

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

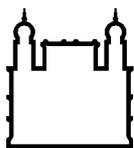
Mestrado em Medicina Tropical

**APLICABILIDADE CLÍNICA DE UM TESTE
IMUNOCROMATOGRÁFICO PARA O DIAGNÓSTICO
RÁPIDO DA HEPATITE A**

THELMA FLOSI GOLA

Rio de Janeiro

Março de 2015



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

THELMA FLOSI GOLA

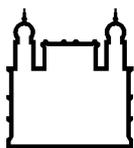
**APLICABILIDADE CLÍNICA DE UM TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO PARA O
DIAGNÓSTICO RÁPIDO DA HEPATITE A**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Doença Infecto Parasitária

Orientadores: Dr^a. Lia Laura Lewis Ximenez de Souza Rodrigues

Dr. Adilson José de Almeida

RIO DE JANEIRO
Março de 2015



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

THELMA FLOSI GOLA

**APLICABILIDADE CLÍNICA DE UM TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO PARA O
DIAGNÓSTICO RÁPIDO DA HEPATITE A**

Orientadores: Dra. Lia Laura Lewis Ximenez de Souza Rodrigues

Dr. Adilson José de Almeida

Aprovada em: ____/____/____

EXAMINADORES:

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

G617 Gola, Thelma Flosi

Aplicabilidade clínica de um teste imunocromatográfico para o diagnóstico rápido da Hepatite A / Thelma Flosi Gola. – Rio de Janeiro, 2015.

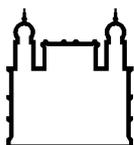
xiv,87 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2015.

Bibliografia: f. 71-83

1. Hepatitis A. 2. Rapid test. 3. Diagnoses. 4. Immunocromatography test. I. Título.

CDD 616.3623



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

APLICABILIDADE CLÍNICA DE UM TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO PARA O DIAGNÓSTICO RÁPIDO DA HEPATITE A

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

Thelma Flosi Gola

A hepatite A é a causa mais comum de hepatite viral no mundo. A sua transmissão é fecal-oral e está associada com saneamento precário, sendo comum a ocorrência de surtos intradomiciliares. O diagnóstico laboratorial é realizado principalmente por meio da detecção de anticorpos anti-HAV por métodos sorológicos. Apesar de existirem testes rápidos simples e de baixo custo para detecção destes anticorpos, os mesmos não fazem parte da rotina diagnóstica da hepatite A. Estes testes rápidos poderão ser utilizados em inquéritos epidemiológicos, na identificação de pacientes assintomáticos, como instrumento em interrupção de surtos para identificar casos que necessitem de vacinação e no auxílio ao diagnóstico diferencial de quadro icterico agudo. Neste estudo, foi avaliada a aplicabilidade clínica de um ensaio imunocromatográfico (teste rápido) para o diagnóstico da hepatite A em 238 pacientes com quadro agudo de hepatite e seus contactantes durante o acompanhamento no ambulatório de hepatites virais do IOC/FIOCRUZ. Este estudo foi realizado com dados secundários dos pacientes com diagnóstico confirmado de hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais do IOC/FIOCRUZ. As informações foram coletadas de prontuários médicos no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012. Os dados analisados são relacionados aos aspectos demográficos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. O teste rápido apresentou sensibilidade de 90,4% e especificidade de 96,8% para a detecção do anti-HAV IgM e sensibilidade de 79,2% e especificidade de 94,2% para a detecção do anti-HAV IgG. Após a análise dos resultados, concluímos que, no grupo estudado, a colúria foi a principal manifestação clínica observada, seguida de icterícia e hipocolia fecal; a acurácia do teste rápido mostrou que o método tem elevada sensibilidade e especificidade para detecção de anti-HAV IgM podendo ser utilizado com teste inicial de triagem e que o melhor período para a utilização do teste rápido como triagem de quadro suspeito de hepatite A é entre o 8^a e o 15^o dia após o início da icterícia.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

CLINICAL APLICABILITY OF AN IMMUNOCHROMATOGRAPHY TEST FOR THE RAPID DIAGNOSIS OF HEPATITIS A

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION IN TROPICAL MEDICINE

Thelma Flosi Gola

Hepatitis A virus infection is the most common cause of viral hepatitis in the world. It is transmitted mainly through the fecal-oral route and is therefore associated with poor sanitary conditions, where household outbreaks are frequently reported. The laboratory diagnosis is given, mainly by the detection of anti-HAV antibodies by serological methods. There are several rapid and low cost simple tests for antibody detection, however they are not regularly included in laboratory routines for hepatitis A diagnosis. These rapid tests can be used to assist epidemiological investigations by quickly identifying asymptomatic patients along with susceptible cases that need vaccination to interrupt outbreaks, and in the differential diagnosis of acute hepatitis. In this study we evaluated the clinical applicability of a rapid test (SD BIOLINE® HAV IgM -Standard Diagnostics, South Korea) for the diagnosis of hepatitis A among patients with acute HAV infection and their household contacts. For the purposes of this study, secondary data were obtained from medical records from patients registered at the Viral Hepatitis Ambulatory from the Oswaldo Cruz Institute/Fiocruz/Rio de Janeiro, Brazil, between January and December 2012, that had been screened by the anti-HAV IgM rapid test and additionally by a chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA), Architect® anti-HAV IgM /Abbott. A total of 485 samples were tested by both techniques of which 238 patients had confirmed HAV infection. The rapid test, when compared to the golden standard, CMIA, presented a sensitivity of 90,4% and specificity of 96,8% for the detection of anti-HAV IgM. Among the 238 subjects with acute HAV infection, the accuracy of the rapid test showed the highest sensitivity between the 8° and 15° day after the onset of jaundice for the detection of anti-HAV IgM. These findings suggest that initial screening by SD BIOLINE® HAV IgM during the first week of jaundice may require further testing due to lower sensitivity.

*“O correr da vida embrulha tudo.
A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta.
O que ela quer da gente é sempre coragem.”*

Guimarães Rosa

Dedico esse estudo à minha família:
meus pais, minha irmã e minha sobrinha, que sempre estiveram ao meu lado me
incentivando e me apoiando.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Dra. Lia Laura Lewis Ximenez de Souza Rodrigues, que desde o início das minhas atividades na Fiocruz me inspirou com a sua dedicação e competência e, especialmente, com a humanização na assistência aos pacientes. Obrigada pela paciência e incentivo na realização desse trabalho.

Ao meu orientador Dr. Adilson José de Almeida, que também foi meu professor durante a graduação e esteve ao meu lado em todos os momentos da elaboração desse estudo, me apoiando e contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional. Obrigada, de coração, pelos conhecimentos doados durante todo o processo.

Ao Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) e à Coordenação do Mestrado em Medicina Tropical, pelo apoio no desenvolvimento desse trabalho. Agradeço em especial à Dra. Elba Regina Sampaio Lemos, à Dra. Martha Cecilia Suárez-Mutis e ao Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa por acreditarem que é possível formar mestres na turma de médicos de DIP.

Ao Professor Márcio Neves Bóia, que desde o início da minha formação como infectologista me ensinou a importância de ser uma boa médica. Obrigada pela confiança e amizade.

Aos demais membros da banca Dra. Flávia Barreto dos Santos, Dr. Carlos Eduardo Brandão Mello, Dra. Luciane Almeida Amado Leon e Dra. Vanessa Salette de Paula pela contribuição científica.

A todos os amigos do Ambulatório de Hepatites Virais, onde eu considero ser uma família convivendo em um espaço de conhecimento e harmonia. Agradeço a todos que, de alguma forma, ajudaram na elaboração da minha dissertação, mesmo que com uma palavra de carinho.

Um agradecimento especial aos amigos e biólogos Paulo Souza e Islene Azevedo que me ensinaram a realização dos testes rápidos e à amiga Poliana Fernandes Correa que, além da amizade e do conforto nos momentos difíceis, me auxiliou na coleta dos dados.

Aos meus amigos de São Paulo e do Rio de Janeiro. Obrigada pela paciência e pelas boas risadas ao longo desse percurso.

Aos meus amigos infectologistas Andrea Maria de Assis Cabral e Jadir Rodrigues Fagundes Neto, que sempre estiveram ao meu lado na incansável busca pelo conhecimento.

Aos amigos da turma de mestrado de DIP, pela cumplicidade, amizade e pela troca de experiências.

Ao meu amigo Luã Cardoso, que auxiliou na formatação desse trabalho.

Aos meus tios Jorge Cardoso e Ivonete Cardoso, que mesmo distantes sempre estiveram ao meu lado, torcendo pelo meu crescimento profissional.

Ao meu tio Edson (*in memoriam*) e toda família Flosi por serem os meus grandes exemplos não só de conhecimento e cultura, como de generosidade. E em especial, minha prima Sandra Flosi pelo carinho e auxílio durante a elaboração do texto.

À minha irmã Carina Flosi Gola e minha sobrinha Luana Gola Alves, minhas loirinhas, que sempre estiveram ao meu lado nessa caminhada e torceram tanto pela conclusão dessa dissertação.

Ao meu pai Waldir Lucio Gola, que com a sua alegria e suas preces iluminou os momentos mais difíceis.

A minha mãe Maria de Lourdes Flosi Gola, que nunca poupou esforços para auxiliar na elaboração desse estudo. Sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando em todas as fases de minha vida pessoal e acadêmica.

A todos, o meu muito obrigada!

Lista de Figuras

Figura 1.2	Representação esquemática do genoma do HAV. Fonte: Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais, Ministério da Saúde, Brasil	2
Figura 1.2.1	Representação esquemática do genoma do vírus da hepatite A	4
Figura 1.3.1a	Representação da taxa de imunidade em crianças: quanto mais intensa a cor, maior a taxa de exposição ao HAV	8
Figura 1.3.1b	Representação da taxa de suscetibilidade em adultos: quanto mais escura a cor, maior a proporção de adultos em risco de adquirir hepatite A	9
Figura 1.3.1c	Incidência de hepatite A por grupo etário e ano e a evolução dos indicadores de vacinação nos Estados Unidos da América entre 1990 e 2006	10
Figura 1.3.2a	Distribuição percentual de casos confirmados de hepatite A por região brasileira em 2010	11
Figura 1.3.2b	Taxa de incidência de hepatite A (por 100.000 habitantes) segundo Unidades Federativas de residência, no Brasil, em 2010	12
Figura 1.3.2c	Distribuição percentual de casos confirmados de hepatite A na região Sudeste do Brasil, em 2010	13
Figura 1.6.2	Sumário dos eventos sorológicos, bioquímicos e virológicos na hepatite A não complicada	17
Figura 1.7	Representação esquemática da vacina contra a hepatite A utilizada no Brasil	20
Figura 4.3.1	Testes individuais para a detecção de anticorpos anti-HAV IgM e anti-AV IgG	27
Figura 4.3.2	Interpretação do resultado do teste rápido para hepatite A	27

Figura 5.2	Manifestações clínicas dos 216 pacientes sintomáticos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro/2012 a dezembro de 2012	54
Figura 5.3	Resultados das sensibilidades relativas dos testes rápidos para detecção de anti-HAV IgM e anti-HAV IgG nos primeiros 15 dias após o início da icterícia nos indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012	54
Figura 5.4.1	Representação esquemática da distribuição dos valores de DO/CO para a detecção do anti-HAV IgM relacionados ao surgimento da icterícia em amostras coletadas de pacientes atendidos no AHV entre janeiro de 2012 a dezembro de 2012	59
Figura 5.4.2	Representação esquemática da distribuição dos valores de DO/CO para a detecção do anti-HAV IgG relacionados ao surgimento da icterícia em amostras coletadas de pacientes atendidos no AHV entre janeiro de 2012 a dezembro de 2012	60

Lista de Quadros

Quadro 5.1	Representação esquemática dos atendimentos realizados no Ambulatório de Hepatites Virais entre janeiro de janeiro de 2012 a dezembro de 2012	51
------------	--	----

Lista de Tabelas

Tabela 5.1	Características demográficas e epidemiológicas de 238 indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais	51
------------	--	----

Tabela 5.2	Parâmetros laboratoriais inespecíficos disponíveis de indivíduos com hepatite A à primeira consulta no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012	55
Tabela 5.3	Resultados das sensibilidades dos testes rápidos para detecção de anti-HAV IgM em relação ao número de dias do início da icterícia nas amostras dos indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012	56
Tabela 5.4.1	Médias dos valores de DO/CO do IgM pelo métodos CMIA para as diferentes fases do curso clínico da hepatite A.	58
Tabela 5.4.2	Médias dos valores de DO/CO do IgG pelo métodos CMIA para as diferentes fases do curso clínico da hepatite A.	58
Tabela 5.5.1	Médias de valores de DO/CO para anticorpos anti-HAV IgM para as diferentes leituras de testes rápidos anti-HAV IgM realizados no Ambulatório de Hepatites Virais de janeiro de 2012 a dezembro de 2012	61
Tabela 5.5.2	Médias de valores de DO/CO para anticorpos anti-HAV IgG para as diferentes leituras de testes rápidos anti-HAV IgG realizados no Ambulatório de Hepatites Virais de janeiro de 2012 a dezembro de 2012	61
Tabela 5.6.1	Acurácia entre os resultados do teste rápido com um ensaio imunoenzimático (CMIA) para detecção de anticorpos anti-HAV IgM em amostras de soro coletadas nos diferentes períodos de acompanhamento de indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012	63

Tabela 5.6.2

Acurácia entre os resultados do teste rápido com um ensaio imunoenzimático (CMIA) para detecção de anticorpos anti-HAV IgM em amostras de soro coletadas nos diferentes períodos de acompanhamento de indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012

64

Lista de Siglas, Abreviaturas e Símbolos

% Porcentagem

°C – Graus Celsius

AHV – Ambulatório de Hepatites Virais

AIDS – *Acquired Immunodeficiency Syndrome*

AKT – Proteína quinase B

ALT – Alanina Aminotransferase

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AST – Aspartato Aminotransferase

CAAE – Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CD – *Cluster of Differentiation*

CDC – *Center for Disease Control and Prevention*

CRIE – Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais

DIGFA – *Dot Immunogold Filtration Assay*

DST – Doenças Sexualmente Transmissíveis

ELISA – *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

EUA – Estados Unidos da América

FDA – *Food and Drug Administration*

Fiocruz- Fundação Oswaldo Cruz

HAV – *Hepatitis A Virus*

HAVCR – *Hepatitis A Virus Cellular Receptor*

HBsAg – *Hepatitis B Virus surface Antigen*

HBV – *Hepatitis B Virus*

HCV – *Hepatitis C Virus*

HIV – *Human Immunodeficiency Virus*

IC – Intervalo de Confiança

IgG – Imunoglobulina G

IgM- Imunoglobulina M

IL – Interleucina

INF – Interferon

IOC – Instituto Oswaldo Cruz

Kb – Kilobase

L – Litro

LACEN – Laboratório Central de Saúde Pública do Rio de Janeiro Noel Nutels

LAHEP – Laboratório de Hepatites Virais
mg – miligrama
ml – mililitro
MS – Ministério da Saúde
NC – Não Codificante
nm – nanômetro
OMS – Organização Mundial da Saúde
PCR – *Polymerase Chain Reaction*
RJ – Rio de Janeiro
RNA – *Ribonucleic Acid*
S – Sedimental Rate
S/CO – Relação entre Sinal e Valor de Corte
SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SUS – Sistema Único de Saúde
TAP – Tempo e Atividade da Protrombina
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Tregs – Linfócitos T regulatórios
U – Unidade
URL – Unidade Relativa da Luz
VAg – *Viral Protein Genome Like*
VPn – *Viral Protein number*
 μ l – Microlitro
 χ^2 – Teste Qui-quadrado

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Histórico da hepatite A.....	17
1.2 Vírus da hepatite A.....	18
1.2.1 Genoma viral.....	19
1.2.2 Patogênese viral.....	21
1.2.3. Características físico-químicas das partículas do HAV.....	22
1.3 Epidemiologia.....	23
1.3.1 Aspectos epidemiológicos no mundo.....	23
1.3.2 Aspectos epidemiológicos da hepatite A no Brasil.....	26
1.4 Transmissão do HAV.....	29
1.5 Manifestações clínicas.....	30
1.6 Diagnóstico laboratorial.....	32
1.6.1 Diagnóstico laboratorial inespecífico.....	32
1.6.2 Métodos sorológicos.....	32
1.6.3 Técnicas moleculares.....	34
1.6.4 Ensaios imunocromatográficos.....	34
1.7 Medidas de prevenção e controle.....	35
2. JUSTIFICATIVA.....	39
3. OBJETIVOS.....	40
3.1. Objetivo Geral.....	40
3.2. Objetivos Específicos.....	40
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1. Desenho do estudo e seleção dos pacientes.....	41
4.2. Método de criação do banco de dados para armazenamento de informações:.....	41
4.3. Teste rápido.....	43
4.4. Teste sorológico.....	45
4.5. Considerações éticas.....	47
4.6. Análise estatística.....	48
5. RESULTADOS.....	49
5.1. Características demográficas e epidemiológicas da população do estudo.....	49
5.2. Avaliação das manifestações clínicas e das características laboratoriais inespecíficas dos pacientes com hepatite A.....	52
5.3 Avaliação da sensibilidade do teste rápido para a detecção do anti-HAV IgM em diferentes períodos da infecção pelo HAV.....	55
5.4 Avaliação dos valores de DO/CO para a detecção do anti-HAV IgM e do anti-HAV IgG em diferentes períodos da infecção pelo HAV pelo método CMIA.....	57
5.5 Comparação entre a intensidade da leitura da escala colorimétrica dos testes rápidos com os valores de DO/CO para anticorpos anti-HAV IgM e IgG pelo método CMIA.....	60
5.6 Avaliação da acurácia do teste rápido para a hepatite A para a detecção de anticorpos das classes IgM e IgG.....	62
5. DISCUSSÃO.....	64
6. CONCLUSÕES.....	70
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
8. ANEXO.....	84

1. INTRODUÇÃO

1.1 Histórico da hepatite A

A primeira referência da hepatite surgiu há mais de cinco milênios, com relatos da icterícia entre a população chinesa, já sugerindo a circulação de um agente causal desde essa época (Reuben 2002). Hipócrates descreveu casos com quadro clínico compatível com hepatite de etiologia, possivelmente infecciosa, quando relatou a presença de icterícia aproximadamente 400 anos antes de Cristo. Mas o termo 'hepatite' ainda levaria muito tempo para ser introduzido na literatura. Foi apenas em 1725 que Giovanni Battista Bianchi usou a descrição do termo em um trabalho científico publicado (Fonseca 2010).

Eventos históricos também foram responsáveis pela inserção do termo 'hepatite' aos registros de surtos da doença, possivelmente de etiologia viral, como na primeira Guerra da Sucessão Austríaca, em 1743, na invasão de Napoleão no Egito, em 1798, e na Guerra Franco-Prussiana, em 1870. Durante a Guerra da Secessão Americana, em 1861, um surto de grande proporção atingiu mais de 40 mil soldados dos exércitos da União (Fonseca 2010). Logo após a Segunda Guerra Mundial, pesquisas em voluntários humanos demonstraram a transmissão da doença de pessoa a pessoa (MacCallum & Bradley 1944).

Em 1973, os pesquisadores Stephen M. Feinstone, Albert Kapikian e Robert H. Purcell visualizaram, por imunomicroscopia eletrônica, partículas virais esféricas nas fezes de pacientes portadores de hepatite infecciosa, sugerindo ser o agente etiológico da hepatite A (Feinstone et al. 1973). Dois anos após essa descoberta, Gravelle e colaboradores descreveram com sucesso a infecção experimental em chimpanzés, quando inoculados via endovenosa com concentrados de fezes pertencentes a pacientes infectados pelo vírus da hepatite A (*Hepatitis A Virus - HAV*). Esse grupo observou, por microscopia eletrônica, partículas similares em tamanho e morfologia àquelas do inóculo nas fezes dos chimpanzés (Gravelle et al. 1975).

Ainda em 1975, Krugman e colaboradores pesquisaram, pela primeira vez, anticorpos contra o HAV em amostras de soro pertencentes a 20 pacientes com diagnóstico de hepatite A (Krugman et al. 1975).

O sequenciamento do genoma do HAV foi realizado apenas 10 anos após a descoberta deste agente viral (Ticehurst et al. 1983). O conhecimento do genoma viral foi o primeiro passo para o desenvolvimento da vacina inativada contra a hepatite A, o que possibilitou a obtenção de imunização ativa, segura e duradoura contra a doença (Santos & Lopes 1997).

1.2 Vírus da hepatite A

O HAV é um vírus essencialmente hepatotrópico e constitui a causa mais comum de doença hepática aguda (Vaughan et al. 2014). O agente etiológico da hepatite A é um vírus não envelopado, da família *Picornaviridae* (Melnick 1982), pertencente ao gênero hepatovírus (Minor et al. 1991) (Figura 1.2). É representante único do gênero hepatovirus (Hollinger & Emerson 2007).

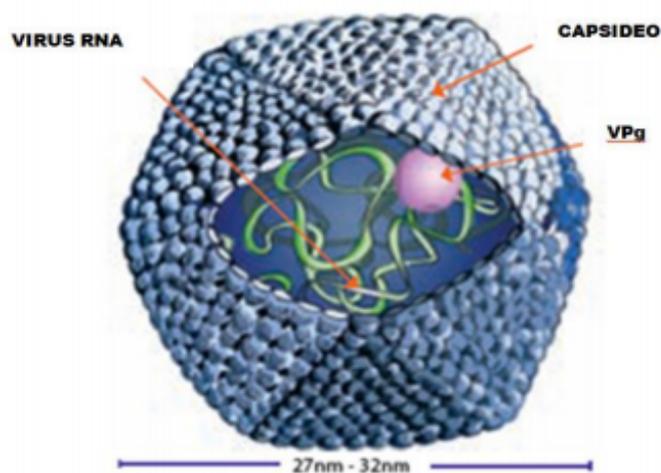


Figura 1.2: Representação esquemática da partícula do HAV (fonte: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em <http://www.aids.gov.br/pagina/hepatite-a>).

1.2.1 Genoma viral

O genoma do HAV é constituído de uma fita simples de RNA, de polaridade positiva, semelhante ao dos demais membros da família *Picornaviridae* (Minor 1991).

O RNA genômico está associado covalentemente à proteína VPg na extremidade 5' não-codificante, tendo esta proteína papel importante na iniciação da transcrição devido sua participação na formação do sítio interno de entrada do ribossoma. O RNA genômico e algumas proteínas não-estruturais associadas são envoltos por um capsídeo de simetria icosaédrica, tendo a partícula viral de 27 a 32 nm de diâmetro (Feinstone et al. 1973).

A cadeia de RNA tem cerca de 7,5 Kb e consiste de três regiões: uma região não-codificante na extremidade 5 (5'NC), de 732 a 740 nucleotídeos; uma região intermediária, codificante, com 2.225 a 2.227 nucleotídeos; e uma região não-codificante na extremidade 3 (3'NC) com 40 a 80 nucleotídeos. A Figura 1.2.1 mostra as diferentes regiões e proteínas codificadas a partir da fase de leitura aberta do genoma viral. A região 5'NC é a porção mais conservada do genoma, com cerca de 89% de identidade dos nucleotídeos entre as cepas de HAV e forma o sítio interno para entrada no ribossomo, o qual direciona a tradução (Cohen et al. 1987).

Uma única poliproteína, de aproximadamente 2.200 aminoácidos, é clivada por ação das proteases virais e gera três precursores P1, P2 e P3, os quais são novamente clivados dando origem às proteínas virais. As principais proteínas estruturais codificadas a partir do genoma do HAV são: VP1, VP2, VP3 e VP4, que formam o capsídeo viral. Essas proteínas são originadas da região P1 (Figura 1.2.1). As proteínas VP2 e VP4 têm função estrutural na montagem do vírion no citoplasma da célula. Já as proteínas VP1 e VP3 formam um complexo iniciador da síntese da fita positiva de RNA com coeficiente de sedimentação 5S. Cinco dessas estruturas se associam e formam um pentâmero de 14S, e 12 desses pentâmeros formam o capsídeo completo com 70S que, ao envolver o RNA genômico, formará a partícula viral de 140S (Hollinger & Emerson 2007).

As regiões P2 e P3 formam, respectivamente, as proteínas não-estruturais 2A, 2B, 2C e 3A, 3B, 3C, 3D. Essas proteínas atuam no processamento proteolítico da poliproteína e na replicação do RNA viral (Tesar et al. 1992).

A região 3'NC do genoma viral apresenta estruturas secundárias que são, provavelmente, responsáveis pela interação entre as proteínas virais e celulares específicas que parecem estar envolvidas na replicação viral (Nüesch et al. 1993).

Os epítomos importantes nas proteínas estruturais VP1 e VP3, que induzem a formação de anticorpos neutralizantes, são conformacionais e só aparecem após associação das proteínas nas partículas 14S e 70S ou no vírion completo (Tesar et al. 1992).

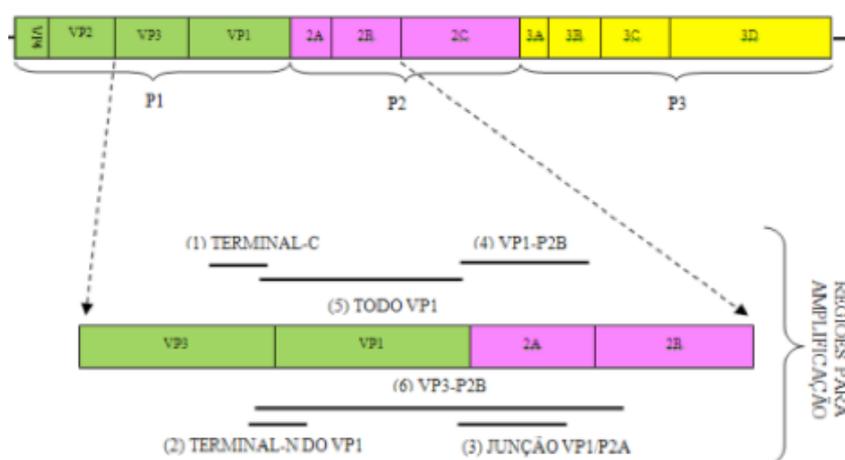


Figura 1.2.1: Representação esquemática do genoma do vírus da hepatite A (fonte: adaptado de Nainan et al. 2006).

Imagens da partícula viral obtidas por criomicroscopia eletrônica demonstraram características da sua superfície, como a ausência de uma depressão ao redor do eixo de simetria dos pentâmeros, a qual em outros picornavírus é necessária para que ocorra a ligação do vírus aos receptores celulares e conseqüente desnudamento do capsídeo viral. O genoma do HAV apresenta pequena diversidade genética. Algumas regiões genômicas são comumente usadas para a caracterização dos genótipos e subgenótipos do HAV.

Variações na sequência nucleotídica ocorridas na junção VP1/2A são usadas para esse fim. Todos os genótipos exibem um índice de similaridade de mais de 80% em seus nucleotídeos (Hollinger & Emerson 2007).

Sete genótipos, I a VII, foram identificados originalmente utilizando-se sequências genômicas de 152 isolados do HAV de diferentes partes do mundo. (Robertson et al. 1992). Nesse estudo, foram analisados 168 nucleotídeos da região VP1/2A, compreendendo os nucleotídeos das posições 3.024 a 3.919 da cepa HM-175. Após 10 anos, uma proposta de reclassificação foi realizada utilizando-se a sequência completa da região VP1 (900 nucleotídeos) para a construção de árvores filogenéticas ao invés do pequeno fragmento utilizado anteriormente, resultando em uma classificação com apenas seis genótipos, I a VI. A mudança se deu na reclassificação do genótipo VII como um subgrupo do genótipo II (Costa-Mattioli et al. 2003). Os genótipos mais frequentemente encontrados em infecções humanas são I a III (Fausto & Gonçalves 2003). Os genótipos I, II e III são classificados em subgenótipos A e B. Os genótipos IV, V e VI estão associados aos símios (Robertson et al. 1992). A transmissão cruzada entre primatas e humanos já foi demonstrada (Hillis 1961) e existe evidência da transmissão cruzada entre humanos e o macaco-da-noite (LeDuc et al. 1983).

O genótipo I é o mais prevalente no mundo, principalmente o subgenótipo IA. No Brasil, já foi relatada a circulação concomitante dos subgenótipos IA e IB (De Paula et al. 2002).

As diferentes cepas humanas de HAV coletadas até o momento em diferentes regiões do mundo apresentaram características antigênicas comuns que incluem um único sorotipo e reatividade similar aos anticorpos monoclonais contra o HAV. Essa similaridade favorece a eficácia da imunização em massa (Nainan et al. 2006).

1.2.2 Patogênese viral

Após a ingestão de alimentos contaminados com HAV, observa-se a sua replicação em células epiteliais da mucosa digestiva, conforme demonstrado em estudo com modelos animais (Purcell & Emerson 2001). O HAV atinge a corrente sanguínea e chega aos hepatócitos através dos sinusóides. Após a chegada ao

fígado, liga-se a um receptor, uma integrina de classe I, já identificada em células não hepáticas de primatas não-humanos (Kaplan et al. 1996).

O vírus se multiplica no citoplasma dos hepatócitos e é eliminado através da sua membrana apical, chegando aos canalículos biliares e, juntamente com a bile, ao intestino. Assim, é eliminado nas fezes, o que permite a continuidade do ciclo (Fausto & Gonçalves 2003). O pico de excreção viral nas fezes e, conseqüentemente, o aumento da transmissão, ocorre antes do início dos sintomas ou da elevação do nível sérico de transaminases, declinando após o aparecimento dos sintomas (Tassopoulos et al. 1996).

A patogênese da lesão hepática pelo HAV ocorre, principalmente, devido à produção de clones CD8+ com atividade citotóxica autóloga e liberação de interferon-gama (Fleischer et al. 1990). Outro mecanismo de virulência é a ligação do HAV com receptores HAVCR1 de linfócitos que bloqueiam a fosforilação de Akt, suprimindo a ativação de linfócitos T regulatórios (TREGS). A não supressão desses linfócitos reduz a magnitude da lesão hepática devido aos baixos níveis de fator transformador de crescimento-beta, altos níveis de IL-22 e ao baixo recrutamento de leucócitos (Manangeeswaran et al. 2012).

1.2.3. Características físico-químicas das partículas do HAV

A resistência do HAV no ambiente é relativamente alta. A sua termoestabilidade é maior que os demais representantes da família *Picornaviridae*. Apresenta estabilidade à temperatura de 25°C, podendo permanecer viável por meses (McCaustland et al. 1982).

O HAV é resistente aos desinfetantes de superfície mais comuns, como o éter e os detergentes não iônicos, porém perde a infectividade quando exposto ao formaldeído a 0,25% por 72 horas, ao cloro na concentração de 1 mg/ml por 30 minutos e à radiação ultravioleta. Outra forma de inativar o HAV é pelo aquecimento com tampão-fosfato a 70°C por 30 minutos, a 80°C por 5 segundos e imediatamente a 85°C (Catton 1998). Alguns estudos analisaram a inativação do HAV em alimentos. Em 2011, Laird e colaboradores revelaram que o HAV pode ser inativado

em cebolas contaminadas por desidratação produzida pelo calor utilizando a temperatura de 62,5°C por 20 horas (Laird *et al* 2011).

1.3 Epidemiologia

1.3.1 Aspectos epidemiológicos no mundo

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se a ocorrência de aproximadamente um milhão e quatrocentos mil casos novos por ano de hepatite A (WHO 2014). A distribuição da hepatite A é universal, sendo endêmica em muitas regiões. Contudo, a prevalência varia com o grau de saneamento disponível para as populações. Por essas razões, é uma infecção mais prevalente em países em desenvolvimento (Morais *et al.* 2006).

De acordo com o grau de endemicidade, a hepatite A é classificada em quatro padrões: alta endemicidade, endemicidade intermediária, baixa endemicidade e muito baixa endemicidade. Segundo a OMS, considera-se alta endemicidade a incidência de 150 casos por ano a cada 100.000 habitantes. Ocorre em países em desenvolvimento e a infecção é geralmente adquirida durante a primeira infância, sendo, na maioria das vezes, assintomática. A endemicidade intermediária também ocorre em países em desenvolvimento, porém com condições de saneamento variáveis. Nesses países, a infecção ocorre em grupos etários mais velhos. A baixa endemicidade ocorre em países desenvolvidos com saneamento adequado. É considerada muito baixa endemicidade quando a infecção ocorre em grupos específicos, como os viajantes (WHO 2007).

Em 2007, a OMS publicou uma metanálise apresentando os resultados de uma avaliação sistemática de soroprevalência de anti-HAV e as taxas de suscetibilidade em 21 regiões do mundo, classificando-as de acordo com a taxa de imunidade adquirida na infância e a taxa de suscetibilidade em adultos. A taxa de imunidade na infância baseou-se na proporção estimada de crianças com idade entre 10 a 14 anos que são imunes à doença: a) alta: >90%; b) média-alta: 75 a 89%; c) média: 60 a 74%; d) baixa-média: 40 a 59%; e e) baixa: <20%. A taxa de

suscetibilidade baseou-se na taxa estimada de adultos que estão em risco de adoecer: a) alta: >40%; b) média: 20 a 39%; c) baixa-média: 10 a 19%; d) baixa: 1 a 9%; e e) muito baixa: 0%. A taxa de suscetibilidade alta indica risco elevado de epidemia de hepatite A.

Dessa forma, as regiões central e oriental da Europa são consideradas áreas de prevalência baixa-média de hepatite A, e o risco de epidemias nessas regiões foi considerado médio. Os países da Europa ocidental foram considerados de baixa prevalência para hepatite A e de alto risco de epidemias (Jacobsen 2009) (Figuras 1.3.1a e 1.3.1b).

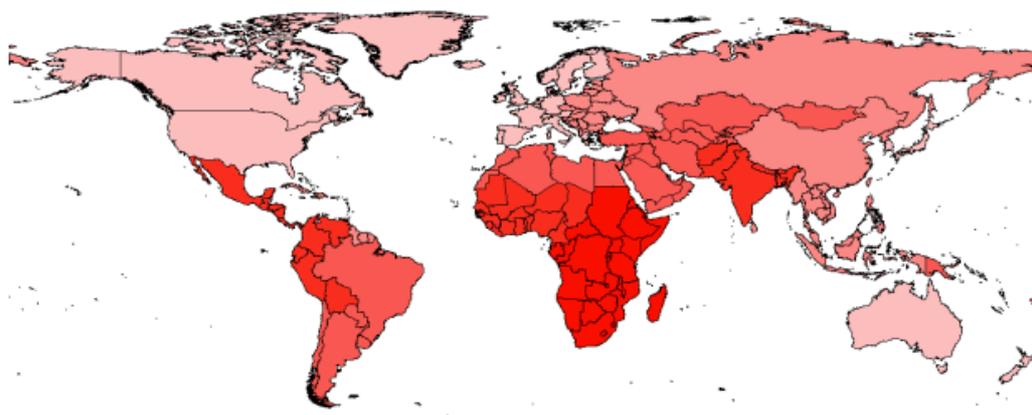


Figura 1.3.1a: Representação da taxa de imunidade em crianças: quanto mais intensa a cor, maior a taxa de exposição ao HAV (fonte: Jacobsen 2009).

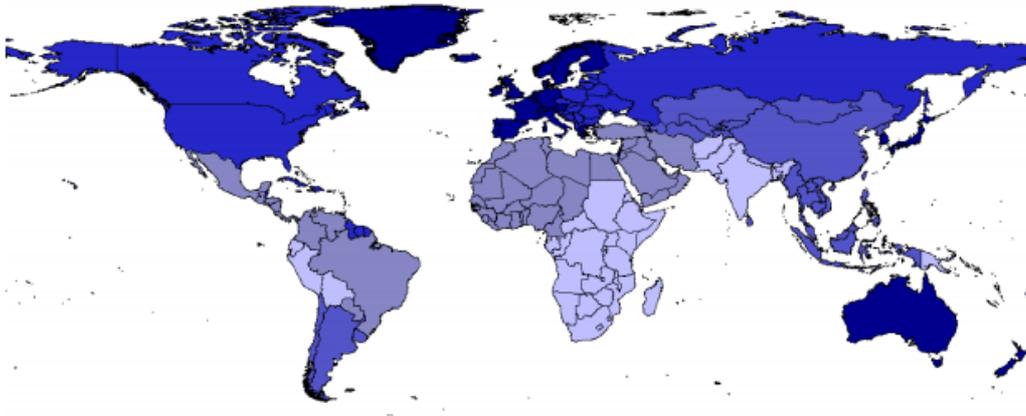


Figura 1.3.1b: Representação da taxa de suscetibilidade em adultos: quanto mais escura a cor, maior a proporção de adultos em risco de adquirir hepatite A (fonte: Jacobsen 2009).

Nos EUA, de acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (*Centers for Disease Control and Prevention* ou CDC), o número de casos de hepatite A vem diminuindo significativamente nas últimas décadas, conforme demonstrado na figura 1.3.1c. Esse decréscimo foi atribuído, sobretudo, à introdução da vacinação, licenciada pela Agência Reguladora de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (*Food and Drug Administration* ou FDA) em 1996, que inicialmente visou apenas um grupo de indivíduos. Esse grupo incluiu viajantes que estiveram em área de alta endemicidade para hepatite A, homens que fazem sexo com homens, usuários de drogas injetáveis, profissionais que trabalham com primatas não-humanos, pacientes com hepatopatia crônica, pacientes com coagulopatias, profissionais manipuladores de alimentos, crianças institucionalizadas em creches e escolas, profissionais de saúde e da rede sanitária de esgoto (ACIP 1996). Após o início da imunização universal, em 2006, contemplando as crianças entre 12 e 23 meses de idade, houve redução de 92% na incidência de hepatite A (CDC 2012).

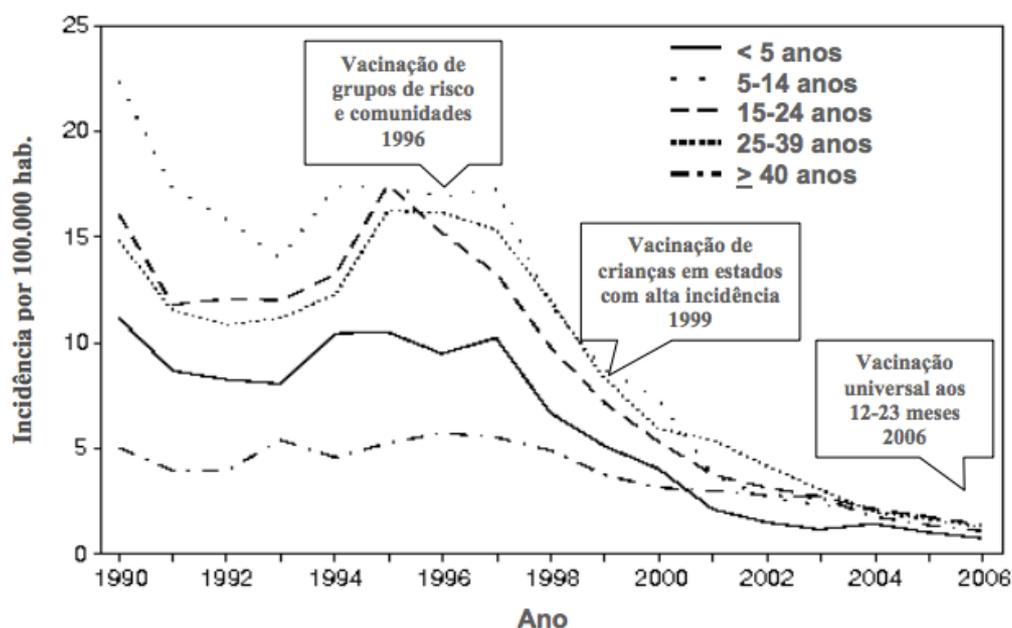


Figura 1.3.1c: Incidência de hepatite A por grupo etário e ano e a evolução dos indicadores de vacinação nos Estados Unidos da América entre 1990 e 2006 (fonte: adaptado de CDC 2006).

1.3.2 Aspectos epidemiológicos da hepatite A no Brasil

O Brasil foi considerado como uma área de média prevalência para hepatite A, segundo dados da OMS, e o risco de epidemia foi considerado baixo (Jacobsen 2009).

Em 1996, a hepatite A foi incluída na lista de doenças de notificação compulsória pelo Ministério da Saúde (MS) e, desde então, essa doença começou a fazer parte das ações de vigilância epidemiológica no País.

Segundo o último estudo de prevalência de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C, realizado entre 2004 e 2009, em todas as 26 capitais do País e no Distrito Federal, foi observada endemicidade de baixa a intermediária para a hepatite A. O resultado da taxa global de soroprevalência, na faixa etária entre 5 e 19 anos e referente ao conjunto das capitais do Brasil, foi de 39,5% (IC 95% 36,5%-42,5%), correspondendo a uma endemicidade intermediária para esse agravo (MS 2012). Em 2010, foram notificados 6.884 casos de hepatite A

no Brasil. A maioria ocorreu na Região Nordeste (33,4%) e na Região Norte (27,3%) (MS, 2012) (Figura 1.3.2a).

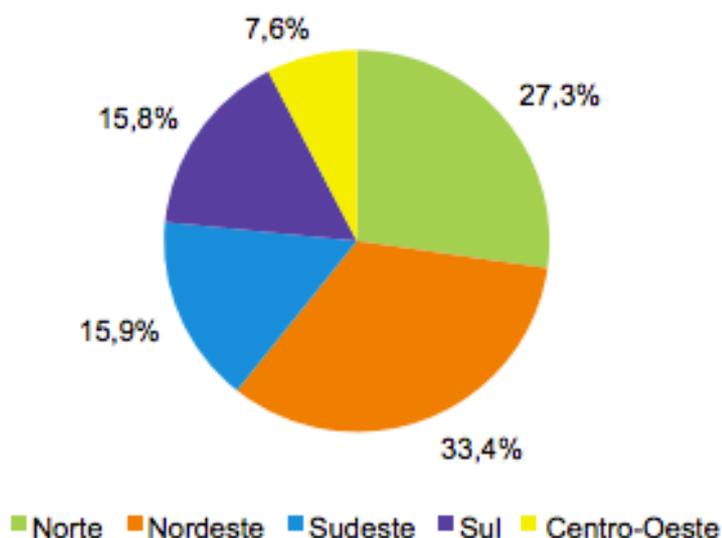


Figura 1.3.2a: Distribuição percentual de casos confirmados de hepatite A por região brasileira em 2010 (fonte: Ministério da Saúde 2012).

Após três anos do início da notificação compulsória, a taxa de incidência de hepatite A por 100 mil habitantes registrada foi de 0,5 no Brasil. A partir de 1999, foi observado um incremento na notificação de casos até se atingir um pico de incidência (11,7) em 2005. A partir de 2006, a taxa de incidência por 100 mil habitantes diminuiu, chegando a 3,6 em 2010. Isso ocorreu após a revisão da definição de caso, sendo considerado como caso confirmado de hepatite A todo indivíduo que preenchesse as condições de caso suspeito e que apresentasse anti-HAV IgM reagente, ou que preenchesse as condições de caso suspeito e vínculo epidemiológico com caso confirmado de hepatite A (MS 2012).

Com relação à taxa de incidência por 100 mil habitantes nas Unidades Federativas do País, o estado do Amapá apresentou a maior taxa em 2010 (37,8), seguido de Roraima (24,2) e Amazonas (20,1), enquanto o Espírito Santo (0,4) e São Paulo (0,6) apresentaram as menores taxas nesse ano (Figura 1.3.2b) (MS 2012).

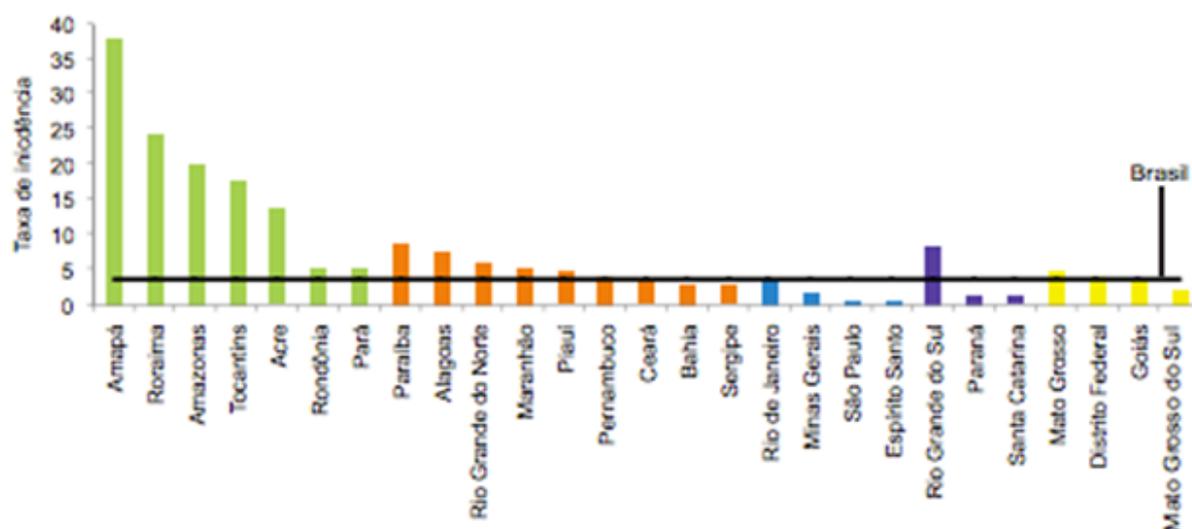


Figura 1.3.2b: Taxa de incidência de hepatite A (por 100.000 habitantes) segundo Unidades Federativas de residência, no Brasil, em 2010 (fonte: Ministério da Saúde 2012).

Na Região Sudeste, de 1999 a 2011, foi notificado no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) do MS um total de 22.300 casos de hepatite A, correspondendo a 16,1% do total de casos registrados no Brasil, a maioria dos quais nos estados de Minas Gerais (45,9%) e Rio de Janeiro (29,5%). Em 2010, 1.093 casos de hepatite A foram notificados na Região Sudeste, 15,9% do total no Brasil para esse ano, a maioria dos quais também nos estados do Rio de Janeiro (46,3%) e Minas Gerais (31,1%) (Figura 1.3.2c) (MS 2012).

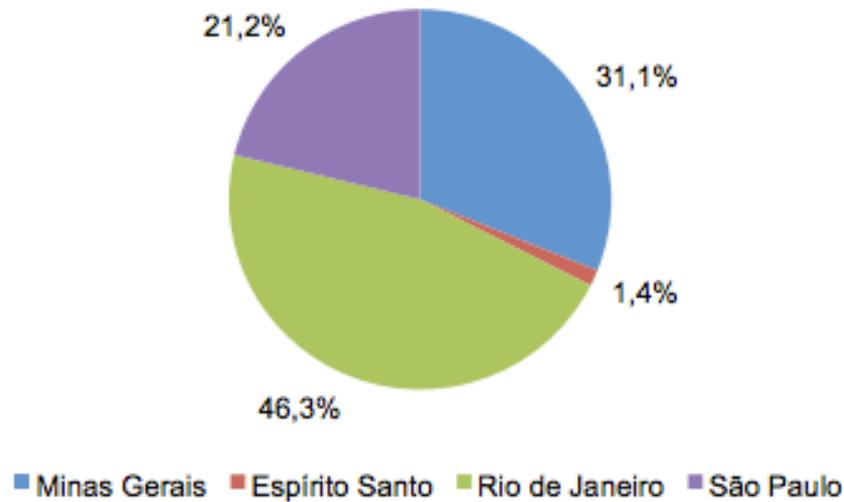


Figura 1.3.2c: Distribuição percentual de casos confirmados de hepatite A na região Sudeste do Brasil, em 2010 (fonte: Ministério da Saúde 2012).

1.4 Transmissão do HAV

A forma mais comum de transmissão do HAV é a fecal-oral (Matheny & Kingey 2012), por meio da ingestão de alimentos ou água contaminados pelo HAV. A transmissão interpessoal foi descrita pela primeira vez em voluntários na Alemanha, na década de 1940 (Voegt 1942).

O período de transmissão inicia-se duas a três semanas antes do início dos sintomas e estende-se até 8 dias após o aparecimento da icterícia. Investigações de epidemias de hepatite A demonstraram que o período de máxima infectividade é aproximadamente uma semana antes do aparecimento da icterícia ou da elevação das transaminases séricas, quando a concentração do vírus nas fezes é mais alta. Durante a fase de convalescência, não se detecta o HAV nas fezes (Catton & Locarnini 1998).

A hepatite A pode ocorrer em formas esporádica, endêmica ou epidêmica. A infecção pode ser precoce, ocorrendo após os oito meses de idade, quando os anticorpos maternos começam a desaparecer. Nas formas esporádicas a idade é

muito variável, ocorrendo em crianças e adultos. Já nas formas endêmica e epidêmica, o acometimento é maior em pacientes pediátricos (Fausto & Gonçalves 2003).

Em todas as formas, a infecção pelo HAV pode ser assintomática, sintomática anictérica ou sintomática ictérica (Braga et al. 2008).

A frequência dos casos assintomáticos e anictéricos não é bem conhecida. Uma análise de surtos epidêmicos de hepatite A, realizada na França, mostrou 14% de casos assintomáticos e 30% de casos anictéricos (Routemberg et al. 1979).

Casos esporádicos surgem em viajantes para áreas endêmicas que não tiveram proteção vacinal (Cuthbert 2001). Outra população mais suscetível são homens que fazem sexo com homens e adotam práticas de contato oral-anal, residentes em áreas com endemicidade intermediária (Ballesteros et al. 1996).

1.5 Manifestações clínicas

As formas clínicas da hepatite A podem variar de infecção sem manifestações clínicas até a forma fulminante (Mauss et al. 2014). Geralmente, a sua evolução é benigna e autolimitada. Dos casos agudos, 15 a 20% podem apresentar-se com evolução reincidente ou arrastada até por 6 meses, mas geralmente evoluem para a cura sem deixar sequelas (Coura 2013).

O curso da hepatite A apresenta quatro fases: período de incubação, fase prodrômica, fase ictérica e de convalescência (Mauss et al. 2014).

O período de incubação pode variar de duas a sete semanas, com média de 30 dias. Na fase prodrômica, os sinais e sintomas que antecedem a icterícia são, em geral, prostração, febre, anorexia, emagrecimento, náusea, vômito e dor abdominal. Esses pródromos podem durar de 2 a 15 dias (Krugman & Giles 1970).

A fase ictérica tem duração e intensidade muito variáveis e, geralmente, é precedida por colúria (urina escura devido ao aumento da excreção de bilirrubina direta) e hipocolia fecal (fezes esbranquiçadas devido à diminuição de pigmentos biliares). Nessa fase, ocorre melhora das queixas descritas na fase prodrômica. Em adultos, a icterícia, além de ser mais frequente, tem duração habitualmente maior

(Fausto & Gonçalves 2003). Os níveis séricos de bilirrubinas são variáveis, valores médios de 6,7 mg/dl foram relatados em uma série de casos de pacientes ictericos de Nova Iorque, EUA (Hoagland & Shank 1946). Nessa fase, também podem surgir hepatomegalia, esplenomegalia e linfonomegalia (Fausto & Gonçalves 2003).

Na fase de convalescença, os sintomas clínicos vão gradativamente desaparecendo e há discretas alterações das transaminases séricas (alanina transaminase – ALT e aspartato transaminase – AST) (Dufour et al. 2000).

Embora não exista a forma crônica, a hepatite A pode causar graves complicações (Coura 2013). A hepatite colestática pode surgir sendo uma manifestação atípica da hepatite A. Nesta forma, ocorre hipocolia fecal por um período prolongado, diarreia, emagrecimento e presença de prurido com icterícia progressiva e intensa, o que pode persistir por vários meses (Schiff 1992).

Também já foram descritos na literatura acometimentos atípicos na hepatite A como meningoencefalite (Bromberg et al. 1982), crioglobulinemia (Inman et al. 1986), complicações hematológicas (Gundersen et al. 1989) e cardiovasculares (Gordon et al. 1989), urticária (Dollberg et al. 1991), síndrome de Guillain-Barré (Chio & Bakir 1992), insuficiência renal (Chio & Bakir 1992) e síndrome de Reye (Duerksen et al. 1997).

A manifestação mais grave da hepatite A é a forma fulminante, associada à insuficiência hepática aguda. Vale destacar que é uma condição rara e o principal fator de risco é a pré-existência de doença hepática crônica (Keefe et al. 1995). Ela manifesta-se dentro das primeiras oito semanas pelo aparecimento de encefalopatia caracterizada pelo comprometimento da função cerebral em decorrência do aumento de substâncias tóxicas no sangue (que o fígado metabolizaria em condições normais), levando à morte de 70 a 90% dos pacientes. Outra característica da forma fulminante e letal da hepatite A é a idade avançada (O'Grade 1992).

1.6 Diagnóstico laboratorial

1.6.1 Diagnóstico laboratorial inespecífico

O diagnóstico da hepatite A é baseado em critérios epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. As manifestações clínicas não permitem a sua diferenciação de outras formas de hepatites virais. A investigação laboratorial inicial deve incluir dosagem sérica de transaminases, albumina, bilirrubinas e tempo e atividade da protrombina (TAP) (Dufour et al. 2000).

A elevação das transaminases séricas é o principal achado laboratorial inespecífico. Esse aumento pode ocorrer já na fase prodrômica, alcançando o pico quando os sintomas são mais exuberantes. Geralmente, os níveis séricos de transaminases se normalizam antes da negatificação dos anticorpos anti-HAV da classe IgM (Kao et al. 1984).

1.6.2 Métodos sorológicos

O diagnóstico etiológico é realizado pela pesquisa dos anticorpos anti-HAV da classe IgM (Bradley et al. 1977). Geralmente, são utilizados ensaios imunoenzimáticos competitivos (Labrecque et al. 1998). Embora existam seis genótipos de HAV, esses constituem apenas um sorotipo, não interferindo no diagnóstico sorológico. Os anticorpos podem ser detectados por uma variedade de técnicas sorológicas. Rotineiramente, os métodos empregados para a detecção dos anticorpos eram radioimunoensaio e ensaio imunoenzimático (Enzyme-linked immunosorbent assay ou ELISA) (Gust 1994). Mais recentemente, foram introduzidas novas técnicas diagnósticas, como a quimioluminescência e o imunoensaio de fluxo lateral (Heiat et al. 2014).

Anticorpos anti-HAV IgM podem ser detectados antes dos primeiros sintomas da doença e seus títulos declinam em cerca de dois a seis meses (Figura 1.6.2), tornando-se, após esse período, indetectáveis pela maioria dos testes de

diagnóstico comercialmente disponíveis. Portanto, sua detecção é um indicativo de infecção recente pelo HAV (Koff 1998).

A figura 1.6.2 demonstra o curso clínico de hepatite A, com elevação dos níveis da ALT coincidindo com o início da doença clínica. Anticorpos da classe IgM podem ser detectados no soro no início da fase aguda da doença e antes da elevação dos níveis dos anticorpos da classe IgG e seu declínio é gradual na fase de convalescência, que pode durar até três meses (Stapleton 1995).

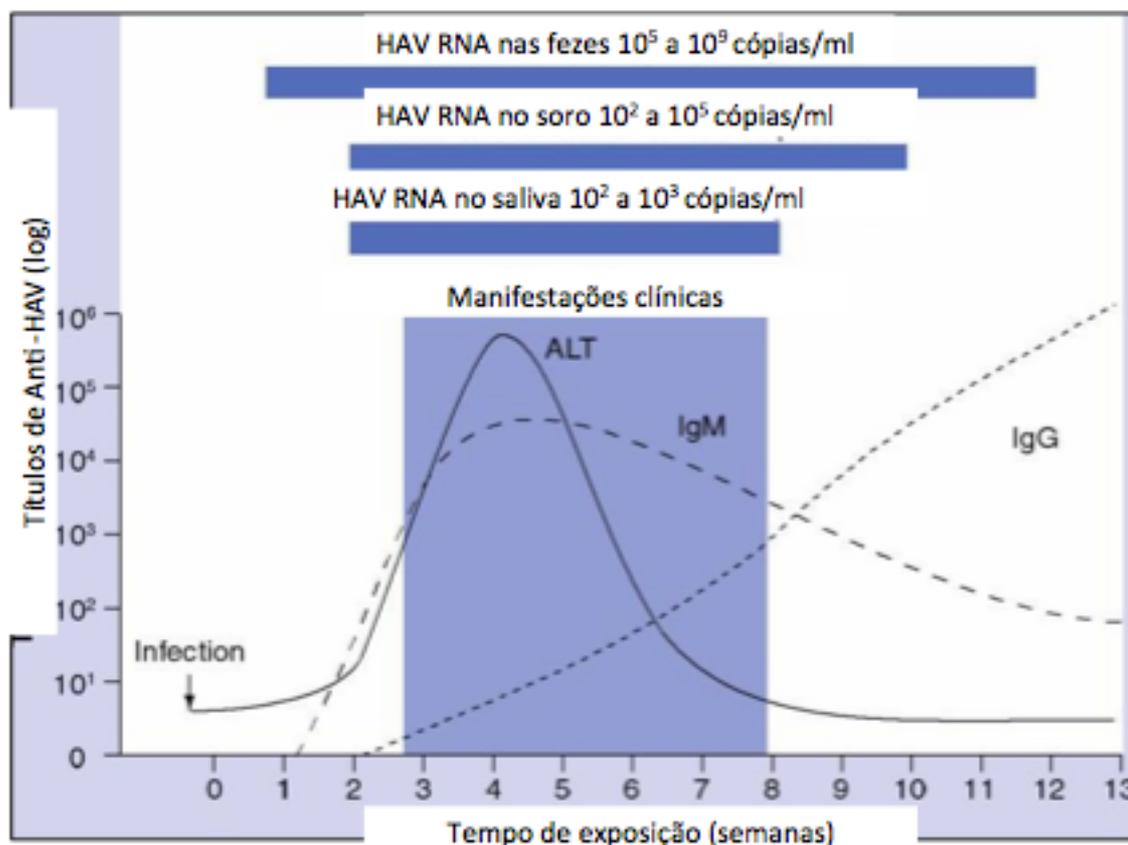


Figura 1.6.2: Sumário dos eventos sorológicos, bioquímicos e virológicos na hepatite A não complicada (fonte: de Paula, 2012).

Os anticorpos anti-HAV da classe IgG podem ser detectados logo após a detecção dos anticorpos anti-HAV da classe IgM. Seus títulos se elevam gradualmente, alcançando altos níveis durante a fase de convalescência (Stapleton 1995), e permanecem por toda a vida, conferindo imunidade contra reinfecção.

A detecção de anticorpos anti-HAV totais é utilizada em estudos epidemiológicos para avaliar a prevalência de infecção prévia ou para determinar imunidade à doença (CDC 2006).

1.6.3 Técnicas moleculares

Outra forma de diagnóstico é a detecção do RNA viral por meio de reação em cadeia da polimerase (*Reverse transcription-polymerase chain reaction* ou RT-PCR) no sangue ou nas fezes. O RNA do HAV é detectado por períodos curtos nas secreções biológicas após a data de exposição e, na maioria das vezes, nos períodos que antecedem o aparecimento dos sintomas. Com a disponibilidade de testes sorológicos sensíveis em amostras de soro, tornou-se dispensável a implementação da técnica de PCR na rotina laboratorial. Entretanto, esse método se justifica no esclarecimento de casos suspeitos com sorologia negativa e detecção precoce da doença.

Outra ferramenta importante é a técnica de sequenciamento de ácidos nucleicos realizada a partir de produtos de PCR para a confirmação e caracterização do vírus. Essa forma de diagnóstico também permite a demonstração da heterogenicidade genômica do HAV (De Paula et al. 2004).

A técnica de PCR em tempo real tem sido empregada para detecção e quantificação do HAV. Apresenta elevada sensibilidade, rapidez e minimização de contaminações (Bustin & Mueller 2005). Dentre os sistemas de PCR em tempo real mais utilizados estão o sistema TaqMan e o sistema SYBR green (Houde et al. 2007).

1.6.4 Ensaio imunocromatográficos

No Brasil, a utilização de imunoensaio de fluxo lateral, denominado de teste rápido, ainda se limita, em relação ao diagnóstico de hepatite viral, à triagem das hepatites B e C e é recomendada pelo Ministério da Saúde. Esse método ainda não faz parte da rotina diagnóstica da hepatite A. A disponibilização desses testes

rápidos será altamente relevante para expandir o diagnóstico da hepatite A na população brasileira, principalmente nas áreas carentes de recursos tecnológicos.

Esses testes, cujos resultados podem ser obtidos em um intervalo curto de tempo – cerca de 30 minutos –, são simples, de fácil interpretação e dependem baixo custo operacional e financeiro. Outros importantes diferenciais: podem ser realizados em ambientes externos aos laboratórios de virologia e não necessitam de qualificação profissional (Blyth et al. 2011).

Há, ainda, outras características dos testes rápidos para a detecção de anticorpos anti-HAV: podem ser utilizados como triagem, inquérito epidemiológico e auxílio no diagnóstico diferencial de pacientes com quadro icterico agudo. Os testes também podem ser utilizados para seleção de pacientes com anti-HAV IgG negativo candidatos à vacina contra a hepatite A, que é altamente imunogênica e fornece proteção a longo prazo para a doença (Nalbantoglu et al. 2013). Os resultados são simples de serem interpretados, não necessitam de equipamentos de leitura e ficam prontos, no máximo, em meia hora. O método consiste em um ensaio imunocromatográfico qualitativo para a detecção de anticorpos anti-HAV IgM e IgG em plasma ou soro de humanos expressos através de linhas coloridas de fácil interpretação (Lee et al 2010).

1.7 Medidas de prevenção e controle

A transmissão clássica da hepatite A por água e alimentos contaminados vai diminuindo na medida em que as condições de higiene pessoal e saneamento básico vão melhorando, como tem sido observado nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (Fausto & Gonçalves 2003).

Portanto, o melhor meio para a prevenção da hepatite A é a implementação de medidas que visam a melhoria nessas condições. É de grande importância a vigilância da qualidade da água com monitoramento do sistema de abastecimento público feito pelos órgãos competentes, devendo manter o cloro residual entre 0,2 e 0,5 mg/l. Nos locais sem água tratada, essa deve ser fervida por pelo menos um minuto ou ser tratada com adição de hipoclorito de sódio a 2,5%, uma a duas gotas por litro. É necessário proceder à limpeza das caixas d'água e higienizar utensílios e

filtros caseiros. Os alimentos devem ser bem cozidos, especialmente, mariscos e frutos do mar, e o leite deve ser fervido por pelo menos dois minutos. As verduras e frutas necessitam ser bem lavadas e mergulhadas durante 30 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (CVE 2006).

O HAV permanece viável por quatro semanas na superfície dos objetos, devendo-se dar ênfase ao hábito de lavar as mãos após contato com lixo, uso do banheiro, após manipular e trocar fraldas de crianças, antes da preparação de alimentos, antes de se alimentar, ou de alimentar crianças, após contato manual com frutas e verduras não lavadas ou carnes e outros alimentos crus (Ministério da Saúde 2005).

A maior concentração dos vírus nas fezes ocorre na fase mais tardia do período de incubação e no período inicial da fase prodrômica, devendo ser considerada a restrição de atividades estudantis e laborais. A detecção precoce da hepatite A também é importante na transmissão, já que permite a promoção de medidas para evitar a transmissão do vírus para contactantes expostos (Raabe et al. 2013).

A imunização contra a hepatite A é altamente eficaz e já é utilizada para prevenção da doença desde 1991. No Brasil, somente em 2014 a vacina foi incorporada na rotina do Programa Nacional de Imunização do Sistema Único de Saúde, de acordo com a Portaria N° 2, de 18 de janeiro de 2013. E, há dois anos, um trabalho analisou o custo e a eficácia da vacinação universal no Brasil com resultados relevantes sobre o impacto na epidemiologia da doença em todas as regiões. O trabalho mostrou redução de 64% no número de casos de hepatite icterícia, queda de 59% no número de mortes e diminuição de 62% de anos de vida perdidos (Sartori et al. 2012).

A vacina *Merck Sharp & Dohme*, utilizada no Brasil (Figura 1.7), é indicada para crianças de 12 meses a 2 anos de idade na dose de 0,5 ml por via intramuscular (Ministério da Saúde 2013).

LABORATÓRIO PRODUTOR	APRESENTAÇÃO	COMPOSIÇÃO	IMUNOBIOLÓGICO/ ILUSTRAÇÃO
MERCK SHARP & DOHME	VAQTA - Frasco-ampola (Merck Sharp & Dohme) Suspensão injetável - frasco ampola - monodose de 0,5 mL /cada dose	Cada dose de 0,5 mL contém aproximadamente 25 U do antígeno do vírus da hepatite A, 0,225 mg de alumínio na forma de sulfato de hidroxifosfato de alumínio amorfo e 35 mcg de borato de sódio como estabilizador de pH, em cloreto de sódio a 0,9%.	

Figura 1.7: Representação esquemática da vacina contra a hepatite A utilizada no Brasil (fonte: Ministério da Saúde 2013).

Para os adultos que não receberam a imunização ou não tiveram contato com o HAV, os Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIEs) disponibilizam a vacina em algumas situações especiais recomendadas pelo Ministério da Saúde (Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais 2006). Essas situações incluem:

- a) pacientes com hepatopatias crônicas de qualquer etiologia, inclusive portadores do vírus da hepatite B e do vírus da hepatite C;
- b) coagulopatias;
- c) crianças menores de 13 anos com o vírus da imunodeficiência humana ou HIV e/ou Síndrome da Imunodeficiência Humana ou AIDS;
- d) adultos com HIV/AIDS que sejam portadores do HBV ou HCV;
- e) doenças de depósito;
- f) fibrose cística;
- g) trissomias (síndrome de Down, síndrome de Edwards, síndrome de Patau);
- h) imunodepressão terapêutica ou por doença imunodepressora;
- i) candidatos a transplante de órgão sólido cadastrados em programas de transplantes, transplantados de órgão sólido ou de medula óssea; e

- j) doadores de órgão sólido ou de medula óssea cadastrados em programas de transplantes.

As vacinas contra hepatite A atualmente em uso e licenciadas no Brasil são preparadas a partir de culturas celulares (fibroblastos humanos) e inativadas pela formalina. O conteúdo de antígenos de cada vacina é expresso em unidades ELISA (E.L.U.) ou unidades (U), de acordo com o laboratório fabricante. O adjuvante é o hidróxido de alumínio e a vacina não contém antibióticos (Centro de Referências para Imunobiológicos Especiais 2006).

2. JUSTIFICATIVA

A necessidade da aplicação rotineira de testes rápidos, simples e de baixo custo operacional e financeiro na rotina diagnóstica da hepatite A despertou o interesse para a realização desse estudo. O Ambulatório de Hepatites Virais (AHV) foi o cenário que forneceu estrutura física e pessoal para consolidar essa pesquisa.

No AHV, foi identificado um elevado número de casos agudos de hepatite viral, o que levou a criar o Programa de Diagnóstico Precoce de Hepatites Agudas do Rio de Janeiro, em 2002, em parceria com o Laboratório Central de Saúde Pública Noel Nutels, da Secretaria Estadual de Saúde/RJ.

Nele, a partir de 2011, foram incluídos os testes rápidos para hepatites virais A, B e C no intuito de acelerar o diagnóstico precoce das hepatites agudas virais e, conseqüentemente, tornar mais rápidas as ações preventivas e terapêuticas quando aplicáveis. Por meio dessas ações, o ambulatório foi reconhecido como unidade de referência para os casos agudos de hepatite viral no Município do Rio de Janeiro. De 1997 até 2011 foram registrados no AHV mais de 18 mil atendimentos para hepatite, dos quais 2.105 foram casos suspeitos de hepatites virais agudas e, destes últimos, aproximadamente 1.050 foram confirmados laboratorialmente como hepatite A.

Os testes rápidos para detecção de anti-HAV poderão ser utilizados em inquéritos epidemiológicos que visam estimar as taxas de incidência e prevalência em áreas a serem estudadas. O método poderá identificar mudanças no perfil epidemiológico da doença e permitir a caracterização de pacientes assintomáticos em possíveis áreas endêmicas ainda negligenciadas. O teste rápido também poderá auxiliar no acompanhamento de surtos, identificando contactantes que ainda não foram expostos ao HAV. Essa identificação torna-se importante na avaliação da necessidade de vacinação de bloqueio em pequenos surtos intradomiciliares ou grandes áreas endêmicas.

O reconhecimento da aplicabilidade do teste rápido poderá auxiliar ao clínico no diagnóstico diferencial durante o atendimento de pacientes que se apresentam com quadro icterico agudo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a aplicabilidade de um ensaio imunocromatográfico (teste rápido) para o diagnóstico da hepatite A em uma coorte de pacientes com quadro agudo de hepatite e seus contactantes durante o acompanhamento no Ambulatório de Hepatites Virais do IOC/Fiocruz.

3.2. Objetivos Específicos

- i. Descrever as principais manifestações clínicas durante o acompanhamento dos pacientes com hepatite A.

- ii. Avaliar a acurácia do teste rápido para detecção de anticorpos anti-HAV IgM e anti-HAV IgG em relação ao padrão-ouro (CMIA).

- iii. Comparar os resultados do teste rápido e de um imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (*Chemoluminescent Microparticle Immunoassay* ou CMIA) para a detecção de anticorpos anti-HAV IgM e IgG durante o acompanhamento dos pacientes com hepatite A.

- iv. Avaliar a sensibilidade do teste rápido para a detecção do anti-HAV IgM em diferentes períodos da infecção pelo HAV.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Desenho do estudo e seleção dos pacientes

Este estudo é retrospectivo, baseado no acesso a dados secundários sendo desenvolvido no Ambulatório de Hepatites Virais (AHV) do LAHEP, do IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

Os pacientes selecionados para o estudo foram atendidos no ambulatório durante o período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012.

Os critérios de inclusão foram: ter idade igual ou superior a 2 anos, ser de qualquer sexo, raça ou etnia, ter sorologia reativa para anti-HAV IgM através do método de quimioluminescência.

Foram excluídos desse estudo pacientes com dados omissos no prontuário médico em relação à testagem sorológica para hepatite A.

4.2. Método de criação do banco de dados para armazenamento de informações:

A criação de banco de dados para acesso secundário foi realizada no Microsoft Access 2007 (Microsoft Corporation, EUA). As variáveis categóricas foram codificadas por meio de números e, juntamente com as variáveis quantitativas, foram armazenadas neste banco. As informações foram coletadas nos prontuários médicos e em dois livros de registro de realização de testes rápidos referentes ao período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012. Os dados foram obtidos em relação aos aspectos demográficos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais.

As informações inseridas no banco de dados foram:

- A) Características sócio-demográficas do paciente: idade, sexo, raça/etnia, município de residência;
- B) Características epidemiológicas: veiculação hídrica e/ou transmissão interpessoal.
- C) Procedência: casos esporádicos ou provenientes de surto de hepatite A;

- D) Característica da evolução cronológica da doença: início e duração dos sintomas;
- E) Manifestações clínicas: icterícia, colúria, hipocolia fecal;
- F) Resultados laboratoriais inespecíficos: ALT, AST, RNI e TAP;
- G) Resultados de testes rápidos para anti-HAV IgM e IgG, com positividade expressa através de imunocromatografia;
- H) Resultados de imunoensaio comerciais realizados por quimioluminescência para detecção de anticorpos anti-HAV IgM e anti- HAV IgG.

Para análise cronológica das variáveis, dividimos o estudo em cinco períodos de acordo com o surgimento da icterícia e com a coleta da primeira amostra de sangue para a realização dos testes diagnósticos (dia zero). Esses períodos foram:

- A) Fase pré-ictérica: surgimento da icterícia após a coleta da primeira amostra de sangue;
- B) Fase ictérica inicial: 0 a 7 dias do surgimento da icterícia antes da coleta da primeira amostra de sangue;
- C) Fase intermediária I: 8 a 15 dias do surgimento da icterícia antes da coleta da primeira amostra de sangue;
- D) Fase intermediária II: 16 a 30 dias do surgimento da icterícia antes da coleta da primeira amostra de sangue;
- E) Fase tardia: a partir de 31 dias do surgimento da icterícia após a coleta da primeira amostra de sangue.

Para a análise dos coagulogramas, os pacientes foram alocados em dois grupos (abaixo de 40 anos e maiores ou igual a 40 anos). Essa estratificação foi fundamentada na maior prevalência de curso fulminante de hepatite A nos indivíduos acima de 40 anos.

4.3. Teste rápido

O teste rápido comercial utilizado para análise dos resultados foi o SD BIOLINE HAV IgG/IgM (Standard Diagnostics, Coreia do Sul), sob registro da ANVISA 803130400.84, com sensibilidade e especificidade de 97,6% e 98,8%, respectivamente, segundo informações do fabricante. O ensaio utiliza antígenos virais fixados em um suporte sólido que se ligam aos anticorpos específicos encontrados no soro. Cada conjunto de reagentes contém: dispositivos individuais de teste embalados individualmente com um dessecante, diluente de amostras (5 ml) contendo fosfato, *tween* 20 e azida sódica, pipeta capilar de 5 µl e instruções de uso. O suporte contém três linhas pré-sensibilizadas na superfície da membrana (Figura 4.3.1). São denominadas 'G' para a detecção de anticorpos anti-HAV IgG, 'M' para a detecção de anticorpos anti-HAV IgM e 'C' para a linha de controle. Todas as três linhas não são visíveis na janela de visualização dos resultados antes da aplicação da amostra biológica. As linhas 'M' e 'G' se tornam visíveis quando há quantidade suficiente de anticorpos anti-HAV IgM e anti-HAV IgG, respectivamente. A execução desse procedimento foi realizada conforme as seguintes etapas (Figura 4.3.2):

- i. Com o auxílio de uma pipeta automática, foi aspirado um volume de soro de 5 µL e adicionado ao poço da amostra marcado com um "S";
- ii. Em seguida, foram adicionadas 4 gotas do diluente do ensaio ao poço (de formato redondo) em uma das extremidades do teste;
- iii. Após 20 minutos, procedeu-se a interpretação dos resultados de acordo com a leitura na linha teste (C M G):
 - O resultado **INVÁLIDO** para hepatite A foi demonstrado pela ausência de linhas nas marcas da linha teste;
 - O resultado **NEGATIVO** para hepatite A foi demonstrado pelo aparecimento de uma linha escura apenas na marca controle (C) da linha teste;

- O resultado **POSITIVO** para hepatite A infecção aguda foi demonstrado pelo aparecimento de uma linha escura na marca (C) e na marca (M), acompanhado ou não de linha escura na marca (G) da linha teste;
- O resultado **POSITIVO** para hepatite A com infecção passada foi demonstrado pelo aparecimento de uma linha escura na marca (C) e na marca (G) da linha teste.

As linhas foram avaliadas através da intensidade das cores. Classificamos a escala colorimétrica em seis e consideramos zero para os resultados negativos e de um a seis a medida que a cor ficasse mais intensa.

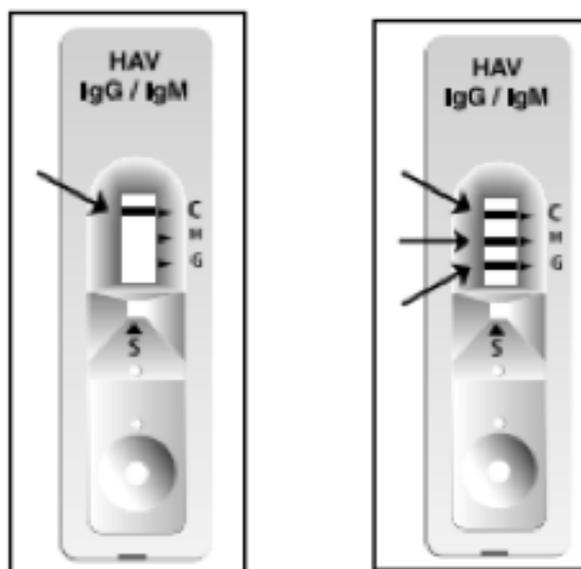


Figura 4.3.1: Testes individuais para a detecção de anticorpos anti-HAV IgM e anti-HAV IgG.

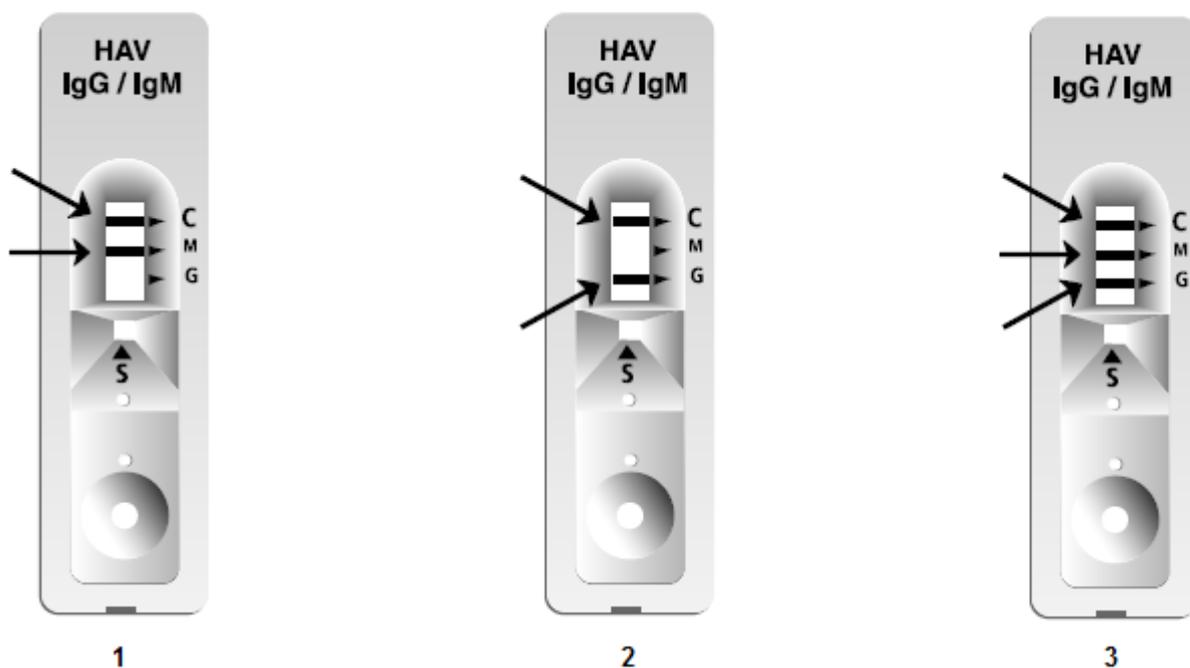


Figura 4.3.2: Interpretação dos resultados válidos do teste rápido para hepatite A. Além da formação da banda visível na linha C no dispositivo (1), observa-se a formação de bandas visíveis na linha M correspondente à positividade para anti-HAV IgM; no dispositivo (2), observa-se a formação de bandas visíveis na linha G correspondente à positividade para anti-HAV IgG; no dispositivo (3), observa-se a formação de bandas visíveis nas linhas M e G correspondentes à positividade tanto para anti-HAV IgM como para anti-HAV IgG.

4.4. Teste sorológico

A pesquisa de anti-HAV IgM e anti-HAV IgG de todos os pacientes foi realizada no Laboratório Central de Saúde Pública do Rio de Janeiro Noel Nutels (LACEN/RJ) pela técnica de quimioluminescência.

O teste empregado foi o Architect (Abbott, Alemanha), que se baseia em um sistema automatizado de imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (*Chemoluminescent Microparticle Immunoassay* ou CMIA). Esse imunoensaio foi utilizado para detecção qualitativa de anticorpos anti-HAV no soro ou plasma humano através de dois passos.

No primeiro passo, a amostra, o diluente de ensaio e as micropartículas paramagnéticas revestidas com o HAV foram combinados nos recipientes do sistema. Os anticorpos anti-HAV IgM e IgG presentes na amostra ligaram-se às micropartículas revestidas com o HAV. Após a lavagem, os anticorpos anti-HAV se ligam às anti-imunoglobulinas humanas (IgM e IgG) marcadas com conjugado acridíneo que foi adicionado na segunda etapa. Foi realizado outro ciclo de lavagem com as soluções pré-ativadora e ativadora para a reação quimioluminescente que foram adicionadas à mistura. A reação quimioluminescente resultante foi medida em unidades de luz relativas (ULR). Há uma relação direta entre a quantidade de anticorpos anti-HAV na amostra e as ULRs detectadas pela ótica do sistema Architect.

A presença ou ausência de anticorpos anti-HAV na amostra foi determinada pela comparação entre o sinal quimioluminescente da reação e o sinal de corte determinado em calibração do ensaio.

Para avaliar os resultados do anti-HAV IgG, amostras com valores S/CO (relação entre sinal e valor de corte) iguais ou maiores a 1 foram consideradas reativas para anticorpos anti-HAV e amostras com valores S/CO menores que 1 foram consideradas não-reativas para anticorpos anti-HAV. Em relação ao anti-HAV IgM, a relação entre o sinal e valor de corte foi maior ou igual a 1.2.

O teste utilizado foi comercializado pela *Abbott Laboratories*, localizada em Wiesbaden, Alemanha, e distribuído pela Abbott Laboratórios do Brasil, localizada em São Paulo, Brasil. O registro do teste na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é 80146501196.

4.5. Considerações éticas

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz com o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) 30350614.5.0000.5248 e número do parecer 699.749, em 10 de junho de 2014.

Esta pesquisa foi realizada com dados secundários armazenados em banco de dados criado para a execução do projeto e que contém as informações dos pacientes atendidos no AHV do IOC/FIOCRUZ. As fontes de dados foram obtidas de prontuários médicos e livro de registro de resultados dos testes rápidos para hepatite A já existentes no AHV.

Os dados ficaram sob a guarda da pesquisadora, sendo garantido seu sigilo e confidencialidade, de forma que foi solicitada a dispensa do termo de consentimento livre e esclarecido devido à natureza do projeto.

Assim, a dispensa do uso de TCLE para o projeto de pesquisa "Aplicabilidade do teste rápido para hepatite A" foi fundamentada:

- por ser um projeto onde foram coletadas, de forma retrospectiva, as informações de todos os pacientes atendidos no AHV, com diagnóstico confirmado de hepatite A;
- por ser um estudo observacional e descritivo, que empregou apenas informações de prontuários médicos, disponíveis no AHV;
- porque os dados foram manejados e analisados de forma anônima, sem identificação nominal dos sujeitos de pesquisa e;
- porque os resultados decorrentes do estudo foram apresentados de forma agregada, não permitindo a identificação individual dos sujeitos de pesquisa.

4.6. Análise estatística

Os dados categóricos foram descritos como frequências e as variáveis quantitativas que não apresentam distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov, $p > 0,05$) como mediana e valores mínimo e máximo. Na análise bivariada, foi utilizado o teste qui-quadrado (χ^2) com correção de Yates ou teste exato de Fisher, quando apropriado. Na comparação entre dados categóricos e quantitativos foi utilizado o teste ANOVA. Um valor de $p < 0,05$ (teste bicaudal) foi considerado estatisticamente significativo. Para análise estatística foi utilizado o pacote *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS for windows, release 20.0; SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

5. RESULTADOS

5.1. Características demográficas e epidemiológicas da população do estudo

Em 2012, o AHV registrou 4.215 atendimentos os quais foram submetidos à investigação, esclarecimento e acompanhamento dos diferentes quadros e tipos de hepatites virais. Esse estudo constatou que 2.301 eram atendimentos de indivíduos com quadros suspeitos de hepatites virais agudas e seus contactantes que foram orientados a comparecer para a realização dos testes diagnósticos. Dentre os 2.301 atendimentos, 652 foram de primeira vez e 1.649 subsequentes (Figura 5.1). Por meio do levantamento dos dados, constatou-se que dos 652 indivíduos atendidos no ambulatório pela primeira vez, 238 apresentavam anti-HAV IgM reagente pelo método CMIA.

Foram estudadas as características demográficas e epidemiológicas desses 238 indivíduos com diagnóstico confirmado nos quais verificou-se que 142/238 (59,6%) eram do sexo masculino e 96/238 (40,3%) do sexo feminino. Notou-se, também, que a segunda década de vida foi a mais acometida. A idade mediana encontrada foi de 18 anos, variando de 2 a 64 anos, sendo 90/238 (37,8%) pacientes dentro da faixa etária de 11 a 20 anos. Em relação à raça, 126/238 (52,9%) indivíduos eram pardos, seguidos de 50/238 (21,0%) brancos e 30/238 (12,6%) negros. A maioria era proveniente da cidade do Rio de Janeiro, 142/238 (59,6%), e de Mangaratiba, 81/238 (34%) (Tabela 5.1).

O fator de risco para a hepatite A analisado em nosso estudo foi a exposição à veiculação hídrica do HAV e o contato interpessoal. Dentre os 238 pacientes com diagnóstico confirmado de hepatite A, foram identificados 101 pacientes que relataram possível exposição do HAV através da água. Dentre as formas de exposição do HAV pela água, verificou-se que 58/238 (24,3%) referiram consumo de água não tratada; 25/238 (10,5%) referiram banhos recreativos (piscina, mar, rio ou lago); 16/238 (6,7%) tiveram contato com enchente, esgoto, fossa ou valão e 2/238 (0,8%) realizaram limpeza de caixa d'água (Tabela 5.1).

Dentre os pacientes estudados, 71 (29,8%) foram contactantes intradomiciliares de pacientes com hepatite A e 139 (58,4%) oriundos de surtos.

Alguns surtos intradomiciliares foram detectados ambulatorialmente através do atendimento de contactantes de pacientes com quadro icterico agudo. O maior surto registrado nesse período pelo AHV foi no município de Mangaratiba com 81 casos confirmados (Tabela 5.1). A equipe do AHV esteve presente no local prestando assistência aos pacientes e contactantes. Dentre os pacientes do surto de Mangaratiba, 65 (80%) referiam alguma forma de exposição hídrica ao HAV.

Figura 5.1: Representação esquemática dos atendimentos realizados no Ambulatório de Hepatites Virais entre janeiro de 2012 a dezembro de 2012.

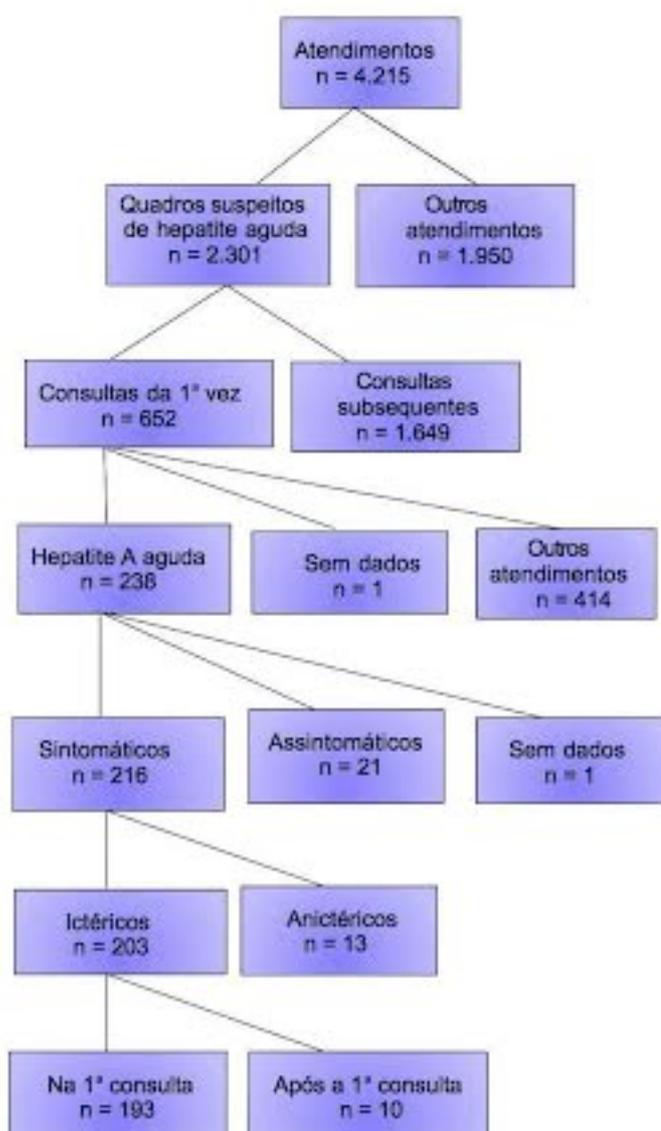


Tabela 5.1: Características demográficas e epidemiológicas de 238 indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro/2012 a dezembro de 2012.

Características	Resultados
Sexo, <i>n</i> (%):	
Masculino	142 (59,6)
Feminino	96 (40,3)
Idade (anos):	
Mediana (Variação)	18 (2 – 64)
Faixa etária (anos), <i>n</i> (%):	
0 – 10	66 (27,7)
11 – 20	90 (37,8)
21 – 30	46 (19,3)
31 – 40	21 (8,8)
41 – 50	10 (4,2)
> 51	4 (1,7)
Etnia/Cor, <i>n</i> (%):	
Branco	50 (21,0)
Pardo	126 (52,9)
Negro	30 (12,6)
Outras/Desconhecido	32 (13,4)
Município de origem, <i>n</i> (%):	
Rio de Janeiro	142 (59,6)
Mangaratiba	81 (34,3)
Duque de Caxias	8 (3,3)
Outros*	7 (2,8)
Contactantes, <i>n</i> (%):	
Sim	71 (29,8)
Não	167 (70,1)
Oriundos de surto, <i>n</i> (%):	
Sim	139 (58,4)
Não	99 (41,6)

*Boa Vista (Roraima), Magé, Mauá, Mesquita e São João de Meriti.

5.2. Avaliação das manifestações clínicas e das características laboratoriais inespecíficas dos pacientes com hepatite A

Os diferentes estágios do aparecimento da icterícia nos pacientes e contactantes foram fundamentais para determinar a aplicabilidade clínica do teste rápido. As coletas variaram desde 27 dias antes do início da icterícia até 180 dias após o surgimento da icterícia. Ou seja: a eficácia do teste rápido pode ser avaliada no decorrer do curso clínico da icterícia.

Na avaliação das manifestações clínicas, foi observado que, dentre os 238 pacientes com hepatite A, 216/238 (90,7%) eram sintomáticos e 21/238 (8,8%) eram assintomáticos à primeira consulta e houve um paciente com dados omissos (Figura 5.1).

Dentre os 216 pacientes sintomáticos, 195/216 (90,2%) apresentaram icterícia e colúria, 8/216 (3,7%) somente colúria e 134/216 (62,0%) hipocolia fecal. Os 13/216 (6,0%) pacientes restantes foram sintomáticos anictéricos e referiram sintomas inespecíficos, tais como: náuseas, vômitos, dor abdominal, febre, artralgia, mialgia, hiporexia e/ou prostração. Esses sintomas não foram avaliados individualmente em nosso estudo (Figura 5.2).

Dos 21 pacientes assintomáticos à primeira consulta, 10 se tornaram ictéricos no decorrer do acompanhamento. Ou seja, após a coleta de sangue para detecção de anti-HAV IgM, 11 indivíduos não manifestaram sintomas em nenhum momento do acompanhamento. Isso deveu-se pelo rastreamento dos contactantes de pacientes com hepatite.

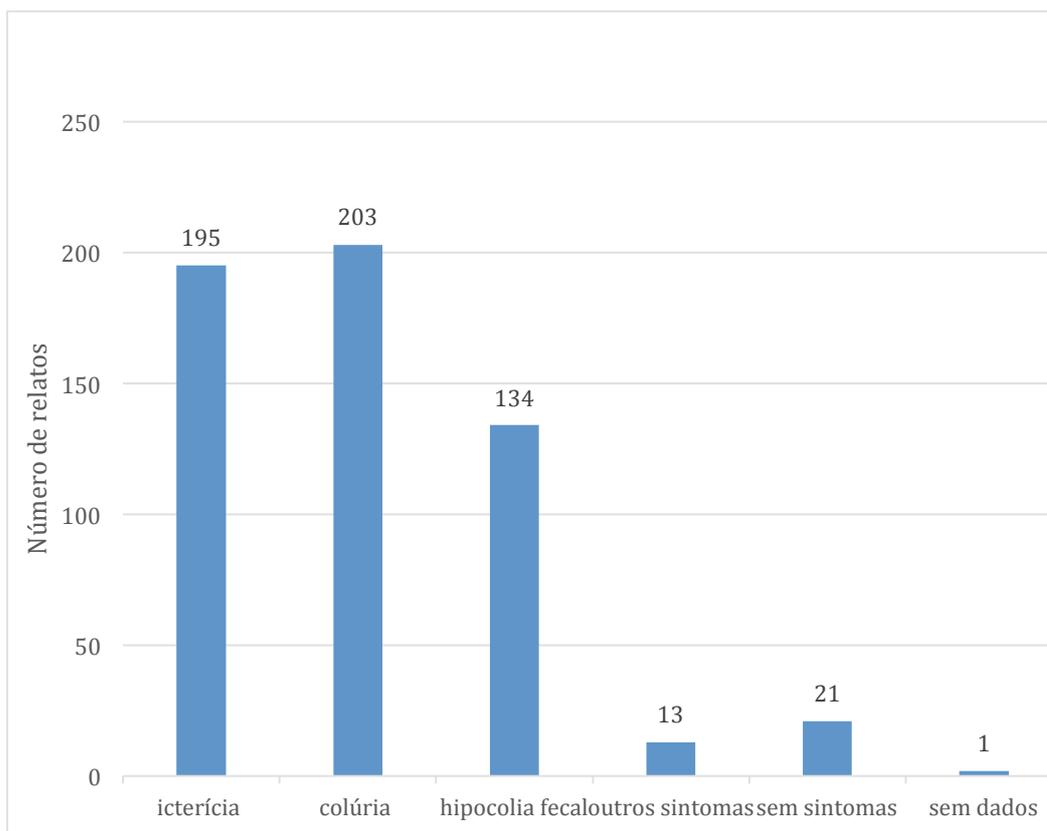


Figura 5.2: Manifestações clínicas dos 216 pacientes sintomáticos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012.

Conforme demonstrado na tabela 5.2, foram analisados os resultados dos parâmetros laboratoriais inespecíficos para a hepatite A mensurados rotineiramente no AHV.

Os resultados dos níveis de ALT à primeira consulta estiveram disponíveis em 161 (67,6%) pacientes cuja variação foi de 7 a 4.200 U/L (mediana 238 U/L) e de AST em 156 pacientes, cuja variação foi de 16 a 3.630 U/L (mediana 129.5 U/L) (Tabela 5.2). Foram utilizados os seguintes valores como referência: 7 a 56 U/L para ALT e 5 a 40 U/L para AST.

Conforme demonstrado na tabela 5.2, foi obtida a Relação Normalizada Internacional (RNI) em 146 pacientes. A mediana de RNI encontrada foi 1,14 sendo em oito pacientes maior ou igual a 1,5. Todos esses pacientes foram encaminhados para hospital de referência para acompanhamento da gravidade e avaliação da

indicação de transplante hepático. A maioria dos pacientes com RNI maior ou igual a 1,5 era constituída de jovens, sendo 87,5% menores de 40 anos.

Tabela 5.2: Parâmetros laboratoriais inespecíficos disponíveis de 238 indivíduos com hepatite A à primeira consulta no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012

Parâmetros Laboratoriais	Resultados
ALT (U/L)*:	
<i>n</i>	161
Mediana (Variação)	218,0 (7,0 – 4.200,0)
AST (U/L) †:	
<i>n</i>	156
Mediana (Variação)	129,5 (16,0 – 3.630,0)
RNI (0 a 40 anos), <i>n</i> :	137
0,9 – 1,4 <i>n</i> (%)	130 (94,8)
1,5 – 3,0, <i>n</i> (%)	7 (5,1)
RNI (> 40 anos), <i>n</i> :	9
0,9 – 1,4 <i>n</i> (%)	8 (88,9)
1,5 – 3,0, <i>n</i> (%)	1 (11,1)

* Valores de referência: 7 a 56 U/L;

† Valores de referência: 5 a 40 U/L.

5.3 Avaliação da sensibilidade do teste rápido para a detecção de anti-HAV IgM em diferentes períodos da infecção pelo HAV

Para avaliar a sensibilidade dos testes rápidos a partir do início da icterícia, categorizamos o curso clínico da infecção pelo HAV em cinco períodos que chamamos de fase pré-ictérica, fase inicial, fases intermediárias I e II e fase tardia da doença. Dos 238 pacientes estudados, tivemos informações de 307 amostras coletadas em diferentes períodos antes e após o aparecimento da icterícia (tabela 5.3).

Na fase pré-ictérica, foram incluídas as amostras dos pacientes que apresentaram icterícia de dois a 27 dias após a realização do teste. Foi encontrada sensibilidade de 80% dentre os 10 resultados.

Na fase ictérica inicial, foram incluídas as amostras dos pacientes que apresentaram icterícia de zero a sete dias anteriores à realização do teste. Foi encontrada sensibilidade de 85,4% dentre os 89 resultados.

Na fase intermediária I, foram incluídas as amostras dos pacientes que apresentaram icterícia de oito a 15 dias anteriores à realização do teste. Foi encontrada sensibilidade de 88,9 % dentre os 45 resultados.

Na fase intermediária II, foram incluídas as amostras dos pacientes que apresentaram icterícia de 16 a 30 dias anteriores à realização do teste. Foi encontrada sensibilidade de 80% dentre os 25 resultados.

Na fase tardia, foram incluídas as amostras de todos os pacientes que apresentaram icterícia 31 dias ou mais anteriores à realização do teste. Foi encontrada sensibilidade de 63% dentre os 138 resultados.

Tabela 5.3: Valores de sensibilidades dos testes rápidos para detecção de anti-HAV IgM em relação ao número de dias a partir do início da icterícia nas amostras dos indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012

Fases Evolutivas da doença	Número de amostras	Número de TR +	Sensibilidade
Fase pré-ictérica	10	8	80%
Fase ictérica inicial (0 a 7 dias)	89	76	85,4%
Fase intermediária I (8 a 15 dias)	45	40	88,9%
Fase intermediária II (16 a 30 dias)	25	20	80%
Fase tardia (após 31 dias)	138	87	63%

TR+, teste rápido positivo.

Foram avaliadas diariamente as sensibilidades dos testes rápidos nas fases ictérica inicial e fase intermediária I, ou seja, nos primeiros 15 dias após o início da icterícia (Figura 5.3).

Dentre os 10 pacientes que não apresentaram icterícia no dia da coleta, oito tiveram a detecção do anti-HAV positivo no teste rápido. Os dois pacientes nos quais os resultados foram negativos também foram negativos pelo método CMIA na primeira consulta e se tornaram reagentes em coletas subsequentes.

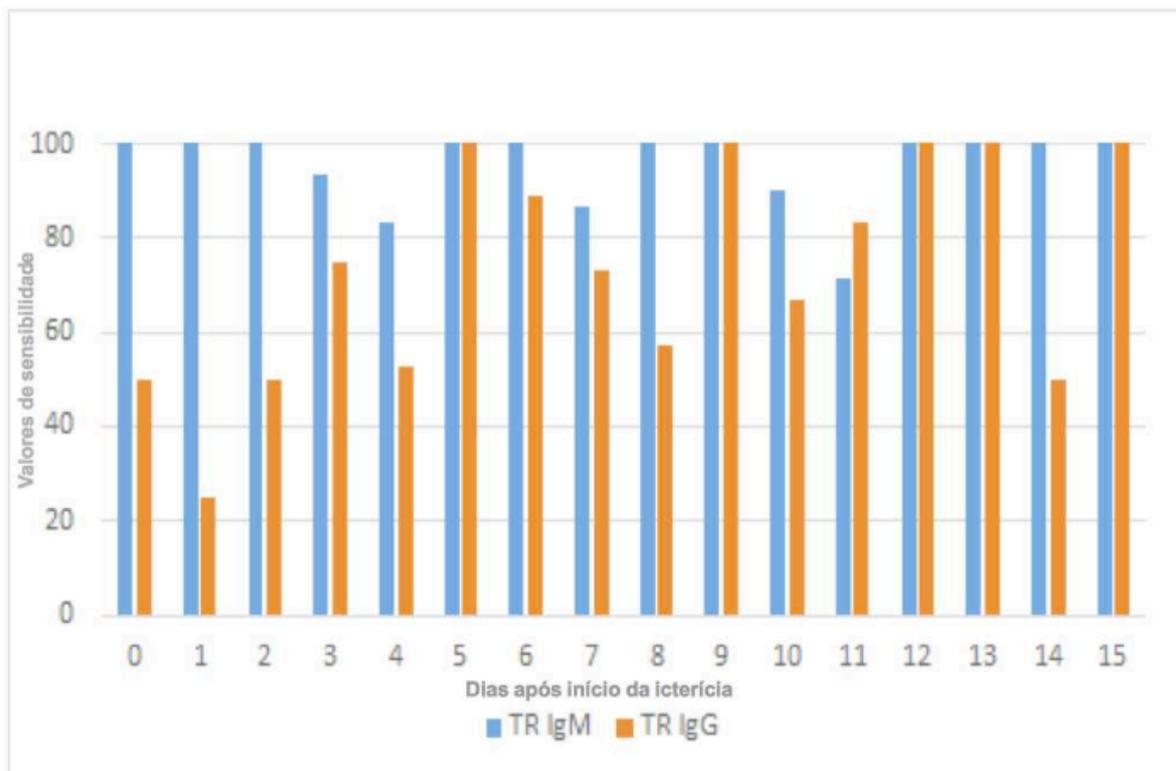


Figura 5.3: Resultados das sensibilidades relativas dos testes rápidos para detecção de anti-HAV IgM e anti-HAV IgG nos primeiros 15 dias após o início da icterícia nos indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012.

5.4 Avaliação dos valores de DO/CO para a detecção de anti-HAV IgM e anti-HAV IgG em diferentes períodos da infecção pelo HAV pelo método CMIA

Nesse trabalho, foram avaliados os resultados dos valores de DO/CO para determinar a positividade dos testes de detecção de anticorpos da classe IgM e IgG em diferentes fases do quadro clínico da hepatite A a partir do aparecimento da icterícia. Dessa forma, pudemos acompanhar o surgimento e o desaparecimento dos anticorpos no decorrer da infecção (Figuras 5.4.1 e 5.4.2).

As tabelas 5.4.1 e 5.4.2 mostram os valores das médias de DO/CO nas diferentes fases da doença. Para a detecção do anti-HAV IgM, foram observadas as maiores médias na fase inicial e nas fases intermediárias do curso clínico da

infecção. As menores médias foram encontradas em pacientes assintomáticos e na fase tardia. Já para a detecção do anti-HAV IgG os valores das médias foram se elevando no decorrer do curso clínico da infecção.

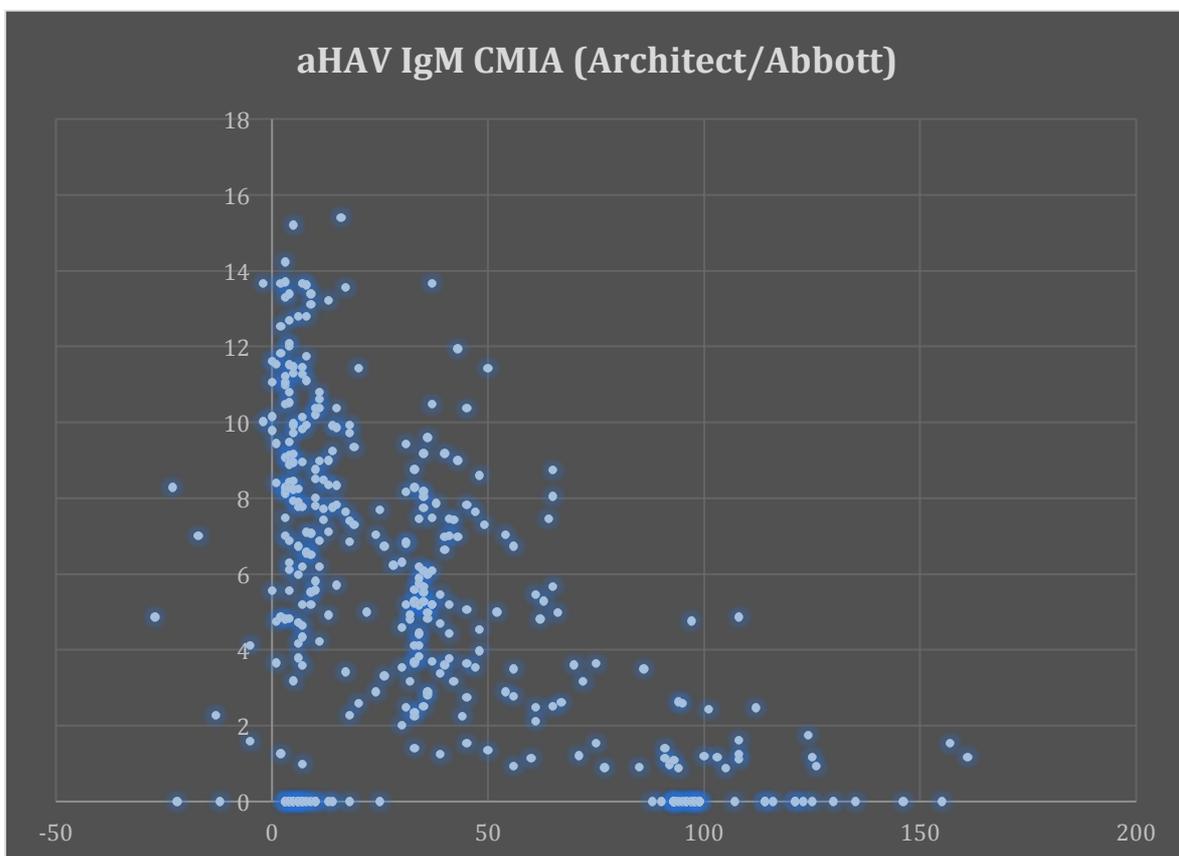


Figura 5.4.1: Representação esquemática da distribuição dos valores de DO/CO para a detecção do anti-HAV IgM em relação ao surgimento da icterícia em amostras coletadas de pacientes atendidos no AHV entre janeiro de 2012 e dezembro de 2012.

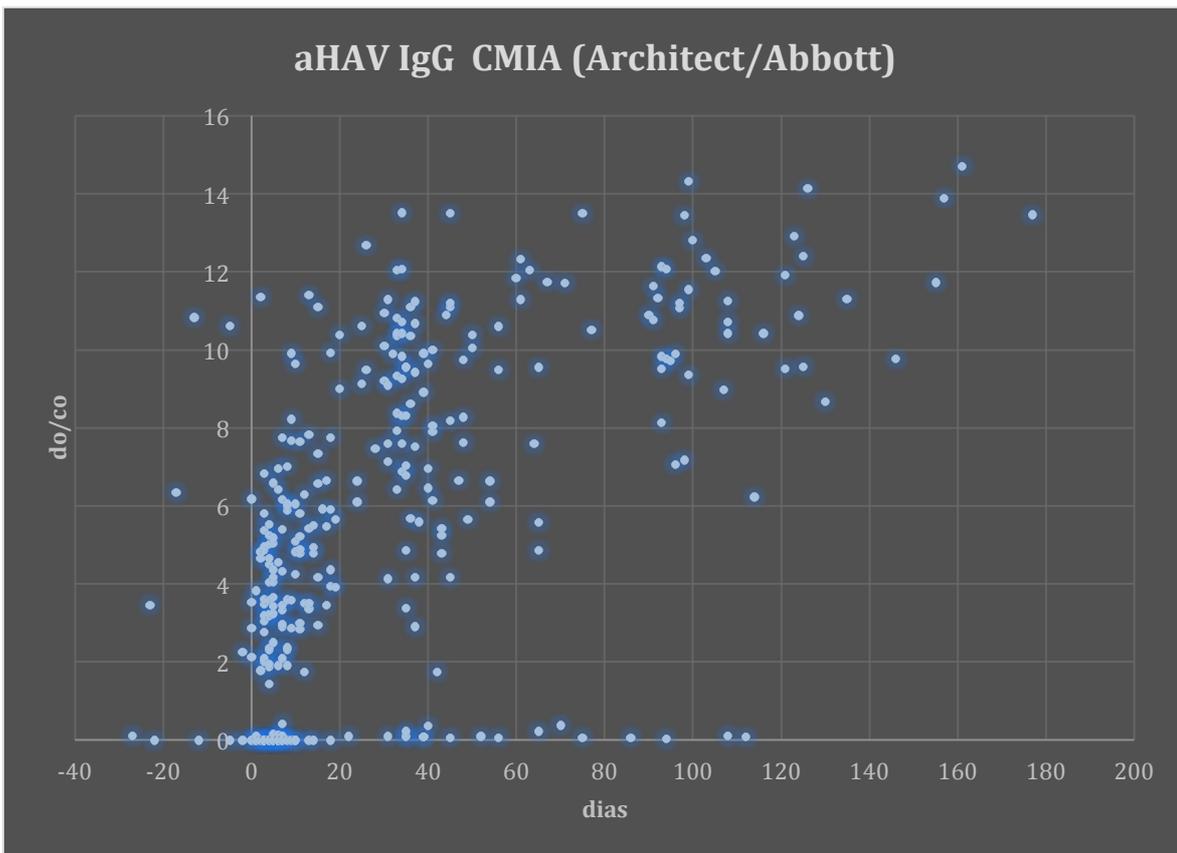


Figura 5.4.2: Representação esquemática da distribuição dos valores de DO/CO para a detecção do anti-HAV IgG em relação ao surgimento da icterícia em amostras coletadas de pacientes atendidos no AHV entre janeiro de 2012 e dezembro de 2012.

Tabela 5.4.1: Médias dos valores de DO/CO do anti-HAV IgM pelo método CMIA de acordo com as diferentes fases do curso clínico da hepatite A

Fases evolutivas da doença	n	Média de DO/CO	Desvio Padrão	IC (95%)
Pré-icterícia	11	4,80	4,48	1,79 – 7,81
Inicial	99	8,34	3,52	7,64 – 9,05
Fase Intermediária I	54	8,35	3,07	7,52 – 9,19
Fase Intermediária II	29	6,03	3,91	4,55 – 7,52
Fase Tardia	168	3,85	3,07	3,38 – 4,32

n, número de amostras estudadas; DO/CO; relação entre a densidade óptica da amostra e o ponto de corte para a positividade.

Tabela 5.4.2: Médias dos valores de DO/CO do anti-HAV IgG pelo método CMIA de acordo com as diferentes fases do curso clínico da hepatite A

Fases evolutivas da doença	n	Media de DO/CO	Desvio Padrão	IC (95%)
Pre-ictérica	11	1,40	4,65	0,86 – 7,11
Inicial	89	3,69	2,57	3,14 – 4,23
Fase Intermediária I	48	5,35	2,50	4,63 – 6,08
Fase Intermediária II	28	7,29	2,30	6,13 – 8,46
Fase Tardia	143	8,34	3,95	7,69 – 8,99

n, número de amostras estudadas; DO/CO, relação entre a densidade óptica da amostra e o ponto de corte para a positividade.

5.5 Comparação entre a intensidade da leitura da escala colorimétrica dos testes rápidos com os valores de DO/CO para anticorpos anti-HAV IgM e IgG pelo método CMIA

Foram analisadas 344 amostras dos 238 pacientes com diagnóstico confirmado de hepatite A. Nessas amostras, verificou-se que foram realizados testes rápidos e detecção do anti-HAV IgM e IgG pelo método CMIA. As médias de DO/CO para anticorpos anti-HAV IgM e IgG pelo método CMIA foram relacionadas às diferentes leituras da intensidade da escala colorimétrica (1 a 6) dos testes rápidos anti-HAV IgM e IgG.

Para a detecção de anticorpos da classe IgM, as médias encontradas foram mais elevadas nos testes em que a leitura da escala colorimétrica foi mais intensa. Somente na intensidade de leitura seis, a média encontrada do DO/CO foi abaixo do esperado (Tabela 5.5.1).

Em relação aos anticorpos da classe IgG, observou-se valores estáveis e elevação maior na intensidade de leitura seis (Tabela 5.5.2).

Tabela 5.5.1. Médias de valores de DO/CO para anticorpos anti-HAV IgM em relação às diferentes leituras de testes rápidos anti-HAV IgM realizados no Ambulatório de Hepatites Virais de janeiro de 2012 a dezembro de 2012

Intensidade de leitura	Observações	Média de DO/CO	Desvio Padrão	IC (95%)	Valor de p
0	77	2,49	3,13	1,79 – 3,20	-
1	61	4,98	3,76	4,02 – 5,94	0,0001
2	54	6,15	3,22	5,27 – 7,03	0,0001
3	67	7,32	3,91	6,37 – 8,28	0,0001
4	45	8,49	3,37	7,48 – 9,50	0,0001
5	32	8,49	2,78	7,49 – 9,49	0,0001
6	8	5,37	4,34	1,74 – 9,00	0,02

DO/CO, relação entre a densidade óptica da amostra e o ponto de corte para a positividade; CMIA, quimioluminescência; IC, intervalo de confiança.

Tabela 5.5.2: Médias de valores de DO/CO para anticorpos anti-HAV IgG em relação às diferentes leituras de testes rápidos anti-HAV IgG realizados no Ambulatório de Hepatites Virais de janeiro de 2012 a dezembro de 2012

Intensidade de leitura	Observações	Média de CMIA	Desvio Padrão	IC (95%)	Valor p
0	56	6,04	4,24	4,91 – 7,18	-
1	65	7,16	4,07	6,15 – 8,17	NS
2	46	6,91	5,00	5,81 – 8,00	NS
3	62	6,03	4,24	4,96 – 7,11	NS
4	33	6,91	4,02	5,49 – 8,34	NS
5	16	7,72	4,24	5,46 – 9,98	NS
6	1	9,1	-	-	-

NS, não significante; DO/CO, relação entre a densidade óptica da amostra e o ponto de corte para a positividade; CMIA, quimioluminescência; IC, intervalo de confiança.

5.6 Avaliação da acurácia do teste rápido para a detecção de anticorpos anti-HAV das classes IgM e IgG

Para a realização da acurácia do teste rápido para a hepatite A foram incluídas todas as amostras testadas durante o ano de 2012. Nesse universo, além dos pacientes com hepatite A, foram incluídos todos os casos suspeitos das hepatites agudas virais, contactantes intradomiciliares e indivíduos que realizaram os testes como triagem durante surtos ocorridos no período.

Ao todo, foram analisadas 485 amostras que tinham resultados de anti-HAV IgM simultaneamente para os testes rápidos e para o método CMIA. Dentre as amostras estudadas, 167 foram reagentes e 318 foram não reagentes para anticorpos anti-HAV IgM pelo método CMIA. Na comparação entre os dois métodos foi encontrada a acurácia de 94,6% com sensibilidade de 90,4% e especificidade de 96,9% (Tabela 5.6.1).

Tabela 5.6.1 Desempenho do teste rápido em relação ao ensaio imunoenzimático (CMIA) para detecção de anticorpos anti-HAV IgM em amostras de soro coletadas nos diferentes períodos de acompanhamento de indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012

	Anti – HAV IgM CMIA (+)	Anti – HAV IgM CMIA (-)	Total	Parâmetros
TR anti-HAV IgM (+)	151	10	161	Sensibilidade 90,4%
TR anti-HAV IgM (-)	16	308	324	Especificidade 96,8%
Total	167	318	485	Acurácia 94,6%

TR, teste rápido; CMIA, quimioluminescência.

Ao todo, foram realizados 426 testes rápidos para anti-HAV IgG em amostras com resultados para o método CMIA. Dentre as amostras estudadas, 327 foram reagentes e 99 foram não reagentes para anticorpos anti-HAV IgG pelo método CMIA. Na comparação entre os dois métodos foi encontrada a acurácia de 82,8%, sensibilidade de 79,2% e especificidade de 94,9% (Tabela 5.3).

Tabela 5.6.2: Desempenho do teste rápido em relação ao ensaio imunoenzimático (CMIA) para detecção de anticorpos anti-HAV IgG em amostras de soro coletadas nos diferentes períodos de acompanhamento de indivíduos com hepatite A atendidos no Ambulatório de Hepatites Virais – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012

	Anti – HAV IgG CMIA (+)	Anti – HAV IgG CMIA (-)	Total	Parâmetros
TR anti-HAV IgG (+)	259	5	264	Sensibilidade 79,2%
TR anti-HAV IgG (-)	68	94	162	Especificidade 94,9%
Total	327	99	426	Acurácia 82,8%

TR, teste rápido; CMIA, quimioluminescência.

5. DISCUSSÃO

Em nosso estudo foi realizada uma análise longitudinal durante um período de seis meses para avaliar a aplicabilidade clínica do teste rápido para o diagnóstico da hepatite A. A avaliação de testes diagnósticos de hepatite A é de grande relevância, já que o período de incubação é longo e o surgimento de anticorpos anti-HAV IgM pode ser tardio, acarretando atraso no diagnóstico e ineficácia nas estratégias de controle epidemiológico da doença (Fishman et al. 1996).

Sendo o nosso estudo retrospectivo, ressaltam-se algumas dificuldades durante a elaboração dos objetivos propostos. Uma das dificuldades observada foi durante a coleta das informações devido aos dados omissos nos prontuários. Outra limitação foi a realização dos testes rápidos por diversos profissionais, o que aumenta a chance de a padronização da leitura dos resultados ter sido prejudicada. O tamanho amostral do nosso estudo foi pequeno, 238 pacientes com diagnóstico confirmado de hepatite A. Isso deveu-se pela natureza retrospectiva do trabalho, com abandonos no decorrer do acompanhamento ambulatorial.

A hepatite A é uma doença endêmica que acomete todas as idades. De acordo com a literatura, crianças e adultos jovens são os mais acometidos pela doença (Fausto & Gonçalves 2003). Dentre os pacientes com hepatite A analisados em nosso estudo, a maioria também se encontrava dentro das duas primeiras décadas de vida.

Em relação à análise demográfica, a região sudeste registrou, de acordo com o último boletim epidemiológico das hepatites virais, publicado em 2010 pelo Ministério da Saúde, 15,9% dos casos do Brasil. A taxa de incidência na cidade do Rio de Janeiro foi de cinco por 100 mil habitantes. Em nossa coorte, a maioria dos pacientes estudados foi proveniente dos municípios do Rio de Janeiro e de Mangaratiba. O AHV é uma unidade de referência para todos os casos agudos de hepatite viral no Município do Rio de Janeiro. Porém, rotineiramente, também são atendidos pacientes provenientes do Grande Rio e de outros Estados do Brasil.

O grande número de casos confirmados de hepatite A em Mangaratiba deveu-se ao acompanhamento pela equipe do AHV dos pacientes provenientes de um surto ocorrido de maio a junho de 2012, com 81 casos confirmados. Acreditamos

que esse número esteja subestimado já que a assistência do AHV ao surto foi emergencial e para muitos pacientes que realizaram testes rápidos não houve aberturas de prontuários médicos para posterior acompanhamento. Nesse trabalho, identificamos que a principal forma de transmissão do HAV em Mangaratiba foi por veiculação hídrica. O contato interpessoal por contactantes intradomiciliares foi a segunda forma de exposição ao HAV durante o surto. A realização dos testes rápidos para a hepatite A nesse surto motivou ainda mais a condução desse trabalho, pois teve um papel importante junto à equipe da Defesa Civil e a Secretaria de Saúde do município de Mangaratiba para as ações imediatas de contenção e promoção de medidas de saneamento para o controle do surto. Outro ponto importante foi a identificação, por meio dos testes rápidos, de contactantes assintomáticos não reagentes para anticorpos da classe IgG. Assim, medidas de vacinação de bloqueio de surto puderam ser realizadas.

Nesse estudo foi possível avaliar as diferentes formas clínicas da hepatite A. O protocolo de atendimento para os casos de hepatite A no AHV contempla 180 dias de seguimento ambulatorial. A importância desse longo seguimento se dá porque já foram relatadas na literatura formas prolongadas da doença e evolução bifásica da hepatite A. Schmidt e colaboradores relataram o caso de um homem de 44 anos que apresentou retorno da icterícia um mês após remissão do quadro clínico, cursando com a forma colestática da hepatite (Schmidt et al. 2011). Em nosso estudo não encontramos evolução bifásica da hepatite A.

Foram estudadas as frequências e as durações da icterícia, colúria e hipocolia fecal. A colúria foi o achado mais prevalente no momento da primeira consulta, seguido de icterícia e hipocolia fecal. Na literatura, a icterícia é a alteração mais prevalente da doença (Cuthbert 2001). Outros sintomas que podem estar presentes na hepatite A são: febre, prostração, náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, mialgia, prurido e artralgia entre outros (Jeong & Lee 2010). Esses sintomas foram considerados no presente estudo apenas de forma agregada, não sendo analisados individualmente devido aos dados omissos nos prontuários.

Foram encontrados nesse estudo 10 pacientes que apresentaram icterícia após a primeira consulta no AHV. Isso deveu-se ao fato do atendimento no AHV contemplar também os contactantes intradomiciliares dos pacientes com hepatite A. A presença de sinais após a primeira consulta também ocorreu com hipocolia fecal e

colúria, surgindo em dias subsequentes ao atendimento. A infecção inaparente em contactantes com hepatite A já foi relatada na literatura. Em 1988, Yang e colaboradores publicaram um estudo em contactantes em duas epidemias na China. Foram analisadas, assim como em nosso estudo, sorologias anti-HAV IgM, elevação das transaminases séricas e icterícia. Na primeira epidemia, evidenciou-se 34,5% de sorologias positivas para anti-HAV IgM em indivíduos assintomáticos. Na segunda epidemia, 25%, ressaltando a importância da avaliação de contactantes assintomáticos dos pacientes com a doença (Yang et al 1988).

As formas clínicas estão bem descritas na literatura, variando de assintomática até hepatite aguda fulminante. Em torno de 30% das crianças infectadas permanecem assintomáticas, enquanto aproximadamente 80% dos adultos infectados manifestam hepatite grave com notável elevação de transaminases (Jeong & Lee 2010). A literatura sugere como fatores que influenciam na gravidade da hepatite A condições como doença crônica no fígado, idade avançada, alcoolismo, infecção pelo HIV e gravidez (Willner et al. 1998; Elinav et al. 2006). Em um estudo retrospectivo com 713 pacientes com hepatite A aguda na Coreia do Sul foi realizada a análise multivariada dos fatores preditivos associados com gravidade. O estudo apontou que a gravidade da doença está relacionada com a idade, o alcoolismo e a presença de infecção crônica pelo HBV (Kim et al. 2010). A gravidade, em nosso estudo, foi medida através da análise da RNI. Para essa avaliação, estratificamos a população estudada em dois grupos (ponto de corte de 40 anos). Diferente da literatura, observamos em nossa pesquisa que os valores mais elevados da RNI estavam nos indivíduos menores de 40 anos. Porém, foi observado que o paciente que teve maior elevação da RNI (3,0) encontrava-se acima de 40 anos. Todos os pacientes com elevação significativa de RNI foram encaminhados para hospitais de referência para acompanhamento e nenhum evoluiu para a forma fulminante da doença.

Em relação aos parâmetros laboratoriais analisados no primeiro atendimento, a maioria dos pacientes com hepatite A apresentou elevação das transaminases séricas. Na avaliação da ALT, foi encontrada a mediana de 161 e na avaliação da elevação da AST foi encontrada a mediana de 156. A determinação dos valores de transaminases é de grande utilidade na suspeita de hepatite e, geralmente, encontram-se valores de 5 a 10 vezes superiores à normalidade devido à lesão

hepatocelular difusa (Giboney 2005). Porém, também foram encontrados, no presente estudo, pacientes com anti-HAV IgM reagente no teste rápido e valores de transaminases séricas dentro da normalidade. A fim de redução de custos, a investigação do anti-HAV IgM não deve ser realizada em pacientes com transaminases séricas normais (Coutinho et al. 2007). Em um recente estudo realizado na Turquia com o acompanhamento durante cinco anos de jovens menores de 18 anos, concluiu-se que os pacientes com níveis séricos de ALT e AST acima de 1.000 U/L necessitaram de maior período de hospitalização. Portanto, se faz necessário maior vigilância clínica e laboratorial desses pacientes (Cetinkaya et al. 2014). Um estudo prospectivo realizado na década de 80 acompanhou 451 pacientes com hepatite A. Em 83,8% dos pacientes, os parâmetros bioquímicos avaliados normalizaram dentro de três meses. Mesmo nos pacientes que tiveram um curso clínico e laboratorial prolongado da hepatite A, a doença teve caráter benigno. (Lesnicar 1988).

Os testes rápidos foram realizados em pacientes em diferentes fases da doença e a sua sensibilidade foi avaliada nesses períodos. Também foi analisada a sensibilidade dos testes rápidos nos pacientes que tiveram surgimento da icterícia após a realização dos testes. Essa análise foi possível devido ao atendimento, no AHV, de contactantes intradomiciliares assintomáticos de pacientes com hepatite A.

O nosso estudo mostrou que a sensibilidade do teste rápido da hepatite A, quando comparado ao método CMIA, foi menor na fase tardia. Vale ressaltar que os dois resultados de testes rápidos negativos na fase pré-ictérica também foram negativos pelo método CMIA.

Após o início da icterícia, a sensibilidade do teste rápido para a detecção do anti-HAV IgM foi elevada em todas as fases analisadas, denominadas inicial, intermediária I e II e fase tardia. A maior sensibilidade foi observada entre o oitavo e o 15º dia após o surgimento da icterícia.

Verificou-se que os anticorpos anti-HAV IgM foram detectados em alguns pacientes por um longo período, sendo o período máximo de 150 dias. A gravidade da infecção pelo HAV e a duração da detecção do anti-HAV IgM já foi descrita na literatura. Em 1996, os achados de um estudo realizado no Japão sugerem que os títulos dos anticorpos em pacientes com curso prolongado da doença permanecem

altos por mais tempo quando comparados àqueles pacientes de infecção subclínica pelo HAV (Sata et al. 1996).

A sensibilidade de testes de fluxo lateral em diferentes estágios da doença já foi avaliada para outros agravos. Em 2013, Huang e colaboradores mostraram que, na dengue, a detecção do antígeno NS1 é maior nos primeiros três dias da doença. O estudo foi realizado com 392 pacientes e também avaliou a combinação de métodos em diferentes estágios da doença (Huang et al. 2013). Em 2014, Pal e colaboradores avaliaram sete testes rápidos comerciais para a detecção do antígeno NS1 nos primeiros 14 dias após o início dos sintomas. A sensibilidade dos testes foi maior entre o terceiro e o quarto dia. A sensibilidade dos testes variou entre 71,9% e 79,1% e a especificidade variou entre 95% e 100% (Pal et al. 2014). Ainda em 2014, um trabalho realizado no México avaliou 310 amostras de pacientes com diagnóstico confirmado de dengue através de métodos sorológicos e 87 amostras negativas para dengue (utilizadas como controle) obtidas de pacientes com doença febril aguda. O estudo encontrou 90,6% de sensibilidade e 89,6% de especificidade para um teste rápido comercial para a detecção do NS1. Não foi encontrada significância estatística nas seguintes comparações: sensibilidade entre infecções primárias e secundárias e sensibilidade entre dengue e febre hemorrágica da dengue. A sensibilidade foi maior nos testes realizados na fase aguda da doença (Sánchez-Vargas et al. 2014).

Nosso estudo, semelhante aos estudos citados previamente, demonstra a importância da avaliação de testes rápidos no início da infecção. A hepatite A, assim como a dengue, é uma doença aguda cujo conhecimento da fase inicial é de grande importância no esclarecimento do diagnóstico clínico.

Para avaliar a acurácia do teste rápido, foi feito um levantamento dos exames realizados durante o ano de 2012 e comparados com um teste sorológico pelo método CMIA. A sensibilidade e a especificidade foram maiores os anticorpos anti-HAV IgM. Esses achados foram, de forma similar, observados na dengue em um estudo prospectivo, controlado, multicêntrico que incluiu 1.021 pacientes com síndrome febril e avaliou dois testes rápidos para o diagnóstico da dengue (Pal et al. 2015).

Foram encontrados pacientes com sinais e sintomas compatíveis com hepatite aguda icterica e sorologias realizadas pelo método CMIA anti-HAV IgM e anti-HAV IgG negativas. Esses resultados podem ter sido falsos-negativos, uma vez que na literatura já foi evidenciada a detecção de HAV – RNA através da técnica de PCR em pacientes com sorologia anti-HAV IgM negativa (De Paula et al. 2004).

Na literatura, a acurácia de outros métodos rápidos para o diagnóstico de hepatite A já foi avaliada. Em 2003, um estudo avaliou a detecção de anticorpos pelo método *Dot Immunigold Filtration Assay* (DIGFA). Esse teste consiste em capturar anticorpos humanos IgM e IgG através de uma membrana de nitrocelulose em uma rápida reação antígeno-anticorpo (Han et al. 2000). O DIGFA pode detectar a presença de anti HAV-IgM e anti-HAV IgG simultaneamente e pode ser realizado em 3 minutos. O estudo apresentou 91,3% de sensibilidade e 96% de especificidade, porém estes resultados foram mais baixos que o do método ELISA (Shao et al. 2003).

Em 2009, a detecção de anti-HAV através de um teste rápido imunoenzimático em microplacas também foi avaliada em um estudo que descreveu um ensaio colorimétrico capaz de detectar anticorpos contra a hepatite A. A infectividade do HAV foi mensurada por citometria de fluxo (Azizi et al. 2009).

Outros trabalhos sobre acurácia de testes imunocromatográficos de outras hepatites virais também encontram-se disponíveis na literatura. Uma publicação recente avaliou um teste rápido (Immonuflow HCV Test) utilizado para triagem da hepatite C, tendo evidenciado 100% de sensibilidade e 100% de especificidade (Kosack et al. 2014). Em 2013, Kim e colaboradores estudaram as características de um teste rápido para a detecção do anti-HCV (SD Bioline, Coreia). Nesse estudo, além da especificidade e sensibilidade, foram avaliadas reações cruzadas do teste rápido com HBsAg, anti-HBs, fator reumatoide e imunoglobulinas. Foram encontrados valores de sensibilidade de 78,8% e especificidade de 100%, e não foram detectadas reações cruzadas (Kim et al. 2013).

Por fim, em 2010, Lee e colaboradores compararam o teste rápido para hepatite A com um ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos anti-HAV IgM e IgG. O estudo utilizou 150 amostras de soro de paciente com hepatite A e evidenciou 100% de especificidade e 100% de sensibilidade (Lee et al. 2010).

6. CONCLUSÕES

1. No grupo estudado, a colúria foi a principal manifestação clínica observada, seguida de icterícia e hipocolia fecal.
2. A avaliação do desempenho do teste rápido mostrou que o mesmo apresentou elevada acurácia, sensibilidade e especificidade para detecção de anti-HAV IgM, podendo ser utilizado com teste inicial em triagem diagnóstica de casos suspeitos de hepatite A.
3. O anti-HAV IgM pode ser detectado antes do início da icterícia e se manter elevado por um longo período tendo seu pico de elevação entre o 8^o e 30^o após o início da icterícia. O anti-HAV IgG também pode surgir antes do início e se mantém estável a partir do 30^o dia.
4. O melhor período para a utilização do teste rápido para detecção de IgM como triagem de quadro suspeito de hepatite A foi entre o 8^a e o 15^o dia após o início da icterícia.

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: Prevention of hepatitis A after exposure to hepatitis A virus and in international travelers. Updated recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1996. Disponível em <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00048084.htm>. Acessado em 14/12/2014.

Azizi A1, Sirskyj D, Weltzin R, Anderson DE, Diaz-Mitoma F 2009. Rapid detection of anti-hepatitis A virus neutralizing antibodies in a microplate enzyme immunoassay. *J Med Microbiol* 11: 1433-1436.

Ballesteros J, Dal-Re R, Gonzalez A, del Romero J 1996. Are homosexual males a risk group for hepatitis A infection in intermediate endemic areas? *Epidemiol Infect* 117: 145-148.

Bianchi JB 1725. Historia hepatica sen Thoria et praxis omnium morborum hepatitis et bilis. Tom I. De Tournes. *Geneva*. p.1725.

Blyth CC, Booy R, Dwyer DE 2011. Point of care testing: diagnosis outside the virology laboratory. *Methods Mol Biol* 665: 415-433.

Bradley DW, MacCaustland KA, Schreeder MT 1977. Multiple buoyant densities of hepatitis A virus in cesium chloride gradients. *J Med Virol* 2: 219-226.

Braga RCC, Valencia LIO, Medronho RA, Escosteguy CC 2008. Estimativa de áreas de risco para hepatite. A. *Cad Saúde Pública* 24: 1743-1752.

Bromberg K, Newhall DN, Peter G 1982. Hepatitis A and meningoencephalitis. *JAMA* 6: 815.

Bustin SA, Muller R 2005. Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potencial use in clinical diagnosis. *Clin Sci* 109: 365-379.

Catton MG, Locarnini SA 1998. Hepatitis A: epidemiology. In: Zuckerman AJ, Thomas HC, *Viral hepatitis: Scientific basis and clinical management*. 2° ed. Churchill Livingstone. Londres. p. 29-41.

Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) 2006. Manual das doenças transmitidas por alimentos. Disponível em ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/ifnet_hepa06.pdf. Acessado em 09/10/2014.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2006. Prevention of hepatitis A through active or passive immunization, recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practice (ACIP). *MMRW Recomm Rep* 55: 1-24.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2012. Statistics and Surveillance. Disponível em <http://www.cdc.gov/hepatitis/HAV/StatisticsHAV.htm#section1>. Acessado em 14/11/2014.

Cetinkaya B, Tezer H, Özkaya Parlakay A, Revide Sayli T 2014. Evaluation of pediatric patients with hepatitis A. *J Infect Dev Ctries* 8: 326-330.

Chio F Jr, Bakir AA 1992. Acute renal failure in hepatitis A. *Int J Artif Organs* 5: 413-416.

- Cohen JI, Rosenblum B, Ticehurst JR, Daemer RJ, Feinstone SM, Purcell RH 1987. Complete nucleotide sequence of an attenuated hepatitis A virus: comparison with wild-type virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84: 2497-2501.
- Coutinho C, Marroche D, Toscanini C 2007. Is it necessary to investigate anti-hepatitis A virus (HAV) IgM antibodies when the hepatic enzymogram is normal?. *Rev Argent Microbiol.* 39(3):166-9.
- Coura JR 2013. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias.*, 2th ed., Rio de Janeiro, 1736 pp.
- Costa-Mattioli M, Di Napoli A, Ferre V, Billaudel S, Perez-Bercoff R, Cristina J 2003. Genetic variability of hepatitis A virus. *J Gen Virol* 84: 3191–3201.
- Cuthbert JA 2001. Hepatitis A: old and news. *Clin Microbiol Rev* 14: 38-58.
- De Paula VS 2012. Laboratorial Diagnosis of HAV. *Future Virol* 7: 461-472.
- De Paula VS, Villar LM, Morais LM, Lewis-Ximenez LL, Niel C, Gaspar AM 2004. Detection of hepatitis A virus RNA in serum during the window period of infection. *J Clin Virol* 29: 254-259.
- De Paula VS, Baptista ML, Lampe E, Niel C, Gaspar AMC 2002. Characterization of hepatitis A virus isolates from subgenotypes IA and IB in Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Virol* 66: 22-27.
- Dollberg S, Berkun Y, Gross-Kieselstein E 1991. Urticaria in patients with hepatitis A virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 10: 702-703.

Duerksen DR, Jewell LD, Mason AL, Bain VG 1997. Co-existence of hepatitis A and adult Reye's syndrome. *Gut* 41: 121-124.

Dufour DR1, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB 2000. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. *Clin Chem* 46: 2050-2068.

Elinav E, Ben-Dov IZ, Shapira Y, Daudi N, Adler R, Shouval D, Ackerman Z 2006. Acute hepatitis A infection in pregnancy is associated with high rates of gestational complications and preterm labor. *Gastroenterology* 130: 1129-1134.

Fausto EL, Gonçalves CS 2003. Hepatite A. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 387-400.

Feinstone SM, Kapikian AZ, Purceli RH 1973. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a virus like antigen associated with acute illness. *Science* 182: 1026-1028.

Fishman LN, Jonas MM, Lavine JE 1996. Uptodate in viral hepatitis in children. *Ped Clin North Am* 43: 57-74.

Fleischer B, Fleischer S, Maier K, Wiedmann KH, Sacher M, Thaler H, Vallbracht A 1990. Clonal analysis of infiltrating T lymphocytes in liver tissue in viral hepatitis A. *Immunology* 1: 14-19.

Fonseca JC 2010. Histórico das hepatites virais. *Rev Soc Bras Med Trop* 43: 322-330.

- Giboney PT 2005. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician* 71: 1105-10.
- Gordon SC, Patel AS, Veneri RJ, Keskey KA, Korotkin SM 1989. Acute type A hepatitis presenting with hypotension, bradycardia, and sinus arrest. *J Med Virol* 28: 219-222.
- Gravelle CR, Hornbeck CL, Maynard JE, Schable CA, Cook EH, Bradley DW 1975. Hepatitis A: report of a common-source outbreak with recovery of a possible etiologic agent. *J Infect Dis* 131: 167-171.
- Gundersen SG, Bjoernekleit A, Bruun JN 1989. Severe erythroblastopenia and hemolytic anemia during a hepatitis A infection. *Scand J Infect Dis* 2: 225-258.
- Gust ID 1994. Viral hepatitis: Scientific basis and clinical management. *Gut* 35:1679.
- Heiat M, Ranjbar R, Alavian SM 2014. Classical and modern approaches used for viral hepatitis diagnosis. *Hepat Mon* 4: 1-8.
- Hillis WD 1961. An outbreak of infectious hepatitis among chimpanzee handlers at a United States Air Force base. *Am J Hyg* 73: 316-328.
- Hoagland CL, Shank RE 1946. Infectious hepatitis: a review of 200 cases. *JAMA* 130: 615-621.
- Hollinger FE, Emerson SU 2007. Hepatitis A virus. In Knipe DM, Fields Virology, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia p. 911-948.

- Houde A, Guevremont E, Poitras E, Leblanc D, Ward P, Simard C, Trottier YL 2007. Comparative evaluation of new TaqMan real-time assays for the detection of hepatitis A virus. *J Virol Methods* 140: 80-89.
- Huang CH, Kuo LL, Yang KD, Lin PS, Lu PL, Lin CC, Chang K, Chen TC, Lin WR, Lin CY, Chen YH, Wu HS 2013. Laboratory diagnostics of dengue fever: An emphasis on the role of commercial dengue virus nonstructural protein 1 antigen rapid test. *J Microbiol Immunol Infect* 46: 358-365.
- Inman RD, Hodge M, Johnston ME, Wright J, Heathcote J 1986. Arthritis, vasculitis, and cryoglobulinemia associated with relapsing hepatitis A virus infection. *Ann Intern Med* 105: 700-703.
- Jacobsen KH 2009. The global prevalence of hepatitis A virus infection and susceptibility: a systematic review. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Jeong SH, Lee HS 2010. Hepatitis A: clinical manifestations and management. *Intervirology* 53: 15-19.
- Kao HW, Ashcavai M, Redeker AG 1984. The persistence of hepatitis A IgM antibody after acute clinical hepatitis A. *Hepatology* 5: 933-936.
- Kaplan G, Totsuka A, Thompson P, Akatsuka T, Moritsugu Y, Fenistone SM 1996. Identification of a surface glycoprotein on African green monkey kidney cells as a receptor for hepatitis A virus. *EMBO J* 16: 4282-4296.
- Keefe EB 1995. Is hepatitis A more severe in patients with chronic hepatitis B or other chronic liver disease? *Am J of Gastroenterol* 2: 201-205.

- Kim JI, Kim YS, Jung YK, Kwon OS, Kim YS, Ku YS, Choi DJ, Kim JH 2010. Factors influencing the severity of acute viral hepatitis A. *Korean J Hepatol* 16: 295-300.
- Kim MH, Kang SY, Lee Wi 2013. Evaluation of a new rapid test kit to detect hepatitis C virus infection. *J Virol Methods* 93: 379-382.
- Koff RS 1998. Hepatitis A. *Lancet* 351: 1643-1649.
- Kosack CS, Nick S, Shanks L, Nick S 2014. Diagnostic accuracy evaluation of the ImmunoFlow HCV rapid immunochromatographic test for the detection of hepatitis C antibodies. *J Virol Methods* 204: 6-10.
- Krugman S, Friedman H, Lattimer C. Viral hepatitis, type A 1975. Identification by specific complement fixation and immune adherence tests. *New Engl J Med* 22: 1141-1143.
- Krugman S, Giles JP 1970. Viral hepatitis: new light on an old disease. *JAMA* 212: 1019-1029.
- Labrecque FD, Labrecque DR, Klinzman D, Perlman S, Cederna JB, Winokur PL, Han JQ, Stapleton JT 1998. Recombinant hepatitis a virus antigen: improved production and utility for diagnostic immunoassay. *J Clin Microbiol* 36: 2014-2018.
- Laird DT, Sun Y, Reineke KF, Shieh YC 2011. Effective hepatitis A virus inactivation during low-heat dehydration of contaminated green onions. *Food Microbiol* 5: 998-1002.

LeDuc JW, Lemon SM, Keenan CM, Graham RR, Marchwicki RH, Binn LH 1983. Experimental infection of the new world owl monkey (*Aotus trivirgatus*) with hepatitis A virus. *Infect Immun* 2: 766-772.

Lee HJ, Jeong HS, Cho BK, Ji MJ, Kim JH, Lee AN, Lee KR, Cheo DS 2010. Evaluation of an immunochromatographic assay for the detection of anti-hepatitis A virus IgM. *Virology* 7: 164.

Lesnicar G 1988. A prospective study of viral hepatitis A and the question of chronicity. *Hepatogastroenterology* 35: 69-72.

MacCallum, FO, Bradley WH, 1944. Transmission of infective hepatitis to human volunteers. *Lancet* 2: 222:228.

McCaustland KA, Bond WW, Bradley DW, Ebert JW, Maynard JE 1982. Survival of hepatitis A virus in feces after drying and storage for 1 month. *J Clin Microbiol* 16:957-968.

Manangeeswaran M, Jacques J, Tami C, Konduru K, Amharref N, Perrella O, Casasnovas JM, Umetsu DT, Dekruyff RH, Freeman GJ, Perrella A, Kaplan GG 2012. Binding of hepatitis A virus to its cellular receptor 1 inhibits T-regulatory cell functions in humans. *Gastroenterology* 7: 1516-1525.

Mandell LG, Bennet JL, Dolin R 2010. *Principles and practice of infectious diseases*. 7th ed, New York, p. 4327.

Ministério da Saúde 2006. Manual do Centro de Referências para Imunobiológicos Especiais. Disponível em http://www.infectologia.org.br/anexos/MS_PNI_manual%20CRIE%202006.pdf. Acessado em 14/12/2014.

Matheny SC, Kingey JE 2012. Hepatitis A. *Am Fam Physician* 11: 1027-1034.

Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H 2014. *Hepatology: A Clinical Textbook*. 5ª Ed, Frankfurt, p. 612.

McCaustland KA, Bond WW, Bradley DW, Ebert JW, Maynard JE 1982. Survival of hepatitis A virus in feces after drying and storage for 1 month. *J Clin Microbiol* 5: 957-8.

Melnick JL 1982. Classification of Hepatitis A virus as enterovirus type 72 and of hepatitis B virus as heptnavirus type 1. *Intervirol* 3: 105-106.

Ministério da Saúde 2005. A, B, C, D, E de Hepatites para Comunicadores. Disponível em http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/hepatites_abcde.pdf. Acessado em 16/11/2014.

Ministério da Saúde 2012. Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais. Disponível em http://www.aids.gov.br/publicacao/2012/boletim_de_hepatites_virais_2012. Acessado em 16/11/2014.

Ministério da Saúde. Portaria Nº 2, de 18 de janeiro de 2013. Torna pública a decisão de incorporar a vacina de hepatite A na rotina do Programa Nacional de Imunização do Sistema Único de Saúde (SUS). D.O.U. de 21 de janeiro de 2013, seção 1, p.69. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/vacina-hepatites>. Acessado em 20/12/2014.

Ministério da Saúde 2014. Hepatite A. Disponível em www.aids.gov.br/pagina/hepatite-a. Acessado em 11/11/2014.

Minor P, Francki, RIB, Fauquet CM, Knudson DL, Brown F 1991. Picornaviridae. Classification on nomenclature of viruses. *Arch Virol* 2: 320-326.

Morais LM, De Paula VS, Arantes MR 2006. Early infection and asymptomatic spread of hepatitis A virus in a public child care center in Rio de Janeiro, Brazil: should attending children under two years of age be vaccinated? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 4: 401-405.

Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS 2006. Diagnosis of hepatitis A virus infection: a molecular approach. *Clin Microbiol Rev* 1: 3-79.

Nalbantoglu B, Donma MM, Ozdilek B, Karasu E, Nalbantoglu A 2013. *Iran J Pediatr* 3: 276-280.

Nüesch JP, Weitz M, Siegl G 1993. Proteins specifically binding to the 3' untranslated region of hepatitis A virus RNA in persistently infected cells. *Arch Virol*. 128: 65-79.

O'Grady J 1992. Management of acute and fulminant hepatitis A. *Vaccine* 10: 21-23.

Pal S, Dauner AL, Mitra I, Forshey BM, Garcia P, Morrison AC, Halsey ES, Kochel TJ, Wu SJ 2014. Evaluation of dengue NS1 antigen rapid tests and ELISA kits using clinical samples. *Plos One* 9: e113411.

Pal S, Dauner AL, Valks A, Forshey BM, Long KC, Thaisomboonsuk B, Sierra G, Picos V, Talmage S, Morrison AC, Halsey ES, Comach G, Yasuda C, Loeffelholz M, Jarman RG, Fernandez S, An US, Kochel TJ, Jasper LE, Wu SJ 2015. Multi-country prospective clinical evaluation of two ELISAs and two rapid diagnostic tests for diagnosing dengue fever. *J Clin Microbiol* 2015 (no prelo).

Purcell RH, Emerson SU 2001. Animal models of hepatitis A and E. *ILAR J* 2: 161-177.

Raabe VN, Sautter C, Chesney M, Eckerle JK, Howard CR, John CC 2013. Hepatitis A screenig for internationally adopted children from hepatitis A endemic countries. *Clin Pediatr* 53: 31-37.

Reuben A 2002. The thin red line. *Hepatology* 36: 770-773.

Robertson BH, Jansen RW, Khanna B, Totsuka A, Nainan OV, Siegl G, Widell A, Margolis HS, Isomura S, Ito K, Ishizu T, Moritzugu Y, Lemon SM 1992. Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J Gen Virol* 73: 1365–1377.

Routenberg JA, Dienstagl, Harrison WO, Kilpatrick ME, Hooper RR, Chisari FV, Purcell RH, Fornes MF 1979. Food born outbreak of hepatitis a: clinical and laboratory features of acute and protracted illness. *N Am J Med Sci* 2: 1123-1137.

Shao ZJ, Xu DZ, Yan YP, Li JH, Zhang ZY, Pan BR 2003. Detection of anti-HAV antibody with dot immunogold filtration assay. *World J Gastroenterol* 9: 1508-1511.

Sánchez-Vargas LA, Sánchez-Marce EE, Vivanco-Cid H 2014. Evaluation of the SD BIOLINE Dengue Duo rapid test in the course of acute and convalescent dengue infections in a Mexican endemic region. *Diagn Microbiol Infect Dis* 78: 368-372.

Santos MV, Lopes MH 1997. Vacina inativada contra a hepatite A: revisão da literatura e considerações sobre seu uso. *Rev Soc Bras Med Trop* 2: 30:32.

Sartori AM, de Soárez PC, Novaes HM, Amaku M, de Azevedo RS, Moreira RC, Pereira LM, Ximenes RA, Martelli CM 2012. Cost-effectiveness analysis of universal childhood hepatitis A vaccination in Brazil: regional analyses according to the endemic context. *Vaccine* 30: 7489-7497.

Sata M, Nakano H, Kumashiro R, Susuki H, Tanikawa K 1996. Analysis of serum hepatitis A virus antibody response in different courses of hepatitis A virus infection. *J Gastroenterol* 31: 812-817.

Schiff ER 1992. Atypical clinical manifestations of hepatitis A. *Vaccine* 10: 18:20.

Secretaria de Saúde do Estado de Minas Gerais. Disponível em: <http://www.saude.mg.gov.br/servidor/informacoes-estrategicas-de-vigilancia-em-saude>. Acessado em 18/11/2014.

Schmidt L, Zacheval R, Diepolder H, Kolligs FT 2011. Hepatitis A - combined prolonged biphasic and cholestatic course of disease. *Dtsch Med Wochenschr* 136: 1057-1059.

Stapleton JT 1995. Host immune response to hepatitis virus. *J Infect Dis* 171: 9-14.

Tassopoulos NC, Papaevangelou GJ, Ticehurst JR, Purcell RH 1996. Fecal excretion of Greek strains of hepatitis A virus patients with hepatitis A and experimentally infected chimpanzees. *J Infect Dis* 2: 231-237.

Tesar M1, Harmon SA, Summers DF, Ehrenfeld E 1992. Hepatitis A virus polyprotein synthesis initiates from two alternative AUG codons. *Virology* 186: 609-618.

Ticehurst JR, Racaniello VR, Baroudy BM, Baltimore D, Purcell RH, Feinstone SM 1983. Molecular cloning and characterization of hepatitis A virus cDNA. *Proc Nat Acad Sci* 19: 5885-5889.

Vaughan G, Rossi LMG, Joseph C, Forbi, De Paula VS, Michael AP, Xia G, Khudyakov YE 2014. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology and evolution. *Infect Genet Evol* 21: 227-243.

Voegt H. 1942. The etiology of epidemic hepatitis. *Muenchener Medizinische Wochenschrift* 89: 76-79.

Willner IR, Uhl MD, Howard SC, Williams EQ, Riely CA, Waters B 1998. Serious hepatitis A: an analysis of patients hospitalized during an urban epidemic in the United States. *Ann Intern Med* 128: 111-114.

WHO 2007. Global alert and response. Disponível em <http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsredc2007/en/index4.html>. Acessado em 22/11/2014.

WHO 2014. Hepatitis A. Factsheet 238. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs328/en>. Acessado em 22/11/2014.

Yang NY, Yu PH, Mao ZX, Chen NL, Chai SA, Mao JS 1988. Inapparent infection of hepatitis A virus. *Am J Epidemiol* 127: 599-604.

8. ANEXO

8.1. Parecer Consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Aplicabilidade do teste rápido para hepatite A

Pesquisador: LIA LAURA LEWIS-XIMENEZ

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30350614.5.0000.5248

Instituição Proponente: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 699.749

Data da Relatoria: 10/06/2014

Apresentação do Projeto:

A hepatite A é a causa mais comum de hepatite viral no mundo. A sua transmissão é oral e está associada com condições higiênico sanitárias insatisfatórias, sendo comum a ocorrência de pequenos surtos intradomiciliares.

O diagnóstico laboratorial é realizado principalmente através da detecção de anticorpos anti-HAV por métodos sorológicos. Apesar de existirem testes rápidos simples e de baixo custo para detecção destes anticorpos, os mesmos não fazem parte da rotina diagnóstica da hepatite A. Estes testes rápidos poderão ser utilizados em inquéritos epidemiológicos para identificação de pacientes assintomáticos ou como instrumento em bloqueio de surtos ao identificar casos que necessitem de vacinação, assim como no auxílio ao diagnóstico diferencial de quadro icterico agudo.

Metodologia: Será realizado um estudo retrospectivo com dados secundários. Os dados analisados serão de pacientes com diagnóstico confirmado de hepatite A e seus contactantes intradomiciliares em 2012.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 699.749

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a aplicabilidade de ensaio imunocromatográfico (teste rápido) para o diagnóstico da hepatite A em uma coorte de pacientes com quadro agudo de hepatite e seus contactantes durante o acompanhamento no Ambulatório de Hepatites Virais do IOC/Fiocruz.

Objetivo Secundário:

1. Avaliar a associação entre os resultados do teste rápido e os principais achados clínicos (icterícia, colúria, hipocolia fecal) dos pacientes com hepatite A;

2. Avaliar a relação entre os resultados do teste rápido com o curso clínico da infecção, por meio da duração da icterícia e desses sintomas;

3. Comparar os resultados do teste rápido com os níveis sérios de transaminases durante o acompanhamento (30, 90 e 180 dias do início do quadro) dos pacientes com hepatite A;

4. Comparar os resultados do teste rápido com um ensaio imunoenzimático comercial para detecção de anticorpos anti-HAV IgM e IgG durante o acompanhamento dos pacientes com hepatite A (30, 90 e 180 dias do início do quadro).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não há riscos físicos envolvidos para voluntários de pesquisa, o estudo é retrospectivo e utiliza dados secundários de um banco de dados. Serão garantidos o sigilo e a confidencialidade dos dados devido ao acesso restrito pela pesquisadora médica assistente bem como pela codificação dos dados armazenados.

Benefícios: Este projeto de pesquisa não oferece benefícios diretos aos pacientes. Porém, os resultados obtidos neste estudo irão contribuir para um maior conhecimento científico sobre a aplicabilidade do teste rápido no diagnóstico da hepatite A.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Nessa segunda versão do projeto, a pesquisadora responsável respondeu aos questionamentos listados no parecer 648.431 datado de 15 de maio de 2014.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 699.749

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos apresentados: folha de rosto, projeto completo, carta de dispensa do TCLE.

Recomendações:

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável do pesquisador principal.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deve ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP FIOCRUZ/IOC), em sua 194ª Reunião Ordinária, realizada em 10.06.2014, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

RIO DE JANEIRO, 26 de Junho de 2014

Assinado por:
José Henrique da Silva Pilotto
(Coordenador)

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Página 03 de 03