores de suínos e de outros animais de risco como reservatórios do VHE, assim como trabalhadores da rede de esgoto devem tomar medidas cautelares para garantir higiene adequada além do uso de equipamentos de proteção individual (PAVIO; MENG; DOCEUL, 2015).

Estudos de imunoprofilaxia sugerem que as preparações de imunoglobulina são eficazes contra VHE (HE et al., 2007; SCHOFIEL et al., 2000; SCHOFIEL et al., 2003). Anticorpos monoclonais para o VHE já foram produzidos e caracterizados, porém esses anticorpos não estão disponíveis comercialmente, bem como não foram testados em humanos (MUSHAHWAR, 2008; YOU et al., 2014).

A vacina contra a hepatite E pode se tornar uma ferramenta poderosa na prevenção e controle dessa infecção. A Hecolin, ou VHE-239, é uma vacina recombinante que engloba os aminoácidos 368-606 do capsídeo viral correspondentes à ORF2 do genótipo 1 e expressa em *Escherichia coli* (LI et al., 2005; ZHU et al., 2010). Essa vacina foi licenciada na China, em 2011. O ensaio clínico de fase III revelou que a vacina é

segura e eficaz (95% de eficácia no período de 12 meses após a vacinação), principalmente contra o genótipo 4, comum na China. Esse ensaio envolveu 112.604 participantes saudáveis e adultos de 11 municípios da China, randomizados para receber três doses (0, 1 e 6 meses) ou placebo (vacina contra hepatite B), os quais foram acompanhados por 13 meses depois de receber a terceira dose (ZHANG et al., 2015). Entretanto, alguns esclarecimentos são necessários, tais como: se a eficácia da vacina é para todos os genótipos, quem deve ser vacinado e quando vacinar, o custo-efetividade da vacinação como prevenção, assim como dados sobre a segurança, imunogenicidade e eficácia da mesma em gestantes, pessoas com doenças crônicas e hepática, imunocomprometidos e também interação com as demais vacinas (WHO, 2015). Encontram-se em desenvolvimento, porém ainda não foram aprovadas para licenciamento e produção, outras vacinas contra o VHE (TESHALE; WARD, 2015).

A hepatite aguda geralmente não requer tratamento em indivíduos imunocompetentes. Alguns pacientes podem necessitar de tratamento dos sintomas, mas a grande maioria é capaz de eliminar o vírus espontaneamente (MIRAZO et al., 2014). Ao contrário, pacientes imunossuprimidos, portadores de doença hepática subjacente e gestantes podem desenvolver a hepatite fulminante ou insuficiência hepática aguda ou crônica (MIRAZO et al., 2014). O tratamento da insuficiência hepática aguda é apenas de suporte com medidas gerais para os sintomas e internação, se necessárias. Embora, o uso de ribavirina na fase aguda tenha como finalidade reduzir o período da doença e prevenir a progressão para insuficiência hepática fulminante, o mesmo ainda não está bem estabelecido (GEROLAMI et al., 2011). Estudos mostram que as infecções crônicas pelo VHE ocorrem mais frequentemente do que se pensava anteriormente, especialmente em receptores de transplantes de órgãos sólidos (fígado, rins, coração e pâncreas) (KAMAR et al., 2008b; LEGRAND-ABRAVANEL et al., 2010; DE NIET et al., 2012), portadores de doenças hematológicas em quimioterapia e pacientes infectados pelo HIV (FUJIWARA et al., 2014; KAMAR; ROSTAING; IZOPET, 2013). Nesse grupo de pacientes, o uso de ribavirina pode promover eliminação viral e evitar a progressão para cirrose, conforme documentado (ARENDS et al., 2014; KAMAR; ROSTAING; IZOPET, 2013; PISCHKE et al., 2014).

Os pacientes com diagnóstico de hepatite E em risco de desenvolver hepatite crônica devem ser monitorados com a pesquisa do RNA viral por PCR durante três meses. Os pacientes transplantados devem ser considerados para redução da imunossupressão, tal medida pode promover eliminação espontânea do vírus em cerca de 30% dos casos (KAMAR et al., 2011a). Quando esta abordagem não tem êxito e o RNA persiste por mais três meses, é muito improvável conseguir a eliminação viral espontânea sem intervenção terapêutica, restando duas possibilidades: o uso de interferon alfa peguilado (PEG-IFN α) por 24 semanas ou ribavirina por 12 semanas (DEBING; NEYTS, 2014a). No entanto, a ribavirina parece ser o fármaco de escolha na maioria dos casos, podendo estender o tratamento para seis meses se persistir a viremia após três meses de uso (KAMAR et al., 2012b). O tratamento com PEG-IFN α é contraindicado para os receptores de transplante cardíaco, renal e pulmonar devido ao alto risco de rejeição, mas é utilizado nos transplantados de fígado (MIRAZO et al., 2014).

A ribavirina e PEG-IFN α são contraindicados na gravidez. Ambos os fármacos apresentam efeitos adversos importantes: o PEG-IFN α pode levar a hipertermia, alterações neuropsiquiátricas e sintomas gripais, dentre outros. A ribavirina pode induzir anemia hemolítica (DEBING; NEYTS, 2014a). O transplante de fígado é a única opção para pacientes com insuficiência hepática fulminante (AHMED et al., 2015).

A necessidade de rastrear os produtos derivados do sangue para o RNA do VHE encontra-se em debate, uma vez que estratégias profiláticas adequadas são essenciais para evitar a infecção pelo VHE, particularmente em grupos em risco (SRIDHAR; LAU; WOO, 2015).

No Brasil, os doadores de sangue não são triados para hepatite E. Outrossim, os testes de diagnóstico da infecção pelo VHE não estão incluídos na rotina dos laboratórios de saúde pública, e o Sistema Único de Saúde (SUS) não oferece a sorologia e nem a pesquisa do RNA viral nos laboratórios conveniados. Além disso, não estão disponíveis no País protocolos de diagnóstico e tratamento da hepatite E, assim como de medidas de prevenção e controle da infecção (BRASIL, 2015).

1.7 Hepatite E em Transplantados Renais

A suspeita de hepatite E em transplantados renais não é simples, pois a fadiga é o principal sintoma. Portanto, a maioria dos pacientes não apresenta os sintomas clássicos de hepatite e a icterícia é rara. Por outro lado, pode ocorrer manifestações extra-hepáticas com quadros neurológicos ou doença glomerular. Ao contrário dos pacientes imunocompetentes, cujos níveis de ALT muitas vezes são superiores a 1000 UI/L, o aumento da ALT é modesto entre 100 e 300 UI/L (KAMAR et al., 2011a). A incidência estimada está torno de 1%, e a progressão para hepatite crônica ocorre em mais de 60% dos casos. Tal fato torna a hepatite E uma preocupação em transplantados renais (MOAL et al., 2013b).

As prevalências da infecção pelo VHE em receptores de transplante renal (Quadro 1) apresentam variações de 0 a 30,8% para o marcador anti-VHE IgG (BUTI et al., 2010; KHAMENEH; SEPEHRVAND; MASUDI, 2011) e de 0 a 10% para o RNA viral (HARRISON et al., 2013; HERING et al., 2014; MAYLING et al., 2012; NAIK et al., 2013).

Recentemente, Unzueta et al. (2016) estimaram a prevalência em candidatos à transplante de coração e de rim, encontrando taxas de anti-VHE IgG de 11,4% (15/132) e 8,5% (17/201), respectivamente, sendo a pesquisa do RNA viral negativa nos dois grupos.

No Brasil, um estudo retrospectivo realizado em São Paulo entre janeiro de 2001 e outubro de 2011, em 192 receptores de transplante renal encaminhados para avaliação hepática, os quais foram classificados em três grupos (G): G1-infectados com o vírus da hepatite B e/ou C; G2-com aumento da ALT; G3-com ALT normal e sem infecção por vírus hepatotrópicos, as taxas de anti-VHE IgG foram de: 5%, 27% e 16%, respectivamente, e no global de 15%, enquanto a pesquisa do RNA viral foi de 10% (HERING et al., 2014). Outra investigação, no mesmo local, analisou retrospectivamente 96 amostras de pacientes transplantados renais com inexplicável elevação das enzimas hepáticas, sendo a prevalência para o RNA do VHE de 3,1% (PASSOS et al., 2013).

Quadro 1- Estudos de prevalência da infecção pelo VHE em transplantados renais

Referência e local do estudo	N	Prevalência (%)	
		Anti-VHE IgG	RNA
Buffet et al. (1996) Paris, França	49	6,0	-
Buti et al. (2010) Barcelona, Espanha	21	0	-
Harrison et al. (2013) Truro, Reino Unido	88	18,2	0
Hering et al. (2014) São Paulo, Brasil	192	15,0	10,0
Ibarra et al. (1998) Valdivia, Chile	45	15,6	-
Kamar et al. (2008a) Toulouse, França	241	14,5	3,8
Khameneh; Sepehrvand; Masudi (2011) Úrmia, Irã	91	30,8	-
Legrand-Abravanel et al. (2011) Toulouse, França	529	14,5	4,1
Maylin et al. (2012) Paris, França	46	6,5	0
Moal et al. (2013a) Marselha, França	160	14,4	8,1
Moal et al. (2013b) Marselha, França	1350	-	1,2
Naik et al. (2013) Lucknow, Índia	205	20,5	0
Passos et al. (2013) São Paulo, Brasil	96	-	3,1
Scotto et al. (2015) Foggia e San Giovanni Rotondo, Itália	120	3,3	1,6

Em 2008, foi relatado um caso de hepatite E crônica em transplantado renal com níveis séricos normais das enzimas hepáticas e ausência de anticorpos anti-VHE (GÉROLAMI; MOAL; COLSON, 2008). Kamar et al. (2014) reforçaram a importância da pesquisa sistemática do RNA do VHE no diagnóstico da infecção em pacientes transplantados renais, tendo em vista a inexistência de soroconversão em alguns pacientes, ou a ocorrência de soroconversão tardia.

A imunossupressão utilizada pode contribuir para o desenvolvimento de infecção crônica pelo VHE em receptores de transplante de órgãos sólidos. A terapia com tacrolimus foi o principal fator preditivo para cronicidade verificado por Kamar et al. (2011a). Adicionalmente, Wang et al. (2014) demonstraram que os inibidores de calcineurina são capazes de favorecer a replicação do VHE e, por outro lado, os esteróides não apresentam tal efeito.

Os casos de infecção crônica em transplantados renais foram relacionados ao genótipo 3 (KAMAR et al., 2014). Na Índia, onde o genótipo 1 é endêmico, foram testados os soros de 205 pacientes transplantados renais, e a prevalência foi de 20,5% para anti-VHE IgG e de 6,8% para anti-VHE IgM. Todos os soros testados foram negativos para o RNA do VHE, sugerindo que a infecção crônica com o genótipo 1 é rara (NAIK et al., 2013).

Para o nosso conhecimento, a transmissão do VHE por enxerto renal não foi documentada até o momento. Schlosser et al. (2012) relataram o único caso da transmissão do VHE por transplante de fígado. Esse paciente desenvolveu hepatite aguda alguns dias após o transplante e evoluiu para hepatite crônica e cirrose em menos de um ano. Essa evolução precoce para cirrose hepática também tem sido observada nos transplantados renais (GEROLAMI; MOAL; COLSON, 2008; MOAL et al., 2013b). Kamar et al. (2008b) sugeriram que a infecção pelo VHE nesses pacientes é mais grave que a infecção pelo vírus da hepatite C.

O tratamento da hepatite E em transplantados renais consiste em redução dos medicamentos imunossupressores e uso de ribavirina, uma vez que interferon está contra indicado devido ao risco elevado de rejeição renal aguda (Figura 8). No estudo de Kamar, Rostaing e Izopet, (2013), com oito pacientes RNA positivos para VHE, todos tiveram eliminação viral no final de três meses. A resposta virológica sustentada (RVS) foi observada em quatro transplantados, dentre seis que foram acompanhados por um semestre após a suspensão da ribavirina. De Niet et al. (2012), ao estudarem três transplantados renais, verificaram que um apresentou RVS.

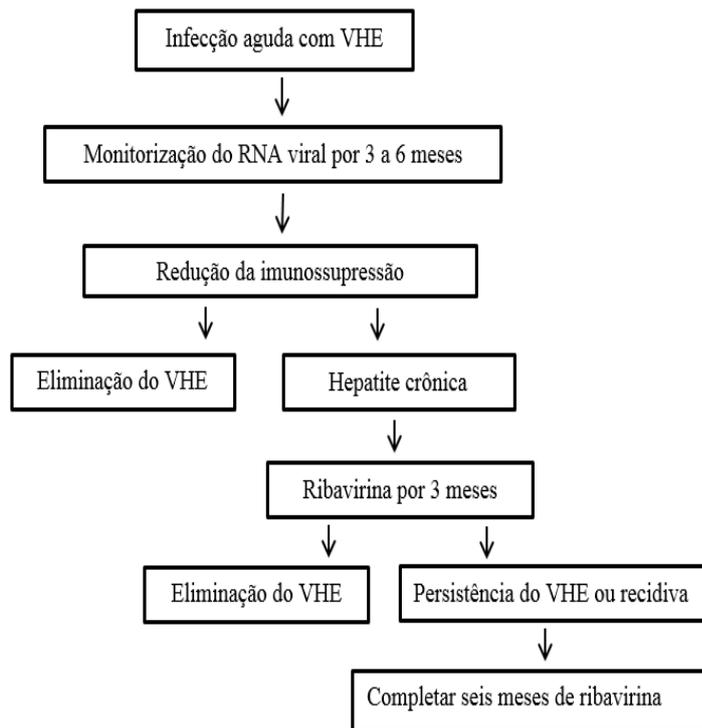


Figura 8 - Tratamento da infecção do VHE em transplantados renais (modificada)
Fonte: KAMAR et al. (2012b)

2. JUSTIFICATIVA

Investigações epidemiológicas têm evidenciado que alguns grupos populacionais apresentam um risco maior para infecção pelo VHE (KMUSH; NELSON; LABRIQUE, 2015). A identificação desses grupos se torna relevante uma vez que representam fontes de manutenção e disseminação dessa infecção. Apesar de existirem poucos dados sobre a infecção pelo VHE em pacientes transplantados renais, prevalências elevadas de anti-VHE e/ou RNA viral foram estimadas nesses pacientes (Quadro 1).

A infecção pelo VHE é uma preocupação clínica em receptores de transplante de rim, uma vez que pode ocasionar cronicidade e rápida progressão para cirrose (MOAL et al., 2013b). Assim, pesquisas sobre hepatite E após o transplante renal são importantes. No entanto, na América Latina, tais investigações ainda são escassas. No Brasil, apenas dois estudos conduzidos em São Paulo abordaram a infecção pelo VHE em receptores de transplante renal (HERING et al., 2014; PASSOS et al., 2013). Portanto, na Região Centro-Oeste, não há investigações sobre essa infecção na referida população.

Diante do exposto, o presente estudo foi desenvolvido em transplantados renais em Goiânia-GO, visando investigar a prevalência da infecção pelo VHE e as características de risco nestes pacientes. Acredita-se que os dados apresentados nesta dissertação, somados a outros publicados na literatura, poderão subsidiar a implantação de estratégias específicas de prevenção e controle da infecção pelo VHE na população em questão, assim como a adoção de medidas para evitar a progressão para hepatite E crônica e lesão no enxerto renal.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Este estudo teve como objetivo geral investigar o perfil epidemiológico da infecção pelo vírus da hepatite E em pacientes transplantados renais em Goiânia-Goiás.

3.2 Objetivos Específicos

- Estimar a prevalência da infecção pelo VHE em transplantados renais atendidos na Santa Casa de Misericórdia de Goiânia;
- Descrever as características da população estudada e dos pacientes expostos ao VHE;
- Detectar o RNA viral nos pacientes anti-VHE positivos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento, Local e População do Estudo

Estudo de corte transversal realizado em pacientes transplantados renais que se encontravam em acompanhamento médico ambulatorial na Santa Casa de Misericórdia de Goiânia (SCMG), no período de abril a novembro de 2014. A SCMG é uma instituição de referência em transplante renal em Goiás, integrada ao Sistema Único de Saúde (SUS).

Ao verificar o tamanho da amostra, considerando uma prevalência estimada da infecção pelo VHE de 3,1% em transplantados renais no Brasil (PASSOS et al., 2013), com uma precisão de 2%, seria necessário estudar no mínimo 218 pacientes com poder estatístico de 80% ($\beta = 20\%$) e nível de significância de 95% ($\alpha = 0,05$).

Foram utilizados como critérios de inclusão: ter sido submetido a transplante renal e estar cadastrado para acompanhamento médico na SCMG. Os pacientes foram convidados a participarem da pesquisa pela médica responsável, no dia da consulta ou por contato telefônico. Dos 370 pacientes cadastrados, 316 participaram do estudo. Ocorreram 11 recusas, 15 pacientes que aceitaram participar não compareceram para coleta, 10 estavam em acompanhamento em outra instituição e 18 não foram localizados (Figura 9).

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Santa Casa de Misericórdia de Goiânia.

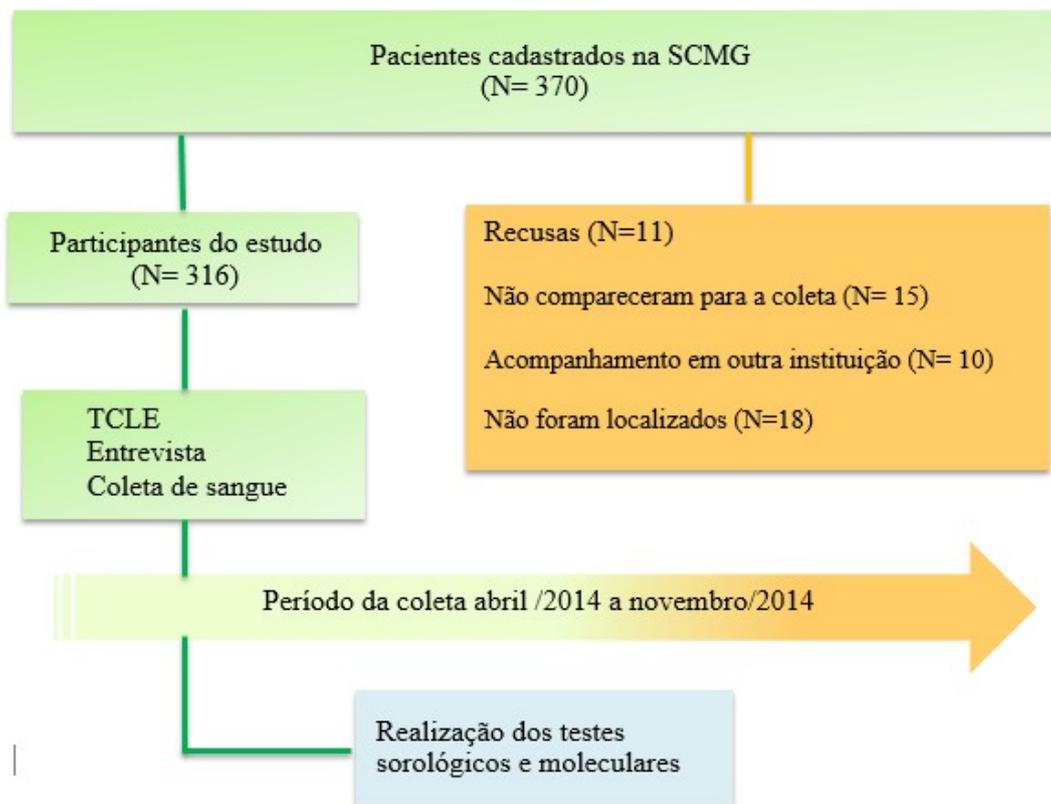


Figura 9 - Fluxograma do estudo

4.2. Entrevista e Coleta de Sangue

Os participantes foram esclarecidos sobre os objetivos e procedimentos do estudo, sendo solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) ou coleta de impressão digital dos analfabetos. Para os menores de idade, o referido termo foi assinado pelos pais ou responsáveis. A seguir, foi realizada a entrevista com preenchimento do questionário, contendo informações referentes a dados pessoais (idade, sexo, estado civil, cor/raça autodeclarada, naturalidade, escolaridade e renda familiar) e possíveis fatores de risco (hábitos de higiene, origem da água utilizada, consumo de carne suína e de caça, transfusão de sangue, hemodiálise e prática de sexo oral e anal). Dados clínico-laboratoriais (tipo de transplante, etiologia da insuficiência renal, uso da medicação imunossupressora, transaminases e presença dos marcadores HBsAg e anti-HCV) foram obtidos dos prontuários. Após coleta de 10 mL de sangue de cada paciente, as amostras foram transportadas para o Laboratório de Virologia do

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG, onde foram centrifugadas, os soros separados e estocados a -20°C até o momento de uso.

4.3 Testes Sorológicos

Todas as amostras foram testadas por ensaio imunoenzimático (ELISA), para a detecção dos marcadores anti-VHE IgG e IgM, empregando-se reagentes comerciais (RomWell HEV IgG; RecomWell HEV IgM, GmbH, Neuried, Germany). As amostras positivas no ELISA foram confirmadas pelo teste *immunoblot* (RecomLine HEV IgG/IgM; Mikrogen GmbH).

ELISA- Os testes RecomWell HEV IgG e IgM se baseiam no princípio sanduíche ELISA indireto. No entanto, os dois testes utilizam conjugados distintos (anticorpos anti-imunoglobulina G ou M ligados à peroxidase de rábano) para detecção de IgG ou IgM anti-VHE, respectivamente.

Resumidamente, em microplaca sensibilizada com proteínas virais recombinantes correspondentes à ORF2 do genoma do VHE (genótipos 1 e 3), as amostras diluídas de soro e os controles positivo e negativo foram adicionados e incubados. Depois da primeira lavagem, o conjugado foi acrescido e, após incubação e nova lavagem, o substrato contendo o cromógeno tetrametilbenzidina (TMB) foi adicionado ocorrendo uma reação colorimétrica. A reação foi interrompida pela adição de uma solução de ácido sulfúrico e a leitura espectrofotométrica realizada em densidade óptica de 450 nm, com um comprimento de onda de referência de 650 nm. O valor do *cut-off* foi calculado pela média das absorvâncias dos dois controles. Foram consideradas (i) positivas, as amostras cuja densidade óptica apresentou-se superior ao valor do *cut-off* acrescido de 20%; (ii) indeterminadas ou na zona cinza, quando a leitura era igual ao *cut-off* ou até o valor do *cut-off* mais 20% (*cut-off* multiplicado por 1,2); e (iii) negativas, as amostras que tinham valores de absorvância abaixo da zona cinza.

IMMUNOBLOT - Em tiras-teste de nitrocelulose contendo os antígenos fixados do VHE: O2N, O2C, O3 (genótipos 1 e 3) e O2M (genótipo 1), as amostras diluídas e os controles positivos e negativos foram incubados. Após lavagem, em uma segunda etapa, ocorreu a incubação das tiras com o conjugado (anticorpos anti-

imunoglobulina humana IgG ou IgM ligados à peroxidase de rábano). A seguir, uma nova lavagem foi realizada e o substrato contendo TMB adicionado. Após a reação ser interrompida, as fitas foram colocadas em papel branco absorvente para análise. Por meio de uma reação colorimétrica foram visualizadas bandas escuras correspondentes à reatividade aos antígenos do VHE. O resultado do teste era determinado pela soma dos valores de cada antígeno, isto é, O2N, O2C, O3 e O2M valendo, respectivamente, 2, 4, 3 e 2 pontos. Se a soma dos pontos fosse menor ou igual a 2, o teste era interpretado como negativo; se igual a 3, como duvidoso; e maior ou igual a 4, como positivo.

4.4 Teste Molecular

As amostras IgG e IgM positivas no teste confirmatório foram submetidas à detecção do RNA viral, conforme descrito por Jothikumar et al. (2006). O RNA foi extraído e purificado a partir de 200 µL de soro utilizando o kit de alta purificação de ácido nucleico da Roche (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany), seguindo as instruções do fabricante. A partir do RNA, foi realizada a transcrição reversa na presença de desoxirribonucleotídeos trifosfatados, dNTPs (dGTP, dCTP, dATP e dTTP), da enzima transcriptase reversa e de oligonucleotídeos iniciadores correspondentes a uma das regiões mais conservadas do genoma (ORF-3) (Quadro 2) a 42°C, por 60 minutos. Uma alíquota de 5 µL cDNA foi utilizada para amplificação pela Taq polimerase, a partir dos iniciadores (Quadro 2), dNTPs e da sonda TaqMan® (JHEVP; FAM5'-TGATTCTCAGCCCTTCGC-3'BHQ1) (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

A PCR em tempo real foi realizada no equipamento *ABI Prism 7500 fast* (Applied Biosystems) empregando o programa com as seguintes etapas: (1) um ciclo de 2 minutos a 50°C; (2) um ciclo de 15 minutos a 95°C; (3) 40 ciclos de 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 55°C. Os sinais de fluorescência emitidos pelos fluoróforos da sonda TaqMan® foram detectados pelo equipamento, gerando curvas semilogarítmicas dos sinais de amplificação. Os resultados foram analisados com base no valor de Ct (*cycle threshold* ou ciclo limiar), sendo este o ponto correspondente ao número de ciclos onde a amplificação atingiu um dado limiar que permitiu a análise quantitativa, tendo como referência uma curva padrão, construída pela diluição em série 10 do padrão de quantificação do RNA do VHE (plasmídeo cedido pelo Dr. N. Jothikumar).

Quadro 2 - Sequência dos oligonucleotídeos utilizados no estudo (JOTHIKUMAR et al., 2006)

Oligonucleotídeos	Sentido	Sequência (5' → 3')
JVHEVF	<i>Sense</i>	GGTGGTTTCT GGGGTGAC
JVHEVR	<i>Anti-sense</i>	AGGGGTTGGTTGGATGAA

4.5. Processamento e Análise dos Dados

Os dados obtidos nas entrevistas e os resultados dos testes sorológicos foram digitados e analisados em microcomputador utilizando o programa estatístico SPSS, versão 20 (SPSS Inc., Chicago, USA). A prevalência para o VHE foi calculada com um intervalo de confiança de 95% (IC 95%). A média de idade com o respectivo desvio padrão e frequência das características foram calculados.

5. RESULTADOS

5.1 Características da População Estudada

A Tabela 1 mostra as características sociodemográficas dos 316 pacientes estudados. A média de idade foi de 46,4 anos (dp 12,3), com a idade mínima de 16 e a máxima de 75 anos, sendo a maior frequência de indivíduos acima de 50 anos (39,9%). Em relação ao sexo, observou-se predomínio do masculino (55,1%).

Mais da metade da população declarou-se parda (56,3%), 23,4% pretos, 20,0% brancos e 0,3% amarelos. A maioria (64,6%) era casada ou relatou união consensual, 19,6% eram solteiros e 15,8% separados ou viúvos. A respeito da escolaridade 18,3% informaram possuir até quatro anos de estudo, enquanto 38,0% e 43,7%, de 5-9 e mais de nove anos de estudo, respectivamente.

Considerando o salário mínimo (sm) na época da pesquisa de R\$ 724,00 reais, constatou-se que 16,2% referiram renda familiar inferior a um sm, 37,8% de um a dois sm, 35,9% de três a cinco sm e 10,1% superior a cinco sm. A maioria dos participantes (69,6%) mencionou ter nascido em Goiás.

Observa-se na Figura 10 que a causa da insuficiência renal crônica (IRC) foi secundária a hipertensão arterial e glomerulonefrite em 24,1% e 21,8% dos participantes, respectivamente. Outrossim, em 29,7%, a causa da insuficiência renal não foi definida. As etiologias observadas em frequências menores foram doença renal policística do adulto (DRPA), diabetes e pielonefrite crônica. Outras relatadas por 7,3% dos pacientes estudados englobavam complicações relacionadas à gestação e pós-parto, bexiga neurogênica, lúpus eritematoso sistêmico, gota, uso de anti-inflamatórios e acidente botrópico.

Tabela 1 - Características sociodemográficas dos 316 pacientes transplantados renais estudados em Goiânia-Goiás

Características	N	%
Idade (anos) (média ± dp: 46,4 ± 12,3)		
16 – 20	10	3,2
21 - 30	24	7,6
31 – 40	69	21,8
41 – 50	87	27,5
>50	126	39,9
Sexo		
Masculino	174	55,1
Feminino	142	44,9
Cor autodeclarada		
Parda	178	56,3
Preta	74	23,4
Branca	63	20,0
Amarela	1	0,3
Estado civil		
Casado(a)/União consensual	204	64,6
Solteiro(a)	62	19,6
Viúvo(a)/Separado(a)	50	15,8
Escolaridade (anos)		
0 – 4	58	18,3
5 – 9	120	38,0
>9	138	43,7
Renda familiar (salários mínimos)		
< 1	51	16,2
1 – 2	119	37,8
3 – 5	113	35,9
>5	32	10,1
Naturalidade		
Goiás	220	69,6
Outro estado	96	30,4

dp: desvio padrão

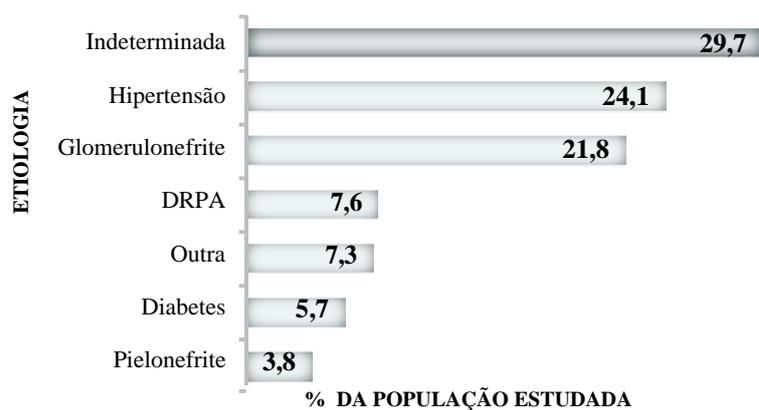


Figura 10: Distribuição dos pacientes estudados, conforme a etiologia da IRC

Na Tabela 2, verifica-se a distribuição dos transplantados renais, segundo o tratamento da IRC. A transfusão de sangue foi realizada em 84,8% dos pacientes. Do total, 49,7% receberam o enxerto renal de doador cadáver e 50,3% de doador vivo. A média de tempo pós-transplante dos pacientes foi de 6,6 anos (dp 4,8), com 47,8% apresentando mais de cinco anos de transplante renal. Sobre o tratamento dialítico, 98,1% foram submetidos à hemodiálise, sendo que a maioria (55,2%) por 1-5 anos. Apenas 22,2% realizaram diálise peritoneal e, em relação ao tempo desse tratamento, notou-se que uma frequência maior de pacientes (65,7%) o fez por menos de um ano.

Sobre as condições de moradia e comportamentos/práticas relacionadas à transmissão fecal-oral (Tabela 3), a maioria relatou morar em casa com água tratada (86,7%) e rede de esgoto (58,5%). Dos entrevistados, 69,4% afirmaram moradia atual ou anterior em área rural (fazenda ou chácara). A maior parte da população informou que lavava as mãos antes das refeições (77,9%) e após usar o banheiro (87,0%), bem como consumia água filtrada, fervida ou mineral (90,5%). As práticas de sexo oral e anal foram referidas por 38% e 22,6% dos pacientes, respectivamente. Ainda, o consumo de carne suína ou de animal silvestre foi mencionado por 77,1% dos entrevistados, e o contato com animal doméstico foi informado por 57,1% dos pacientes.

Tabela 2 – Distribuição dos 316 transplantados renais estudados, segundo o tratamento da insuficiência renal crônica

Características	N	%
Transfusão de sangue		
Não	48	15,2
Sim	268	84,8
Tipo de transplante		
Doador vivo	159	50,3
Doador cadáver	157	49,7
Tempo pós-transplante (anos)		
< 1	48	15,2
1 a 5	117	37,0
> 5	151	47,8
Hemodiálise		
Não	6	1,9
Sim	310	98,1
Tempo em hemodiálise (anos)*		
< 1	51	16,4
1 a 5	171	55,2
5 a 10	71	22,9
> 10	17	5,5
Diálise peritoneal		
Não	246	77,8
Sim	70	22,2
Tempo em diálise peritoneal (anos)**		
< 1	46	65,7
1 a 2	8	11,4
2 a 5	12	17,2
5 a 10	4	5,7

*Foram considerados indivíduos submetidos à hemodiálise (N=310)

**Foram considerados indivíduos submetidos à diálise peritoneal (N=70)

Tabela 3 – Condições de moradia e comportamentos/práticas relacionadas à transmissão fecal-oral de 316 pacientes transplantados renais em Goiânia-GO

Características	N	%
Habitação em área rural		
Não	96	30,6
Sim	218	69,4
Sem informação 2		
Água tratada		
Não	42	13,3
Sim	274	86,7
Rede de esgoto		
Não	131	41,5
Sim	185	58,5
Água utilizada		
Filtrada/Fervida/Mineral	286	90,5
Torneira	30	9,5
Prática de lavar às mãos antes das refeições		
Sempre	246	77,9
Às vezes/Nunca	70	22,1
Prática de lavar às mãos após usar o banheiro		
Sempre	275	87,0
Às vezes/Nunca	41	13,0
Sexo Anal*		
Não	236	77,4
Sim	69	22,6
Sexo Oral*		
Não	189	62,0
Sim	116	38,0
Consumo de carne suína ou animais silvestres		
Não	49	22,9
Sim	265	77,1
Sem informação 2		
Animal doméstico		
Não	135	42,9
Sim	180	57,1
Sem informação 1		

*Foram considerados indivíduos que relataram atividade sexual (N=305)

5.2 Prevalência da Infecção pelo VHE

Dos 316 transplantados renais, 10 foram anti-VHE IgG reagentes e um indeterminado por ELISA. Destes, oito foram confirmados como positivos por *immunoblot*, resultando em uma prevalência de 2,5% (IC 95%: 1,2 - 5,1) (Tabela 4).

Em relação ao marcador anti-VHE IgM, um paciente foi indeterminado e outro reagente por ELISA, sendo confirmada a positividade deste último por *immunoblot* (Tabela 4). As amostras positivas no *immunoblot* foram submetidas à detecção do RNA viral por PCR em tempo real, sendo todas negativas.

Tabela 4 – Prevalência dos marcadores anti-VHE IgG e IgM em 316 pacientes transplantados renais estudados

Marcador	Positivos		IC 95%
	N	%	
Anti-VHE IgG			
ELISA	10	3,2	1,6 - 5,9
<i>Immunoblot</i>	8	2,5	1,2 - 5,1
Anti-VHE IgM			
ELISA/ <i>Immunoblot</i>	1	0,3	0,02 - 2,0

IC: intervalo de confiança

5.3 Características dos pacientes anti-VHE positivos e negativos

Os pacientes expostos ao VHE (Tabela 5) apresentaram uma média de idade de 46,5 anos, semelhante à verificada nos pacientes negativos. Embora o número de indivíduos anti-VHE positivos seja reduzido, observou-se predomínio do sexo masculino, e a média de tempo pós-transplante renal nestes pacientes foi ligeiramente superior a dos não expostos ao VHE.

Tabela 5 – Características dos pacientes anti-VHE IgG positivos e negativos

Características	Anti-VHE IgG	
	Positivos (N = 8)	Negativos (N = 308)
Idade (anos)		
Média	46,5	46,4
Sexo %		
Masculino	62,5	45,1
Feminino	37,5	54,9
Tempo pós-transplante (anos)		
Média	8,5	6,5
Comportamento/práticas de risco (%)		
Transusão de sangue	87,5	84,7
Consumo de carne suína ou animais silvestres	87,5	83,8
Animal doméstico	50,0	57,1
Habitação rural	50,0	69,5
Sexo oral/anal	50,0	36,4
Consumo de água não filtrada	25,0	9,1
Dados clínico-laboratoriais (%)		
Hemodiálise	100	98,1
Transplante com doador vivo	62,5	50,0
Prednisona + inibidor de calcineurina + micofenolato	75,0	63,0
Uso de tacrolimo	62,5	65,9
História de hepatite/icterícia	37,5	14,6
ALT aumentada (55-137 UI/L)	25,0	3,2
Hepatite C	12,5	2,6

Ainda na Tabela 5, características de risco como história de transfusão de sangue, consumo de carne suína ou animal silvestre, contato com animal doméstico e moradia atual ou anterior em área rural foram observadas em frequências elevadas nos dois grupos. Os pacientes expostos ao VHE apresentaram frequências ligeiramente maiores de consumo de água não filtrada e práticas de sexo oral/anal.

Todos os oito pacientes positivos foram submetidos à hemodiálise e a maioria recebeu um enxerto renal de doador vivo, fazia uso de esquema triplo de imunossupressão com prednisona, micofenolato (sódico ou mofetil) e inibidor de calcineurina (ciclosporina ou tacrolimo); dados semelhantes aos verificados nos pacientes com sorologia negativa. Por outro lado, hepatite/icterícia foi observada em 37,5% (3/8) dos pacientes anti-VHE positivos e níveis elevados de ALT em 25% (2/8) deles. Um destes pacientes apresentou marcador positivo para hepatite C (anti- HCV) e também nível elevado de ALT (137 UI/L). Além disso, os pacientes anti-VHE positivos não apresentaram o marcador sorológico de infecção pelo vírus da hepatite B (HBsAg).

O paciente com sorologia positiva para anti-VHE IgM (RT-60) era do sexo masculino, com 39 anos de idade. O mesmo foi submetido à transplante renal com órgão de doador vivo há nove anos, sendo o regime terapêutico atual com prednisona, micofenolato e sirolimus. Este paciente não apresentou relato atual de icterícia/hepatite e alterações das transaminases. Os marcadores para hepatites B e C foram negativos. Em relação às características de risco, ele informou ingestão habitual de carne de porco, contato com animal doméstico (cachorro), habitação anterior em área rural, hemodiálise por um período de 2 a 5 anos e mais de 20 transfusões de sangue.

6. DISCUSSÃO

Nos últimos anos, o VHE tem sido apontado como causa importante de hepatite crônica em receptores de transplante (KAMAR et al., 2011a). Esta dissertação consiste na primeira investigação soropidemiológica da infecção pelo vírus da hepatite E em pacientes transplantados renais na Região Centro-Oeste do Brasil, na qual foi estimada a prevalência desta infecção numa população de doentes renais crônicos submetidos ao transplante renal, atendidos no ambulatório da Santa Casa de Misericórdia de Goiânia.

No período do estudo, o total de transplantados renais em Goiânia era de 892 indivíduos, conforme o cadastro desses pacientes junto a Central de Medicamentos de Alto Custo Juarez Barbosa. Segundo o cálculo amostral, seria necessário estudar no mínimo 218 pacientes. Dessa forma, a população estudada (N=316) na SCMG pode ser considerada representativa dos transplantados renais de Goiânia, uma vez que a referida instituição admitiu vários pacientes dos outros dois centros transplantadores. Assim, os dados apresentados contribuem para o conhecimento da circulação desse vírus em nossa cidade e, principalmente, na população estudada.

Na análise das características sociodemográficas, verificou-se que a média de idade foi de 46,4 anos (dp 12,3), sendo próxima à observada em São Paulo-SP (42,6 anos com dp 11,9) em pacientes transplantados renais (HERING et al., 2014). Notou-se, também, um discreto predomínio do sexo masculino nesta investigação (55,1%) e no estudo conduzido por Hering et al., (2014) (65%). Semelhantemente, o censo de pacientes em diálise da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN, 2014) indicou que 58% desses pacientes eram do sexo masculino. Segundo o registro da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO) foram realizados, em 2014 no Brasil, 5652 transplantes renais, sendo 3714 em indivíduos do sexo masculino (65,7%) e 1938 do feminino (32,3%) (RBT, 2014). Em Goiânia, no mesmo ano, de 65 transplantes, 45 foram em pacientes do sexo masculino (69,2%) e 20 do feminino (30,8%) (SM Botelho, comunicação pessoal).

No censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), 91 milhões de brasileiros se autodeclararam brancos (47,7%), 82 milhões como pardos (43,1%), 15 milhões como pretos (7,6%) e o restante como amarelos (1,1%) ou indígenas (0,4%). Assim, os índices de indivíduos pardos (56,3%), pretos (23,4%), brancos (20%) e amarelos (0,3%) do presente estudo refletem a miscigenação da população brasileira.

Mais de 80% dos transplantados renais analisados declararam ter mais de quatro anos de estudo e renda superior a R\$ 724 reais. Estes dados foram semelhantes aos observados pelo IBGE. Pela Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD), o IBGE constatou que a maior parte da população brasileira (78,2%) tinha quatro anos ou mais anos de escolaridade (IBGE, 2013), e os rendimentos domiciliares per capita para Goiás foram de R\$ 1031 reais (IBGE, 2014).

Quanto à naturalidade, a maioria dos pacientes (69,6%) era de Goiás e, dentre aqueles de outros estados (30,4%), um terço era proveniente do Tocantins, estado que não oferece o transplante de rim como terapia para doença renal crônica, sendo Goiânia uma importante opção para esses pacientes.

Na etiologia da insuficiência renal crônica, os achados do presente estudo mostraram que a causa da IRC foi secundária a hipertensão arterial e glomerulonefrite em 24,1% e 21,8% dos pacientes, respectivamente, e indeterminada em 29,7%. Dados estes diferentes do censo da SBN, os quais trazem hipertensão (35%), diabetes (29%) e glomerulonefrite (11%) como as principais causas de IRC nos pacientes dialíticos e apenas 9% de etiologia indefinida (SBN, 2014). A frequência baixa de diabetes na população estudada (5,7%) como etiologia da IRC pode ser explicada pelo fato que os pacientes diabéticos são muitas vezes encaminhados para centros que realizam transplante duplo de pâncreas-rim, ou apresentam contraindicações para a realização do transplante renal, como idade avançada e complicações cardiovasculares. O índice maior de causa indeterminada para IRC em nosso meio pode implicar em algumas dificuldades, tais como: de tratamento especializado nos estágios iniciais da doença renal crônica, de acesso para realização de biópsia renal, do diagnóstico preciso em decorrência das várias comorbidades presentes no paciente, ou mesmo, a ausência de registros corretos nos prontuários.

Quanto ao tipo de transplante realizado, não foi observada diferença quanto ao doador, se vivo (50,3%) ou cadáver (49,7%). Já a população estudada por Hering et al., (2014) era constituída de 65% de pacientes submetidos à transplantes com órgão de doador vivo. Tais dados diferem dos mostrados pela ABTO, com frequências maiores no Brasil (global), São Paulo e Goiânia de transplante com órgãos de doadores falecidos (75,4%, 71,8% e 66,1%, respectivamente) (RBT, 2014). Porém, avaliando retrospectivamente, os transplantes de órgãos de doadores vivos eram predominantes em 2006 (53,6%), diminuindo em 22% de 2008 a 2013 (RBT, 2013). Vale a pena ressaltar que a maioria dos pacientes estudados (47,8%) foi transplantada há mais de cinco anos, isto é, antes de 2011, quando a doação entre vivos era mais frequente. Além disso, durante a última década, dificuldades foram enfrentadas pela Central Regional de Goiás de Captação e Distribuição de Órgãos. Assim, um trabalho árduo foi realizado para aumentar o número de doações. Contudo, em 2014, foram 260 notificações de potenciais doadores com efetivação apenas de 26 (RBT, 2014). Apesar do programa de doação e transplante existir a um longo tempo e apresentar um aumento expressivo na taxa de notificação, a de efetivação permanece baixa (10%) em Goiás, sendo o índice de não autorização familiar para doação o mais alto do País (82%) (RBT, 2014).

Sobre o tratamento dialítico, 98,1% dos pacientes avaliados foram submetidos à hemodiálise e 22,2% realizaram diálise peritoneal; dados concordantes com o censo de pacientes em diálise, que também demonstrou a predominância dos pacientes hemodialisados (91,4%) (SBN, 2014). Apesar da diálise peritoneal domiciliar e hemodiálise serem integralmente custeadas pelo SUS, menos de 10% dos pacientes foram submetidos ao primeiro tratamento. Alguns fatores dificultam a adesão dos pacientes renais à diálise peritoneal no País, tais como: diagnóstico tardio da IRC, falta de estrutura nas clínicas para treinamento dos pacientes, reembolso insuficiente dos custos da diálise, ausência de estrutura domiciliar, suporte familiar ou capacidade intelectual para realização da terapia, falta de treinamento e interesse por parte dos profissionais de saúde. O tempo de duração do tratamento hemodialítico na maioria dos pacientes estudados foi de 1-5 anos, sendo semelhante ao verificado por Hering et al., (2014), que mostraram uma média de duração do tratamento de 3,4 anos (dp 3,2).

A variabilidade da soroprevalência do VHE em diferentes populações depende da endemicidade da infecção na região do estudo e da metodologia utilizada (ELISA, *immunoblot* ou detecção do RNA viral). Nesta investigação, a soroprevalência para o marcador anti-VHE IgG de 2,5% (IC 95%: 1,2-5,1), empregando *immunoblot*, foi diferente da encontrada por Hering et al., (2014) (15%; IC 95%: 10,1-20,6), que utilizou apenas ELISA para detecção de anticorpos anti-VHE IgG. É importante salientar que os testes confirmatórios, como o *immunoblot*, são importantes para afastar reações sorológicas cruzadas (FOGEDA; AVELLÓN; ECHEVARRÍA, 2012; HERREMANS et al., 2007). Além disso, essa diferença pode ser explicada pelo recrutamento, uma vez que a população de transplantados renais estudada por Hering et al., (2014) foi constituída por pacientes com suspeita de hepatopatia referenciados para uma unidade especializada.

Em contrapartida, a prevalência desta investigação foi semelhante à estimada na análise retrospectiva, incluindo amostras de soro de transplantados renais que apresentavam alteração inexplicável das transaminases, realizada em São Paulo, na qual o RNA viral foi detectado em uma frequência de 3,1% (IC 95%: 0,8-9,5) (PASSOS et al., 2013). A soroprevalência aqui encontrada foi concordante com às taxas observadas em pacientes renais crônicos em hemodiálise também em São Paulo (5,3%; IC 95%: 0,9-19,1%) (FOCACCIA; SETTE JÚNIOR; CONCEIÇÃO, 1995) e no Rio de Janeiro (6,2%; IC 95%: 2-15,8) (TRINTA et al., 2001).

A prevalência de anti-VHE IgG em doadores de sangue do Brasil, nos últimos anos, variou de 2,0 a 10%. Os estudos de Parana et al., (1997), Bortoliero et al., (2006), Gonçalves et al., (2000), Silva et al., (2012) e Trinta et al.; (2001) observaram taxas de 2,0% (IC 95%: 0,6-5,4); 2,3% (IC 95%: 1,5-3,5); 3,0% (IC 95%: 1,1-7,3); 4,0% (IC 95%: 1,3-10,4) e 4,3% (IC 95%: 1,4-11,3), respectivamente, sendo próximas à estimada no presente estudo. Diferentemente, Passos-Castilho et al., (2015) encontraram uma prevalência de 10% (IC 95%: 7,0-14,1). Nesse estudo, a população era de descendência alemã, cujos hábitos alimentares podem ter influenciado a maior soroprevalência de anti-VHE, devido ao consumo elevado de carne suína. Além disso, tal diferença pode ser explicada pelos testes sorológicos utilizados, pois publicações têm relatado sensibilidades distintas entre os diferentes ensaios (AVELLON et al., 2015; BENDALL et al., 2010; MOAL et al., 2015; PAS et al., 2013; WENZEL et al., 2013; WU et al., 2014).

Em relação a outros países com nível de endemicidade para o VHE semelhante ao do Brasil (Figura 6), o índice para o marcador anti-VHE IgG deste estudo foi concordante aos observados em transplantados renais na Espanha (0%; IC 95%: 0,4-19,2) (BUTI et al., 2010), Itália (3,3%; IC 95%: 1,1-8,8) (SCOTTO et al., 2015) e no norte da França (Paris) (6,5%; IC 95%: 1,7-18,9) (MAYLIN et al., 2012). No entanto, a prevalência aqui determinada foi diferente das obtidas na França (Marselha) (14,4%; IC 95%: 9,5-21,0) (MOAL et al., 2013a), Chile (15,6%; IC 95%: 7,0-30,1) (IBARRA et al., 1998) e Reino Unido (18,2%; IC 95%: 11,1-28,1) (HARRISON et al., 2013). Além das questões de recrutamento da população transplantada renal e diferenças nos ensaios diagnósticos, outro fator que pode estar relacionado à maior prevalência nesses estudos são os hábitos alimentares, pois foi detectado o RNA viral em produtos que continham fígado cru de porco, que são especialidades culinárias no leste e sudeste da França (PAVIO; MERBAH; THÉBAULT, 2014). Outro estudo no Reino Unido detectou o RNA viral em mais de 90% dos mexilhões da costa oeste (CROSSAN et al., 2012).

Nesta dissertação, dos oito pacientes positivos no *immunoblot*, apenas um apresentou o marcador anti-VHE IgM (0,3%; IC 95%: 0,02-2,0). Este paciente tinha ALT normal e ausência do RNA viral. A não detecção deste marcador nos pacientes com sorologia positiva para IgM pode ser devido ao curto período de viremia (em média 21 dias) (AGGARWAL, 2012). Resultados concordantes ao deste estudo foram publicados na Itália em 120 pacientes transplantados renais (anti-VHE IgM: 0,8%; IC 95%: 0,0-5,2; RNA viral: 0%) (SCOTTO et al., 2015). Em outra investigação, conduzida em 88 transplantados renais no Reino Unido, os marcadores IgM e RNA do VHE não foram detectados (HARRISON et al., 2013), demonstrando também uma soropositividade baixa para esses marcadores.

Os pacientes expostos ao VHE deste estudo apresentaram predomínio do sexo masculino (62,5%). Dado este concordante com o de Hering et al., (2014), em transplantados renais também expostos ao VHE (71%). Vários estudos têm mostrado uma maior soropositividade em indivíduos do sexo masculino

(KAMAR et al., 2014; NORDER et al., 2009). As razões para a maior prevalência em homens não são muito claras, embora o padrão da dieta (consumo carne de caça e de animais silvestres) e a exposição ocupacional (fazendeiros, tratadores de suínos, veterinários) possam estar relacionados.

Em relação à transfusão de sanguínea, frequências elevadas foram encontradas, tanto dentre os pacientes anti-VHE positivos (87,5%), quanto nos soronegativos (84,7%). Estes dados corroboram o verificado em São Paulo, onde 69% dos transplantados renais receberam hemotransfusão (HERING et al., 2014). Vale a pena ressaltar que, embora a via fecal-oral seja a principal responsável pela transmissão do VHE, casos de hepatite E pós-transfusional têm sido documentados (BEN-AYED et al., 2015; HEWITT et al., 2014; KHERADPEZHOUH et al., 2007; MATSUBAYASHI et al., 2004).

Ao considerar as características relacionadas à transmissão fecal-oral, a maioria da população estudada relatou morar em casa com água tratada (86,7%) e rede de esgoto (58,5%), utilizar água filtrada/fervida/mineral (90,5%) e ter práticas adequadas de higiene, como lavar às mãos antes das refeições (77,9%) e após usar o banheiro (87%). Por outro lado, dentre os pacientes com sorologia positiva, verificou-se que 25% consumiam água não filtrada versus 9,1% dos soronegativos. Já o relato de habitação em área rural foi observado em 69,5% dos pacientes anti-VHE IgG negativos e em 50% dos positivos, embora o papel do meio rural como fator de risco para infecção pelo VHE tem sido descrito (HOUCINE et al., 2012; MANSUY et al., 2011; VITRAL et al., 2014). Tal observação pode ser explicada, pelo fato que a maioria das pessoas com história de habitação rural apresenta contato com diversos animais que são reservatórios do VHE, como suínos, javalis, ratos, cães, gatos, vacas, ovelhas, cabras, aves, coelhos e cavalos (CHAUSSADE et al., 2013; JOHNE et al., 2010; REUTER et al., 2009; VITRAL et al., 2005; ZHANG et al., 2008).

Em investigações prévias (RENOU et al., 2014; VAN DER POEL, 2014; YUGO; MENG, 2013), a ingestão de carne mal cozida de animais, especialmente de suínos e de animais silvestres, foi um fator de risco para a infecção pelo VHE. Nesta investigação, no entanto, a maioria dos pacientes anti - VHE positivos e negativos relatou o consumo desse tipo de carne. Práticas de sexo oral/anal foram informadas por metade dos pacientes anti-VHE positivos. A hepatite E tem sido relatada em homens que fazem sexo com homens, o que pode sugerir a transmissão sexual do VHE em decorrência de algumas práticas como uso de saliva para lubrificação anal (BALI et al., 2006; MONTELLA et al., 1994; PAYNE et al., 2013).

Dos oito pacientes anti-VHE IgG positivos, um apresentou o marcador anti-HCV e nenhum o marcador HBsAg. O estudo de Hering et al., (2014), em três grupos de pacientes: infectados com HBV ou HCV (5%), sem doença hepática (16%) e ALT elevada (27%), demonstrou que a presença de anti-VHE IgG em pacientes com HBV ou HCV foi significativamente menor. Apesar de controverso, esse resultado pode ser explicado pelo mecanismo de interferência viral, que ocorre quando dois ou mais vírus estão presentes no mesmo indivíduo (BELLECAVE et al., 2009; YANG et al., 2011).

Dentro do contexto de uma população imunossuprimida, pode ocorrer viremia na ausência de anticorpos detectáveis, em decorrência da medicação para tolerância do enxerto renal (KAMAR; ROSTAING; IZOPET, 2013). O uso de inibidores da calcineurina ou inibidores do alvo da rapamicina nos mamíferos (mTOR) são conhecidos por diminuir a síntese de anticorpos pela inibição da progressão do ciclo celular e diferenciação dos linfócitos T (DEBING; NEYTS, 2014b; KAMAR et al., 2010; WANG et al., 2014; WEDEMEYER; PISCHKE; MANN, 2012). Assim sendo, uma limitação deste estudo foi a não realização da detecção do RNA viral nos soros dos pacientes anti-VHE não reagentes.

Os dados sobre soroprevalência do VHE na população transplantada renal brasileira são escassos, pois apenas dois estudos foram realizados em São Paulo (HERING et al., 2014; PASSOS et al., 2013). Além disso, somente uma investigação foi conduzida por Martins et al., (2014) em Goiás na população de catadores de materiais recicláveis em Goiânia. Embora a mesma seja uma população considerada de risco para a transmissão fecal-oral do VHE, devido ao consumo de água não filtrada,

ingestão de comida procedente do lixo e contato com fezes de animais e humanos, dentre outros resíduos, uma prevalência relativamente baixa (5,1%; IC 95%: 3,4-7,6) foi encontrada. Na mesma linha, a prevalência estimada nesta dissertação pode indicar uma circulação reduzida do VHE em Goiânia-Goiás, sendo provavelmente uma região de baixa endemicidade.

Apesar da prevalência encontrada para o marcador anti-VHE em transplantados renais em Goiânia ser baixa, a transmissão do VHE deve ser considerada um risco para estes pacientes, os quais são submetidos à imunossupressão e muitas vezes expostos a hemoderivados no período pré e pós-transplante. Portanto, é importante a conscientização da comunidade médica e capacitação dos laboratórios para o diagnóstico dessa infecção. Ressalta-se, também, a relevância da continuidade desta investigação com a detecção do RNA viral nos pacientes anti-VHE não reagentes, bem como do desenvolvimento de outros estudos no Brasil visando estimar a real prevalência da infecção pelo VHE em pacientes renais crônicos submetidos ao transplante de rim. Finalmente, tais estudos são fundamentais para proposição de ações de diagnóstico, controle e prevenção da hepatite E na população de transplantados renais no País.

7. CONCLUSÕES

- A soroprevalência global da infecção pelo vírus da hepatite E (anti-VHE IgG/IgM) em transplantados renais de Goiânia-Goiás foi de 2,5% (IC 95%: 1,2-5,1);
- A população estudada e os pacientes expostos ao VHE apresentaram comportamento/práticas de risco relacionados à transmissão parenteral, fecal-oral e zoonótica;
- O RNA viral não foi detectado nos pacientes anti-VHE positivos, indicando infecção passada com eliminação viral.

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, R. Clinical presentation of hepatitis E. **Virus Research**, v. 161, n. 1, p. 15–22, 2011.

AGGARWAL, R. Diagnosis of hepatitis E. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 10, n. 1, p. 24–33, 2012.

AGGARWAL, R. et al. Duration of viraemia and faecal viral excretion in acute hepatitis E. **Lancet**, v. 356, n. 9235, p. 1081–2, 2000.

AHMAD, I.; HOLLA, R. P.; JAMEEL, S. Molecular virology of hepatitis E virus. **Virus Research**, v. 161, n. 1, p. 47–58, 2011.

AHMED, A. et al. Mystery of hepatitis E virus: recent advances in its diagnosis and management. **International Journal of Hepatology**, v. 2015, p. 1–6, 2015.

ANDERSON, D. A. et al. ELISA for IgG- class antibody to hepatitis E virus based on highly conserved, conformational epitope expressed in E. coli. **Journal of Virological Methods**, v. 81, p. 131–142, 1999.

ARANKALLE, V. A. et al. Age-specific prevalence of antibodies to hepatitis A and E viruses in Pune, India, 1982 and 1992. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 171, n. 2, p. 447–450, 1995.

ARANKALLE, V. A.; CHOBE, L. P. Hepatitis E virus: Can it be transmitted parenterally? **Journal of Viral Hepatitis**, v. 6, n. 2, p. 161–164, 1999.

ARENDS, J. E. et al. Hepatitis E: An emerging infection in high income countries. **Journal of Clinical Virology**, v. 59, n. 2, p. 81–88, 2014.

AVELLON, A. et al. Comparative sensitivity of commercial tests for hepatitis E genotype 3 virus antibody detection. **Journal of Medical Virology**, v. 87, n. 11, p. 1934–1939, 2015.

BALAYAN, M. et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. **Intervirology**, v. 20, p. 23–31, 1983.

BALI, S. et al. Transmission of hepatitis E in a group of homosexuals in a village of North India. **Internet Journal of Epidemiology**, v. 3, n. 2, p. 3, 2006.

BAYLIS, S. et al. World Health Organization International Standard to harmonize assays for detection of hepatitis E virus RNA. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 5, p.729–735, 2013.

BEALE, M. A. et al. Is there evidence of recent hepatitis E virus infection in English and North Welsh blood donors? **Vox Sanguinis**, v. 100, n. 3, p. 340–342, 2011.

BELLECAVE, P. et al. Hepatitis B and C virus coinfection: a novel model system reveals the absence of direct viral interference. **Hepatology**, v. 50, n. 1, p. 46–55, 2009.

BEN-AYED, Y. et al. Hepatitis E virus seroprevalence among hemodialysis and hemophiliac patients in Tunisia (North Africa). **Journal of Medical Virology**, v. 87, n. 3, p. 441–445, 2015.

BENDALL, R.; ELLIS, V.; IJAZ, S.; ALI, R.; DALTON, H. A comparison of two commercially available anti-HEV IgG kits and a re-evaluation of anti-HEV IgG seroprevalence data in developed countries. **Journal of Medical Virology**, v. 82, n. 5, p. 799–805, 2010.

BILE, K.; ISSE, A.; MOHAMUD, O. Contrasting roles of rivers and wells as sources of drinking water on attack and fatality rates in a hepatitis E epidemic in Somaila. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 51, n. 4, p. 466–474, 1994.

BORTOLIERO, A. L. et al. Seroprevalence for hepatitis E virus (HEV) infection among volunteer blood donors of the Regional Blood Bank of Londrina, State of Paraná, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 2, p. 87–92, 2006.

BOUTROUILLE, A. et al. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 6, p. 2009–2010, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico-Hepatites Virais Ano IV, n.1, 2015. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/2015/boletim-epidemiologico-de-hepatites-virais-2015>

BUFFET, C. et al. A high hepatitis E virus seroprevalence among renal transplantation and haemophilia patient populations. **Journal of Hepatology**, v. 24, n. 1, p. 122–125, 1996.

BUISSON, Y. et al. Identification of a novel hepatitis E virus in Nigeria. **The Journal of General Virology**, v. 81, n. 4, p. 903–909, 2000.

BUTI, M. et al. Are recipients of solid organ transplantation a high-risk population for hepatitis E virus infection? **Liver Transplantation**, v. 16, n. 1, p. 106–107, 2010.

CHANDRA N. S. et al. Dynamics of HEV viremia, fecal shedding and its relationship with transaminases and antibody response in patients with sporadic acute hepatitis E. **Virology journal**, v. 7, n. 213, p. 1-7, 2010.

CHANDRA, V. et al. The hepatitis E virus ORF3 protein modulates epidermal growth factor receptor trafficking, STAT3 translocation, and the acute-phase response. **Journal of virology**, v. 82, n. 14, p. 7100–7110, 2008.

CHANDRA, V. et al. The hepatitis E virus ORF3 protein regulates the expression of Liver-Specific genes by modulating localization of hepatocyte nuclear factor 4. **PLoS ONE**, v. 6, n. 7, p. 1–10, 2011.

CHAUSSADE, H. et al. Hepatitis E virus seroprevalence and risk factors for individuals in working contact with animals. **Journal of Clinical Virology**, v. 58, n. 3, p. 504–513, 2013.

CHOO, Q. et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, p. 582–585, 1989.

CLELAND, A. et al. Hepatitis E virus in Scottish blood donors. **Vox Sanguinis**, v. 105, p. 283–289, 2013.

COLSON, P. et al. Transfusion-associated hepatitis E, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 4, p. 648–649, 2007.

COLSON, P. et al. Severe thrombocytopenia associated with acute hepatitis E virus infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 7, p. 2450–2452, 2008.

- COLSON, P. et al. Autochthonous infections with hepatitis E virus genotype 4, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 8, p. 1361–1364, 2012.
- COOK, N.; VAN DER POEL, W. H. M. Survival and elimination of hepatitis E virus: A review. **Food and Environmental Virology**, v. 7, n. 3, p. 189-194, 2015.
- CORWIN, A. L. et al. A waterborne outbreak of hepatitis E virus transmission in southwestern Vietnam. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 54, n. 6, p. 559–562, 1996.
- CROSSAN, C. et al. Hepatitis E virus genotype 3 in shellfish, United Kingdom. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 12, p. 2085–2087, 2012.
- DA COSTA LANA, M. V. et al. Evaluation of hepatitis E virus infection between different production systems of pigs in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 46, n. 2, p. 399–404, 2014.
- DALTON, H. R. et al. Hepatitis E in new zealand. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 22, n. 8, p. 1236–1240, 2007.
- DALTON, H. R. et al. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. The **Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, p.1-10, 2008.
- DALTON, H. R. et al. Hepatitis E virus: Current concepts and future perspectives. **Current Infectious Disease Reports**, v. 8, n. 11, p. 698-709, 2014.
- DANE, D.; CAMERON, C.; BRIGGS, M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. **Lancet**, p. 695–698, 1970.
- DAVERN, T. J. et al. Acute hepatitis E infection accounts for some cases of suspected drug-induced liver injury. **Gastroenterology**, v. 141, n. 5, p. 1665–1672, 2011.
- DAWSON, G. J. et al. Solid-phase enzyme-linked immunoassay for hepatitis E virus utilizing recombinant antigens and synthetic peptides. **Journal of Virological Methods**, v. 38, p. 175–186, 1992.
- DEBING, Y.; NEYTS, J. Antiviral strategies for hepatitis e virus. **Antiviral Research**, v. 102, p. 106–118, 2014a.

DEBING, Y.; NEYTS, J. mTOR-inhibitors may aggravate chronic hepatitis E. **Journal of hepatology**, v. 61, n. 4, p. 720–722, 2014b.

DENIEL, C. et al. Acute pancreatitis: a rare complication of acute hepatitis E. **Journal of Clinical Virology**, v. 51, n. 3, p. 202–204, 2011.

DE NIET, A. et al. Chronic hepatitis E after solid organ transplantation. **Netherlands Journal of Medicine**, v. 70, n. 6, p. 261–266, 2012.

DE SOUZA, A. J. S. et al. HEV infection in swine from Eastern Brazilian Amazon: Evidence of co-infection by different subtypes. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 35, n. 5, p. 477–485, 2012.

DOS SANTOS, D. R. L. et al. Serological and molecular evidence of hepatitis E virus in swine in Brazil. **Veterinary Journal (London, England: 1997)**, v. 182, n. 3, p. 474–480, 2009.

DITAH, I. et al. Current epidemiology of hepatitis E virus infection in the United States: Low seroprevalence in the National Health and Nutrition Evaluation Survey. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, p. 1988–1994, 2014.

DROBENIUC, J. et al. Serologic assays specific to immunoglobulin M antibodies against hepatitis E virus: pangenotypic evaluation of performances. **Clinical Infectious Diseases**, v. 51, n. 3, p. 24–27, 2010.

ECHEVARRÍA, J. M. et al. Hepatitis E virus infection in Latin America: A review. **Journal of Medical Virology**, v. 85, n. 6, p. 1037–1045, 2013.

ENGLE, R. E. et al. Hepatitis E virus (HEV) capsid antigens derived from viruses of human and swine origin are equally efficient for detecting anti-HEV by enzyme immunoassay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 12, p. 4576–4580, 2002.

FABER, M. S. et al. Hepatitis E virus seroprevalence among adults, Germany. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 10, p. 1654–1657, 2012.

FEINSTONE, S. M.; KAPIKIAN, A. Z.; PURCELL, R. H. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. **Science**, v. 182, p. 1026–1028, 1973.

FIX, A. D. et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E in two rural Egyptian communities. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 62, n. 4, p. 519–523, 2000.

FOCACCIÀ, R.; SETTE JÚNIOR, H.; CONCEIÇÃO, O. J. Hepatitis E in Brazil. **Lancet (London, England)**, v. 346, n. 8983, p. 1165, 1995.

FOGEDA, M.; AVELLÓN, A.; ECHEVARRÍA, J. M. Prevalence of specific antibody to hepatitis E virus in the general population of the community of Madrid, Spain. **Journal of Medical Virology**, v. 84, n. 1, p. 71–74, 2012.

FRY, K. E.; TAM, A. W.; SMITH, M. M.; et al. Hepatitis E virus (HEV): strain variation in the nonstructural gene region encoding consensus motifs for an RNA-dependent RNA polymerase and an ATP/GTP binding site. **Virus Genes**, v. 6, n. 2, p. 173–185, 1992.

FUJIWARA, S. et al. Chronic hepatitis E: A review of the literature. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 21, n. 2, p. 78–89, 2014.

GAD, Y. Z. et al. Seroprevalence of subclinical HEV infection in asymptomatic, apparently healthy, pregnant women in Dakahlya Governorate, Egypt. **Asian Journal of Transfusion Science**, v. 5, n. 2, p. 136–139, 2011.

GEROLAMI, R.; BORENTAIN, P.; RAISSOUNI, F.; et al. Treatment of severe acute hepatitis E by ribavirin. **Journal of Clinical Virology**, v. 52, n. 1, p. 60–62, 2011.

GÉROLAMI, R.; MOAL, V.; COLSON, P. Chronic hepatitis E with cirrhosis in a kidney-transplant recipient. **The New England Journal of Medicine**, v. 358, n. 8, p. 859–860, 2008.

GONÇALES, N. S. et al. Hepatitis E virus immunoglobulin G antibodies in different populations in Campinas, Brazil. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 7, n. 5, p. 813–816, 2000.

GUO, Q.-S.; YAN, Q.; XIONG, J.-H.; et al. Prevalence of hepatitis E virus in Chinese blood donors. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 317–318, 2010.

HAKZE-VAN DER HONING, R.W. et al. First isolation of hepatitis E virus genotype 4 in Europe through swine surveillance in the Netherlands and Belgium. **PLoS One**, v. 6, n. 8, p. 6–11, 2011.

HARRISON, A. et al. Hepatitis E seroprevalence in recipients of renal transplants or haemodialysis in southwest England: a case-control study. **Journal of Medical Virology**, v. 85, n. 2, p. 266–71, 2013.

HAU, C. H. et al. Prevalence of enteric hepatitis A and E viruses in the Mekong River delta region of Vietnam. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, n. 2, p. 277–280, 1999.

HE, J. et al. Characterization of monoclonal antibodies to hepatitis E virus (HEV) capsid protein and identification of binding activity. **Journal of Biomedical Science**, v. 14, n. 5, p. 555–563, 2007.

HERING, T. Past and current hepatitis E virus infection in renal transplant patients. **Journal of medical virology**, v. 86, n. 6, p. 948–53, 2014.

HERREMANS, M. et al. Use of serological assays for diagnosis of hepatitis E virus genotype 1 and 3 infections in a setting of low endemicity. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 14, n. 5, p. 562–568, 2007.

HEWITT, P. E. et al. Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England. **The Lancet**, v. 384, n. 9956, p. 1766–1773, 2014.

HOUCINE, N. et al. Seroprevalence of hepatitis E virus infection in rural and urban populations, Tunisia. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 5, p. E119–E121, 2012.

HSIEH, S. Y. et al. Identity of a novel swine hepatitis E virus in Taiwan forming a monophyletic group with taiwan isolates of human hepatitis E virus. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 12, p. 3828–3834, 1999.

HUANG, C. C. et al. Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV). **Virology**, v. 191, n. 2, p. 550–558, 1992.

HUANG, S. et al. Profile of acute infectious markers in sporadic hepatitis E. **PLoS ONE**, v. 5, n. 10, p. 1–7, 2010.

IBARRA, H. et al. Anti-HEV in dialysis and renal transplant patients in an endemic region in Chile. **Clinical Nephrology**, v. 50, n. 4, p. 267–8, 1998.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo demográfico 2010**. Rio de Janeiro-RJ, 2010.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Síntese de Indicadores Sociais - Uma análise das condições de vida da população brasileira**. Rio de Janeiro-RJ, 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua**. Rio de Janeiro-RJ, 2014.

ICVT 2014. International Committee on Taxonomy of Viruses. Hepatitis E. In: Virus Taxonomy: 2013 Release. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp>

JAMEEL, S. Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. **Expert reviews in molecular medicine**, p. 1–16, 1999.

JOHNE, R. et al. Detection of a novel hepatitis E-like virus in faeces of wild rats using a nested broad-spectrum RT-PCR. **The Journal of General Virology**, v. 91, n. 3, p. 750–758, 2010.

JOTHIKUMAR, N. et al. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. **Journal of Virological Methods**, v. 131, n. 1, p. 65–71, 2006.

KALIA, M. et al. Heparan sulfate proteoglycans are required for cellular binding of the hepatitis E virus ORF2 capsid protein and for viral infection. **Journal of virology**, v. 83, n. 24, p. 12714–12724, 2009.

KAMAR, N. et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. **The New England Journal of Medicine**, v. 358, n. 8, p. 811–817, 2008a.

KAMAR, N. et al. Hepatitis E virus-related cirrhosis in kidney and kidney-pancreas-transplant recipients. **American Journal of Transplantation**, v. 8, n. 8, p. 1744–1748, 2008b.

KAMAR, N. et al. Influence of immunosuppressive therapy on the natural history of genotype 3 hepatitis-E virus infection after organ transplantation. **Transplantation**, v. 89, n. 3, p. 353–360, 2010.

KAMAR, N. et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. **Gastroenterology**, v. 140, n. 5, p. 1481–1490, 2011a.

KAMAR, N. et al. Hepatitis E virus and neurologic disorders. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. 173–182, 2011b.

KAMAR, N. et al. Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients. **Transplantation**, v. 93, n. 6, p. 617–623, 2012a.

KAMAR, N. et al. Hepatitis E virus: what transplant physicians should know. **American Journal of Transplantation**, v. 12, n. 9, p. 2281–2287, 2012b.

KAMAR, N. et al. How should hepatitis e virus infection be defined in organ-transplant recipients? **American Journal of Transplantation**, v. 13, n. 7, p. 1935–1936, 2013.

KAMAR, N. et al. Hepatitis E virus infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, p. 116–138, 2014.

KAMAR, N.; ROSTAING, L.; IZOPET, J. Hepatitis E virus infection in immunosuppressed patients: natural history and therapy. **Seminars in Liver Disease**, v. 33, n. 1, p. 62–70, 2013.

KHAMENEH, Z. R.; SEPEHRVAND, N.; MASUDI, S. Seroprevalence of hepatitis E among iranian renal transplant recipients. **Hepatitis Monthly**, v. 11, n. 8, p. 646–651, 2011.

KHERADPEZHOUH, M. et al. Presence and significance of transfusion-transmitted virus infection in Iranian patients on maintenance hemodialysis. **Journal of Microbiology, Immunology, and Infection**, v. 40, n. 2, p. 106–111, 2007.

KHUDYAKOV, Y. E. et al. Epitope mapping in proteins of hepatitis E virus. **Virology**, v. 194, n. 1, p. 89–96, 1993.

KHUDYAKOV, Y.; KAMILI, S. Serological diagnostics of hepatitis E virus infection. **Virus Research**, v. 161, n. 1, p. 84–92, 2011.

KHURROO, M. S.; KAMILI, S.; JAMEEL, S. Vertical transmission of hepatitis E virus. **The Lancet**, v. 345, n. 8956, p. 1025–1026, 1995.

KHURROO, M.S., KAMILI, S. Clinical course and duration of viremia in vertically transmitted hepatitis E virus (HEV) infection in babies born to HEV-infected mothers. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 16, n. 7, p. 519–523, 2009.

KMUSH, B. L.; NELSON, K. E.; LABRIQUE, A. B. Risk factors for hepatitis E virus infection and disease. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 13, n. 1, p. 41–53, 2015.

KRAIN, L. J. et al. Fetal and neonatal health consequences of vertically transmitted hepatitis E virus infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, n. 2, p. 365-370, 2014.

KRAIN, L. J.; NELSON, K. E.; LABRIQUE, A. B. Host immune status and response to hepatitis E virus infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 1, p. 139–65, 2014.

KRAWCZYNSKI, K.; BRADLEY, D. W. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis: identification of virus-associated antigen in experimentally infected cynomolgus macaques. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 159, n. 6, p. 1042–1049, 1989.

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

KUMAR, A. et al. Hepatitis E in pregnancy. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, v. 85, n. 3, p. 240–244, 2004.

KUMAR, R. M. et al. Sero-prevalence and mother-to-infant transmission of hepatitis E virus among pregnant women in the United Arab Emirates. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 100, n. 1, p. 9–15, 2001.

KUMAR, S. et al. Hepatitis E virus: the current scenario. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 4, p. e228–33, 2013.

LAN, X.; YANG, B.; LI, B. Y.; et al. Reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of hepatitis E virus. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 7, p. 2304–2306, 2009.

LA ROSA, G. et al. Molecular characterisation of human hepatitis E virus from Italy: comparative analysis of five reverse transcription-PCR assays. **Virology Journal**, v. 11, n. 72, p. 1–8, 2014.

LEGRAND-ABRAVANEL et al. Characteristics of autochthonous hepatitis E virus infection in solid-organ transplant recipients in France. **Journal of Infectious Diseases**, v. 202, n. 6, p. 835-844, 2010.

LEGRAND-ABRAVANEL et al. Hepatitis E virus infection without reactivation in solid-organ transplant recipients, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 30-37, 2011.

LI, S. W. et al. A bacterially expressed particulate hepatitis E vaccine: antigenicity, immunogenicity and protectivity in primates. **Vaccine**, v. 23, n. 22, p. 2893–2901, 2005.

LIU, P. et al. Phylogenetic analysis of 626 hepatitis E virus (HEV) isolates from humans and animals in China (1986-2011) showing genotype diversity and zoonotic transmission. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 2, p. 428–434, 2012.

LOPES DOS SANTOS, D. R. et al. First report of a human autochthonous hepatitis E virus infection in Brazil. **Journal of Clinical Virology**, v. 47, n. 3, p. 276–279, 2010.

LU, L.; LI, C.; HAGEDORN, C. H. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: Genetic diversity, subtypes and zoonosis. **Reviews in Medical Virology**, v. 16, p. 5–36, 2006.

MAILA, H. T.; BOWYER, S. M.; SWANEPOEL, R. Identification of a new strain of hepatitis E virus from an outbreak in Namibia in 1995. **The Journal of General Virology**, v. 85, n. Pt 1, p. 89–95, 2004.

MANSUY, J. M. et al. Immunologically silent autochthonous acute hepatitis E virus infection in France. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 912–913, 2004.

MANSUY, J. M. et al. High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from South West France. **Journal of Medical Virology**, v. 80, n. 2, p. 289–293, 2008.

MANSUY, J. M. et al. Hepatitis E virus antibodies in blood donors, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 12, p. 2309–2312, 2011.

MARTINS, R. M. B. et al. Seroprevalence of hepatitis E antibodies in a population of recyclable waste pickers in Brazil. **Journal of Clinical Virology**, v. 59, n. 3, p. 188–191, 2014.

MATSUBAYASHI, K. et al. Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. **Transfusion**, v. 44, n. 6, p. 934–940, 2004.

MAYLIN, S. et al. Prevalence of antibodies and RNA genome of hepatitis E virus in a cohort of French immunocompromised. **Journal of Clinical Virology**, v. 53, n. 4, p. 346–9, 2012.

- MENG, X. J. et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 18, p. 9860–9865, 1997.
- MENG, X. J. et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and Other Countries. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 117–122, 2002.
- MIRAZO, S. et al. Transmission, diagnosis, and management of hepatitis E: an update. **Hepatic Medicine: Evidence and Research**, v. 6, p. 45–59, 2014.
- MITSUI, T. et al. Distinct changing profiles of hepatitis A and E virus infection among patients with acute hepatitis, patients on maintenance hemodialysis and healthy individuals in Japan. **Journal of Medical Virology**, v. 78, n. 8, p. 1015–1024, 2006.
- MITSUI, T. et al. Prevalence of hepatitis E virus infection among hemodialysis patients in Japan: Evidence for infection with a genotype 3 HEV by blood transfusion. **Journal of Medical Virology**, v. 74, n. 4, p. 563–572, 2004.
- MOAL, V. et al. Hepatitis E virus serological testing in kidney transplant recipients with elevated liver enzymes in 2007–2011 in southeastern France. **Diagnostic Microbiology and Infectious**, v. 76, n. 1, p. 116–118, 2013a.
- MOAL, V. et al. Infection with hepatitis E virus in kidney transplant recipients in southeastern France. **Journal of Medical Virology**, v. 85, n. 3, p. 462–471, 2013b.
- MOAL, V. et al. Systematic serological testing for hepatitis E virus in kidney transplant recipients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 5, p. 1523–1530, 2015.
- MONTELLA, F. et al. Association between hepatitis E virus and HIV infection in homosexual men. **The Lancet**, v. 344, n. 8934, p. 1433, 1994.
- MORI, Y.; MATSUURA, Y. Structure of hepatitis E viral particle. **Virus Research**, v. 161, n. 1, p. 59–64, 2011.
- MUSHAHWAR, I. K. et al. Serological studies of an enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in Somalia. **Journal of Medical Virology**, v. 40, p. 218–221, 1993.

MUSHAHWAR, I. K. Hepatitis E virus: Molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. **Journal of Medical Virology**, v. 80, p. 646–658, 2008.

NAIK, A. et al. Lack of evidence of hepatitis e virus infection among renal transplant recipients in a disease-endemic area. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 20, n. 4, p. 138–140, 2013.

NAVANEETHAN, U.; AL MOHAJER, M.; SHATA, M. T. Hepatitis E and pregnancy: Understanding the pathogenesis. **Liver International**, v. 28, n. 9, p. 1190-1199, 2008.

NICAND, E. et al. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus in Darfur, Sudan, and neighboring Chad. **Journal of Medical Virology**, v. 77, n. 4, p. 519–521, 2005.

NORDER, H. et al. Diagnostic performance of five assays for anti-HEV IgG and IgM in a large cohort study. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 65, n. 11, p. 5790 –5797, 2015.

NORDER, H. et al. Endemic hepatitis E in two Nordic countries. **Eurosurveillance**, v. 14, n. 19, p. 1–9, 2009.

PAIVA, H. H. et al. Molecular characterization of swine hepatitis E virus from Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 4, p. 693–698, 2007.

PARANÁ, R. et al. Prevalence of hepatitis E virus IgG antibodies in patients from a referral unit of liver diseases in Salvador, Bahia, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 57, n. 1, p. 60–1, 1997.

PARANÁ, R; SCHINONI, M. I. Hepatite E. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 3, p. 247-253, 2002.

PAS, S. D. et al. Diagnostic performance of selected commercial HEV IgM and IgG ELISAs for immunocompromised and immunocompetent patients. **Journal of Clinical Virology**, v. 58, n. 4, p. 629–634, 2013.

- PASSOS, A. M. et al. First report and molecular characterization of hepatitis E virus infection in renal transplant recipients in Brazil. **Journal of Medical Virology**, v. 85, p. 615–619, 2013.
- PASSOS-CASTILHO, A. M. et al. High prevalence of hepatitis E virus antibodies among blood donors in Southern Brazil. **Journal of Medical Virology**, n. July, p. 1–4, 2015.
- PAVIO, N.; MENG, X.-J.; DOCEUL, V. Zoonotic origin of hepatitis E. **Current Opinion in Virology**, v. 10, p. 34–41, 2015.
- PAVIO, N.; MENG, X. J.; RENO, C. Zoonotic hepatitis E: Animal reservoirs and emerging risks. **Veterinary Research**, v. 41, n. 6, p. 46, 2010.
- PAVIO, N.; MERBAH, T.; THÉBAULT, A. Frequent hepatitis E virus contamination in food containing raw pork liver, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 11, p. 1925–1927, 2014.
- PAYNE, B. A I. et al. Hepatitis E virus seroprevalence among men who have sex with men, United Kingdom. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 2, p. 333–335, 2013.
- PELOSI, E.; CLARKE, I. Hepatitis E: a complex and global disease. **Emerging Health Threats Journal**, v. 1, p. 1–17, 2008.
- PÉREZ-GRACIA, M. T.; SUAY, B.; MATEOS-LINDEMANN, M. L. Hepatitis E: An emerging disease. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 22, p. 40–59, 2014.
- PISCHKE, S.; GREER, M.; HARDTKE, S.; et al. Course and treatment of chronic hepatitis E virus infection in lung transplant recipients. **Transplant Infectious Disease**, v. 16, n. 2, p. 333–339, 2014.
- PUJOL, F. H. et al. Prevalence of antibodies against hepatitis E virus among urban and rural populations in Venezuela. **Journal of Medical Virology**, v. 42, n. 3, p. 234–236, 1994.
- PURCELL, R. H.; EMERSON, S. U. Hepatitis E: An emerging awareness of an old disease. **Journal of Hepatology**, v. 48, n. 3, p. 494–503, 2008.

PAWLOTSKY, J. M. Hepatitis E screening for blood donations: an urgent need? **The Lancet**, v. 384, n. 9956, p. 1729-1730, 2014.

RBT. Registro Brasileiro de Transplantes. **Dimensionamento dos Transplantes no Brasil e em cada Estado (2006-2013)** - ABTO- Associação Brasileira de Transplante de Órgãos. São Paulo-SP, 2013.

RBT. Registro Brasileiro de Transplantes. **Dimensionamento dos Transplantes no Brasil e em cada Estado (2007-2014)** - ABTO- Associação Brasileira de Transplante de Órgãos. São Paulo-SP, 2014.

RENOU, C. et al. Foodborne transmission of hepatitis E virus from raw pork liver sausage, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 11, p. 1945–1947, 2014.

RENOU, C. et al. Possible zoonotic transmission of hepatitis E from a pet pig to its owner. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 7, p. 1094–1096, 2007.

REUTER, G. et al. Characterization and zoonotic potential of endemic hepatitis E virus (HEV) strains in humans and animals in Hungary. **Journal of Clinical Virology**, v. 44, n. 4, p. 277–281, 2009.

REYES, G. R. et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. **Science (New York, N.Y.)**, v. 247, n. 4948, p. 1335–1339, 1990.

RIZZETTO, M. et al. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. **Gut**, v. 18, n. 12, p. 997–1003, 1977.

RIVEIRO-BARCIELA, M. et al. Cirrhosis, liver transplantation and HIV infection are risk factors associated with hepatitis E virus infection. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. 5-10, 2014.

SAID, B. et al. Hepatitis E outbreak on cruise ship. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 11, p. 1738–1744, 2009.

SBN. Sociedade Brasileira de Nefrologia. **Censo Brasileiro de Diálise**. São Paulo-SP, 2014. Disponível em: <http://www.censo-sbn.org.br/inicio>

SCHLOSSER, B. et al. Liver transplant from a donor with occult HEV infection induced chronic hepatitis and cirrhosis in the recipient. **Journal of Hepatology**, v. 56, n. 2, p. 500–502, 2012.

SCHOFIELD, D. J. et al. Identification by phage display and characterization of two neutralizing chimpanzee monoclonal antibodies to the hepatitis E virus capsid protein. **Journal of Virology**, v. 74, n. 12, p. 5548–5555, 2000.

SCHOFIELD, D. J. et al. Monoclonal antibodies that neutralize HEV recognize an antigenic site at the carboxyterminus of an ORF2 protein vaccine. **Vaccine**, v. 22, n. 2, p. 257–267, 2003.

SCOTTO, G. et al. Epidemiological and clinical features of HEV infection: a survey in the district of Foggia (Apulia, Southern Italy). **Epidemiology and Infection**, v. 142, n. 2, p. 287–294, 2014.

SCOTTO, G. et al. Hepatitis E in hemodialysis and kidney transplant patients in south-east Italy. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 11, p. 3266–3273, 2015.

SHAH, S. A. R.; LAL, A.; IDREES, M.; et al. Hepatitis E virus-associated aplastic anaemia: the first case of its kind. **Journal of Clinical Virology**, v. 54, n. 1, p. 96–97, 2012.

SHALIMAR; ACHARYA, S.K. Hepatitis E and Acute Liver Failure in Pregnancy. **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**, v. 3, n. 3, p. 213–224, 2013.

SHUKLA, P. et al. Cross-species infections of cultured cells by hepatitis E virus and discovery of an infectious virus-host recombinant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 6, p. 2438–2443, 2011.

SILVA, S. M. T. et al. Prevalence of hepatitis E virus antibodies in individuals exposed to swine in Mato Grosso, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 3, p. 338–341, 2012.

SINGH, S. et al. Mother-to-child transmission of hepatitis E virus infection. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 70, n. 1, p. 37–39, 2003.

SLOT, E. et al. Silent hepatitis E virus infection in Dutch blood donors, 2011 to 2012. **Eurosurveillance**, v. 18, n. 31, p. 1-7, 2013.

SMITH, D. B.; PURDY, M. A.; SIMMONDS, P. Genetic variability and the classification of hepatitis E virus. **Journal of Virology**, v. 87, n. 8, p. 4161–4169, 2013.

SMITH, D. B.; SIMMONDS, P. Hepatitis E virus and fulminant hepatitis--a virus or host-specific pathology? **Liver International**, v. 35, p. 1334–1340, 2015.

SOMANI, S.K. et al. A serological study of intrafamilial spread from patients with sporadic hepatitis E virus infection. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 10, n. 6, p. 446–449, 2003.

SRIDHAR, S.; LAU, S. K. P.; WOO, P. C. Y. Hepatitis E: A disease of reemerging importance. *Journal of the Formosan Medical Association*, p. 1–10, 2015.

STOSZEK, S. K. et al. High prevalence of hepatitis E antibodies in pregnant Egyptian women. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 100, n. 2, p. 95–101, 2006.

SULTANA, R.; HUMAYUN, S. Fetomaternal outcome in acute hepatitis E. **Journal of the College of Physicians and Surgeons-Pakistan**, v. 24, n. 2, p. 127–30, 2014.

TAKAHASHI, M. et al. Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. **Journal of General Virology**, v. 84, n. 4, p. 851–862, 2003.

TAKEDA, H. et al. A nationwide survey for prevalence of hepatitis E virus antibody in qualified blood donors in Japan. **Vox Sanguinis**, v. 99, n. 4, p. 307–313, 2010.

TAM, A. W.; SMITH, M. M.; GUERRA, M. E.; et al. Hepatitis E virus (HEV): Molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. **Virology**, v. 185, p. 120–131, 1991.

TATON, B. et al. Hepatitis E virus infection as a new probable cause of de novo membranous nephropathy after kidney transplantation. **Transplant Infectious Disease**, v. 15, n. 6, p. E211–215, 2013.

TESHALE, E. H. et al. Evidence of person-to-person transmission of hepatitis E virus during a large outbreak in Northern Uganda. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 7, p. 1006–1010, 2010.

TESHALE, E.; WARD, J. W. Making hepatitis E a vaccine-preventable disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 10, p. 899–901, 2015.

TREPO, C. A brief history of hepatitis milestones. **Liver International**, v. 34, p. 29–37, 2014.

TRINTA, K. S. et al. Hepatitis E virus infection in selected Brazilian populations. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 1, p. 25–29, 2001.

TSE, A. C. et al. Guillain-Barré syndrome associated with acute hepatitis E infection. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 19, n. 4, p. 607–608, 2012.

UNZUETA, A. et al. Hepatitis E virus serum antibodies and RNA prevalence in patients evaluated for heart and kidney transplantation. **Annals of Hepatology**, v. 15, n. 1, p. 33–40, 2016.

VAN DER POEL, W. H. M. Food and environmental routes of Hepatitis E virus transmission. **Current Opinion in Virology**, v. 4, p. 91–6, 2014.

VERHOEF, L. et al. Seroprevalence of hepatitis E antibodies and risk profile of HEV seropositivity in The Netherlands, 2006–2007. **Epidemiology and Infection**, v. 140, n. 10, p. 1838–1847, 2012.

- VITRAL, C. L. et al. Serological evidence of hepatitis E virus infection in different animal species from the Southeast of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 2, p. 117–122, 2005.
- VITRAL, C. et al. Hepatitis A and E seroprevalence and associated risk factors: a community-based cross-sectional survey in rural Amazonia. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, p. 458, 2014.
- VOLLMER, T. et al. Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 8, p. 2708–2713, 2012.
- WANG, Y. et al. Calcineurin inhibitors stimulate and mycophenolic acid inhibits replication of hepatitis E virus. **Gastroenterology**, v. 146, n. 7, p. 1775–1783, 2014.
- WEDEMEYER, H.; PISCHKE, S.; MANNS, M. P. Pathogenesis and treatment of hepatitis e virus infection. **Gastroenterology**, v. 142, n. 6, p. 1388–1397.e1, 2012.
- WENZEL, J. J. et al. Test performance characteristics of Anti-HEV IgG assays strongly influence hepatitis E seroprevalence estimates. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 207, n. 3, p. 497–500, 2013.
- WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly Epidemiological Record**, Hepatitis E vaccine: WHO position paper, May 2015, n.18, p.185-200, 2015.
- WICHMANN, O. et al. Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 198, n. 12, p. 1732–1741, 2008.
- WONG, D. et al. Epidemic and endemic hepatitis in India: Evidence for a non-a, non-B hepatitis virus etiology. **The Lancet**, v. 316, p. 876–879, 1980.
- WU, W. C. et al. Application of serologic assays for diagnosing acute hepatitis E in national surveillance of a nonendemic area. **Journal of Medical Virology**, v. 86, n. 4, p. 720–728, 2014.
- XING, L. et al. Spatial configuration of hepatitis E virus antigenic domain. **Journal of Virology**, v. 85, n. 2, p. 1117–1124, 2011.

YANG, R. R.; GUI, X.; CHEN, X. Y.; ZHU, Y. Interference of replication between hepatitis B and C viruses in patients infected with HIV. **Journal of Medical Virology**, v. 83, p. 1159–1164, 2011.

YOU, M. et al. Investigation of a special neutralizing epitope of HEV E2s. **Protein & cell**, v. 5, n. 12, p. 950–3, 2014.

YUGO, D. M.; MENG, X.-J. Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic transmission. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 10, n. 10, p. 4507–33, 2013.

ZAKI, M. et al. Clinico laboratory study of mother-to-neonate transmission of hepatitis E virus in Egypt. **American Journal of Clinical Pathology**, v.140, n. 5, p.721-726, 2013.

ZHANG, W. et al. Hepatitis E virus infection among domestic animals in eastern China. **Zoonoses and Public Health**, v. 55, n. 6, p. 291–8, 2008.

ZHANG, J. et al. Long-term efficacy of a hepatitis E vaccine. **The New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 10, p. 914–922, 2015.

ZHAO, C. et al. Evaluation of an antigen-capture EIA for the diagnosis of hepatitis E virus infection. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 22, n. 11, p. 957–963, 2015.

ZHU, F. C. et al. Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. **The Lancet**, v. 376, n. 9744, p. 895–902, 2010.

ZHUANG, H.; CAO, X. Y.; LIU, C. B.; WANG, G. M. Epidemiology of hepatitis E in China. **Gastroenterologia Japonica**, v. 26, n. 3 Supplement, p. 135–138, 1991.