

SABRINA MONTEIRO TOSONCIN DA SILVA

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA
HEPATITE E (HEV) EM INDIVÍDUOS EXPOSTOS A SUÍNOS
DE REGIÕES RURAIS DE MATO GROSSO, BRASIL.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ORIENTADOR: DR. FRANCISCO JOSÉ DUTRA SOUTO

CUIABÁ-MT

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**Prevalência de anticorpos contra o vírus da hepatite E (HEV) em
indivíduos expostos a suínos de regiões rurais de
Mato Grosso, Brasil.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde – Área de Concentração: Doenças infecciosas e tropicais

Sabrina Monteiro Tosoncin da Silva
Orientador: Dr Francisco José Dutra Souto

CUIABÁ-MT

2011

O importante é não parar de questionar.

A curiosidade tem sua própria razão de existir.

Albert Einstein.

Dedicatória

Aos meus pais Benito Tosoncin e Anna Monteiro Tosoncin. Quero dedicar este trabalho a vocês que abdicaram de muitos sonhos para me dar, além do amor, a maior e melhor herança que se pode dar a um filho, os estudos.

Aos meus filhos Eduardo e Enzo, motivos de alegria e amor.

Ao meu marido, Evandro César da Silva pelo amor e compreensão em todos os momentos que precisei.

Agradecimentos

A Deus, sempre colocando as pessoas certas no momento certo, em todos os dias da minha vida.

Aos meus sogros Jairo Tarcísio da Silva e Eliza Aparecida Cassim da Silva, pela colaboração, apoio e incentivo aos meus estudos. Obrigada pela dedicação aos netos nas minhas ausências.

A todos os meus familiares, especialmente aos tios Mario Sérgio Covezzi, Norly Conceição Monteiro Covezzi, e Maria Monteiro da Silva, por todo apoio e carinho dedicado aos sobrinhos, durante os meus estudos.

À Eva de Araújo Godoi, pelo suporte dado à minha família.

Ao meu orientador Prof. Dr. Francisco José Dutra Souto, obrigada pela confiança depositada, paciência e compreensão. Meu eterno agradecimento por compartilhar comigo o seu conhecimento. Você é um exemplo de ser humano profissional e professor.

Aos professores Dr. Cor Jesus Fernandes Fontes, Dra. Rosane Christine Hahn e Dra. Renata Dezengrini Shessarenko, professores com excelência no ensino. Obrigada por todos os ensinamentos recebidos.

Às amigas e colegas que me ajudaram sem medir esforços durante as coletas de dados, Joselina Maria da Silva, Elisângela Fátima do Espírito Santo Rosa, Darci Moisés da Silva, Glória Maria de Moraes, Euraidés Barros da Rosa, Zaíra Batista da Silva.

Ao Sr. Benedito Getúlio do Espírito Santo por me acompanhar nas visitas, sempre com bom humor.

Ao Diretor do MT LABORATÓRIO Dr. Marcelo Adriano Mendes dos Santos, ao Secretário de Agricultura e Desenvolvimento Rural Dr. Neldo Egon, à presidente substituta do INDEA-MT, Dra Maria Auxiliadora Diniz, à diretora técnica do HEMOCENTRO-MT, Dra. Carla Marques Rondon Campos, pelo apoio institucional. Aos funcionários dessas instituições, pela atenção recebida.

Ao Dr. Marcelo Alves Pinto, chefe do laboratório de desenvolvimento tecnológico em virologia IOC-Fiocruz e à Dra. Cláudia Lamarca Vitral, pela viabilização do processamento das amostras.

Às minhas amigas Aparecida Duarte HG Mussi e Marly Pinto de Matos, que me incentivaram e apoiaram em todos os momentos.

Aos colegas de mestrado da UFMT/2009, a convivência com vocês tornou a caminhada mais agradável, em especial a amiga Doracilde Terumi Takahara, pelos bons momentos.

Aos trabalhadores rurais e doadores de sangue, obrigada por aceitarem participar deste estudo.

Sumário

1.	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	O vírus da hepatite E.....	20
1.2	Transmissão e distribuição mundial do HEV.....	23
1.3	Heterogenidade genética.....	24
1.4	Manifestações clínicas, patogenia e imunidade ao HEV.....	27
1.5	Diagnóstico sorológico.....	31
1.6	Tratamento e profilaxia.....	34
1.7	Prevalência de anti-HEV em humanos.....	35
1.8	Dados sobre a infecção pelo HEV em animais.....	38
1.9	Infecção causada por ingestão de carne infectada.....	41
1.10	Exposição ocupacional ao HEV.....	42
1.11	O Estado de Mato Grosso.....	43
2.	JUSTIFICATIVA.....	45
3.	OBJETIVOS.....	46
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1	População estudada.....	47
4.2	Tipo de estudo e tamanho da amostra.....	48

4.3	Critérios de exclusão.....	50
4.4	Parâmetros para comparação com meio urbano.....	50
4.5	Fase laboratorial.....	50
4.5.1	Detecção de anticorpos anti-HEV IgG nos participantes.....	50
4.5.2	Interpretação do teste ELISA HEV MPD.....	52
4.6	Aspectos éticos.....	53
4.7	Procedimento de análise dos resultados.....	53
4.7.1	Definição das variáveis de estudo.....	53
4.7.1.1	Variáveis dependentes.....	53
4.7.1.2	Variáveis Independentes.....	53
4.7.1.3	Descrição de algumas das variáveis estudadas.....	54
4.8	Processamento de dados.....	55
5.	RESULTADOS.....	57
5.1	Descrições da população de estudo.....	57
5.1.1	Características demográficas.....	57
5.1.2	História patológica pregressa.....	58
5.1.3	Características gerais das condições sanitárias dos participantes.....	59
5.1.4	Tipo de propriedade e tempo de exposição aos suínos.....	59
5.2	Prevalências do anti-HEV	61
5.2.1	Presença de anti-HEV IgG entre os doadores de sangue.....	61

5.3	Presença de anti-HEV quanto as variáveis independentes.....	61
5.3.1	Frequência das variáveis demográficas quanto a presença do anti- HEV IgG.....	61
5.3.2	Presença de anti-HEV e histórico de saúde.....	62
5.3.3	Presença de anti-HEV e variáveis sanitárias.....	63
5.3.4	Presença de anti-HEV em relação ao tipo de propriedade e exposição a animais.....	63
5.4	Análises ajustada das variáveis associadas ao anti-HEV na análise univariada.....	64
6.	DISCUSSÃO.....	66
7.	CONCLUSÃO.....	72
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

APÊNDICES

Apêndice 1 – Roteiro do cadastro da propriedade rural.....	82
Apêndice 2 – Roteiro do questionário de acompanhamento individual.....	83
Apêndice 3 – Termo de consentimento livre e esclarecido de expostos e doadores.....	85
Apêndice 4 – Resultado dos exames positivo e negativo.....	86

ANEXOS

Anexo 1- Carta de aprovação do projeto de pesquisa do Comitê de Ética.....	88
--	----

Anexo 2 – Carta de autorização de coleta da amostra no HEMOCENTRO-MT.....	89
Anexo 3 – Carta de autorização do INDEA-MT para visitas de propriedades rurais.....	90
Anexo 4 – Carta de aceite do LACEN-MT para armazenamento das amostras coletadas.....	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Diversidade dos genótipos do HEV em hospedeiros naturais e experimentais.....	27
Tabela 2- Características da hepatite E em humanos.....	28
Tabela 3- Prevalência de anti-HEV IgG nas diferentes regiões do Brasil.....	38
Tabela 4- Distribuição das características demográficas em 310 participantes expostos aos suínos, Mato Grosso, 2009-2010.....	58
Tabela 5- Frequência de icterícia, histórico intrafamiliar de hepatite e transfusão de sangue nos participantes.....	59
Tabela 6- Variáveis sanitárias e relacionadas com exposição a animais e dos participantes...	60
Tabela 7- Análise de associação dos fatores demográficos e presença de anti-HEV IgG nos 310 participantes expostos a suínos, Mato Grosso, 2009-2010.....	62
Tabela 8- Análise patológica progressiva de pessoas expostas a suínos em relação a presença de anti-HEV IgG, Mato Grosso, 2009-2010.....	63
Tabela 9- Análise dos fatores sanitários de pessoas expostas a suínos em relação a presença de anti-HEV IgG, Mato Grosso, 2009-2010.....	64
Tabela 10- Análise do tipo de exposição ocupacional a suínos e presença de anti-HEV IgG, Mato Grosso, 2009-2010.....	65
Tabela 11- Análise multivariada para ajuste de variáveis inicialmente associadas ao anti-HEV entre trabalhadores da zona rural de Mato Grosso, 2009-2010.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Organização do genoma e das proteínas do HEV.....	21
Figura 2	Distribuição mundial da hepatite E.....	24
Figura 3	Marcadores sorológicos do HEV.....	29
Figura 4	Macrorregiões do Estado de Mato Grosso e municípios visitados.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS

Abbot EIA: kit comercial imunoenzimático da Abbot

Anti-HEV: anticorpos contra o vírus da hepatite E

ALT: alanino transaminase

CDC: *Center for disease control*

CO: *cut-off*

DO: densidade ótica

ORF: *Open Reading Frame* (região de leitura aberta)

ELISA: *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

EIA: ensaio imunoenzimático

EPIDATA: *The Epidata Association Dinamarca*

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz

GDL EIA: kit comercial imunoensaio enzimático Genelabs

HAV: vírus da hepatite A

HEV: vírus da hepatite E

HUJM: Hospital Universitário Julio Muller

IATA: Associação de transporte aéreo internacional.

IgA: imunoglobulina A

IgG: imunoglobulina G

IgM: imunoglobulina M

INDEA-MT: Instituto de Desenvolvimento Agropecuário de Mato Grosso

IOC: Instituto Oswaldo Cruz

IC95%: intervalo de confiança de 95%

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LACEN-MT: Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso

ME: microscopia eletrônica

MIKROGEN ReComBlot: kit comercial immunoblot da Mikrogen

MPD HEV ELISA: kit comercial de ensaio imunoenzimático da MP Diagnostics, anteriormente Genelabs.

MT LABORATÓRIO: Laboratório de Saúde Pública de Mato Grosso

NANB: não A, não B.

NS: região não estrutural

OR: *odds ratio* (razão de odds, razão de produtos cruzados, razão de chance)

OPD: Ortho-fenilenodiamina

P: prevalência

PCR: reação em cadeia pela polimerase

RT: transcriptase reversa

RNA: ácido ribonucléico

RNAase: enzima degradadora de RNA

TMB: tetrametilbenzidina

UFMT: Universidade Federal de Mato Grosso

ULN: limite máximo do normal

vs: versus (contra)

WANTAI: kit comercial de ensaio imunoenzimático, China.

WRAIR EIA: kit comercial imunoenzimático Walter Reed Army Institute of Research.

RESUMO

A infecção pelo vírus da hepatite E (HEV) em humanos e em outros mamíferos ocorre através da água, de alimentos contaminados ou por ingestão de carne de animais infectados. Os suínos são os animais mais estudados, apresentando prevalência de anticorpos contra hepatite E (anti-HEV) muito elevada em criações de todos os continentes. Com intuito de estimar a prevalência de anti-HEV IgG entre os moradores da zona rural de Mato Grosso expostos a suínos, foi realizado um estudo descritivo transversal em 7 municípios e 54 propriedades rurais do Estado. A amostra contou com 310 participantes expostos ocupacionalmente aos suínos com média de idade de 39 anos, dentre estes 51,0% pertenciam ao sexo feminino. Vinte e seis (8,4%) deles eram positivos para anti-HEV. Paralelamente foram estudados 101 doadores de sangue da região urbana da capital do Estado. Quatro (4,0%) desses indivíduos também eram positivos para o anti-HEV. Ao se comparar os participantes expostos aos suínos anti-HEV positivos com os anti-HEV negativos, notou-se tendência de associação com idade crescente, história de transfusão de sangue e contato com outras criações de animais. No entanto, após ajuste por regressão logística, essa associação não foi observada. Em conclusão, a positividade para anti-HEV IgG em moradores expostos a suínos da área rural de Mato Grosso foi semelhante à encontrada em outros estudos brasileiros, não caracterizando esse tipo de exposição como fator de risco para infecção pelo HEV nesta região.

Palavras-chave: Epidemiologia; Animais domésticos; Trabalhador rural; Vírus da hepatite E.

ABSTRACT

Infection with hepatitis E virus (HEV) occurs in humans and other mammals through water and contaminated food or by eating meat from infected animals. Swine are the best studied, showing very high prevalence of antibodies against hepatitis E (anti-HEV) in creations from all continents. In order to estimate the prevalence of anti-HEV IgG among residents of rural Mato Grosso, exposed to swines, an transversal study was conducted in seven municipalities and 54 farms in the state. The sample included 310 participants occupationally exposed to pigs with a mean age of 39 years, among them 51.0% were female. Twenty-six (8,4%) subjects were positive for anti-HEV. In parallel group of 101 blood donors from the urban region of the capital city of the state were also tested for anti-HEV. Four (4,0%) out of them were positive. When comparing subjects exposed to swine anti-HEV positive with those who were anti-HEV negative was noted a trend of association between anti-HEV positivity and increasing age, history of blood transfusion and contact with other herds of animal species. However, after adjustment by logistic regression, this association was not observed. In conclusion, the positivity for anti-HEV IgG in pigs exposed to residents of the rural area of Mato Grosso was similar to that found in other Brazilian studies, not characterizing this kind of exposure as a risk factor for HEV infection in this region.

Keywords: Epidemiology; Domestic animals; Farm worker; Hepatitis E virus.

1. INTRODUÇÃO

A hepatite E é uma doença viral aguda de transmissão fecal-oral causada pelo vírus da hepatite E (HEV). Esta infecção é responsável por uma proporção significativa de hepatite viral de transmissão entérica em evolução endemo/epidêmica em certas regiões tropicais e subtropicais onde o acesso à água potável é inexistente. Nas regiões onde é endêmica, a infecção pelo HEV pode surgir na forma de casos esporádicos ou de epidemias, relacionadas às péssimas condições higiênicas e sanitárias de populações pobres de países em desenvolvimento (Dalton et al, 2008; Mansuy et al, 2008).

Em regiões consideradas não endêmicas, como nos países industrializados, são relatados casos esporádicos de infecção pelo HEV em pessoas com histórico de viagens para regiões endêmicas. Entretanto, vários relatos demonstram que o número de casos autóctones de hepatite E em pessoas sem histórico de viagens para regiões endêmicas tem aumentado ao longo dos anos (Clemente-Casares et al, 2003; Galiana, Fernández-Barredo, Pérez-Gracia, 2010; Pavio e Mansuy, 2010a). Nestes países, tem sido relatada uma soroprevalência superior à esperada para anticorpos contra o HEV (anti-HEV) de classe IgG, em doadores de sangue (Boutrouille et al, 2007; Galiana, Fernández-Barredo, Pérez-Gracia, 2010).

A taxa de mortalidade pelo HEV na população é baixa, sendo maior em mulheres grávidas onde são encontrados valores superiores a 20% (Purcell e Emerson, 2001; Navaneethan, Mohajer, Shata, 2008; Begun et al, 2010).

Os primeiros casos humanos reconhecidos da doença aconteceram em uma grande epidemia de hepatite de veiculação hídrica, ocorrida em Nova Delhi (Índia), de 1955 a 1956 (Vishwanathan, *apud* Chandra et al, 2008). Inicialmente, a epidemia foi atribuída à hepatite A, porém, testes realizados posteriormente com soros armazenados desta epidemia, e de outro surto ocorrido entre 1978-1979 na Caxemira (Índia), não demonstraram marcadores

sorológicos específicos para hepatite A ou para hepatite B. Assim, um novo agente de hepatite viral foi reconhecido e a nova doença foi nomeada provisoriamente como hepatite não- A, não- B. Este fato aumentou as evidências da existência de uma nova forma entérica de hepatite viral transmitida pela água, e mais tarde esta hepatite foi designada como hepatite E (Purcell e Emerson, 2001). Epidemias similares foram posteriormente identificadas na Ásia Central, Oriente Médio e Norte da África (Maila, Bowyer, Swanepoel, 2004; Chandra et al, 2008). O vírus só foi visualizado em 1983, por microscopia eletrônica (ME), nas fezes de um voluntário previamente infectado com material fecal de pacientes com suspeita de hepatite de transmissão entérica classificada inicialmente como hepatite não- A, não- B (Balayan et al, 1983). O diagnóstico dos casos era tecnicamente difícil pela ausência de um sistema adequado e eficaz de cultivo celular do HEV. Além disso, a quantidade de partículas de vírus visualizadas por ME nas fezes, durante a fase aguda, era relativamente baixa. Assim, baseado em sorologia limitada e por exclusão sorológica do vírus da hepatite A (HAV), outros casos esporádicos, não associados aos surtos, puderam ser identificados (Khuroo et al, 1983).

Tam et al (1991) obtiveram sucesso na clonagem e sequenciamento do vírus nomeando-o como o vírus da hepatite E (HEV). Desta forma, a entidade clínica das hepatites não-A, não- B de transmissão entérica, responsáveis por epidemias de hepatite aguda em países com condições sanitárias precárias, foi definida como hepatite E.

Em 1997, a primeira cepa animal de HEV foi identificada e caracterizada em suínos dos Estados Unidos. Os autores descobriram, por acaso, que a maioria dos suínos adultos investigados nos Estados Unidos estavam positivos para IgG anti-HEV, sugerindo que esses animais estavam expostos a uma agente HEV semelhante ao humano. Dessa forma, um novo vírus geneticamente semelhante ao HEV humano, chamado HEV suíno, pode ser clonado e caracterizado a partir de suínos infectados naturalmente (Meng et al, 1997).

Para identificar o agente responsável pela soropositividade nos suínos, um estudo prospectivo foi realizado em uma granja comercial de Illinois (EUA). Vinte leitões nascidos de porcas anti-HEV IgG soropositivas e soronegativas, de uma única propriedade criadora de suínos, foram monitorados por mais de cinco meses. Até 21 semanas de idade, 16 dos 20 leitões monitorados sofreram soroconversão para anti-HEV IgG e, posteriormente, um novo vírus genética e antigenicamente muito semelhante ao HEV de humanos, designado HEV suíno, foi clonado e caracterizado molecularmente, a partir dos leitões infectados naturalmente (Meng et al, 1998b).

Em 1990, a infecção experimental por HEV foi reproduzida pela primeira vez em suínos domésticos jovens a partir de uma cepa humana (Balayan et al, 1990). Posteriormente foi demonstrado que isolados de HEV suíno apresentavam grande homologia com cepas humanas de HEV encontradas mundialmente (Huang, Haqshenas e Shivaprasad, 2002; Takahashi et al, 2004; Okamoto, 2007).

Anticorpos contra HEV, já foram encontrados em outras espécies de animais como cães, bovinos, caprinos, aves e mamíferos silvestres (Arankalle et al, 2001; Hasqshenas et al, 2001; Vitral et al, 2005; Paiva et al, 2007). Os suínos são os animais mais frequentemente estudados em relação à infecção pelo HEV (Meng et al, 1997; Guimarães et al, 2005; dos Santos et al, 2009). Nos suínos, não são observadas manifestações clínicas sugerindo que, nesses animais, a virose é assintomática (Pavio e Mansuy, 2010a).

Após a descoberta de que o HEV pode infectar várias espécies de mamíferos, surgiu a hipótese de que os casos autóctones em países não endêmicos poderiam ser consequência de transmissão zoonótica (Purcell e Emerson, 2001; Vitral et al, 2005; Pavio e Mansuy, 2010a). Esse aspecto levou ao ressurgimento do interesse mundial da infecção produzida pelo HEV (Aggarwal e Naik, 2009). A hepatite E é, portanto, considerada uma zoonose. Estudos têm demonstrado que suínos domésticos, javalis selvagens e outras espécies

de animais são reservatórios para HEV (Meng, 2010b).

1.1 O vírus da hepatite E

O vírus da hepatite E (HEV) atualmente é classificado como único membro da Família *Hepeviridae*, gênero *Hepevirus* (Emerson, Arankalle e Purcell, 2005; ICTV, 2009). Com as recentes identificações de diferentes genótipos do HEV, em diferentes espécies de animais, sua taxonomia está ainda por ser completamente definida (Meng et al, 2010a).

Os vírions do HEV são pequenos, não envelopados e possuem 30-34 nm de diâmetro, e capsídeo com simetria icosaédrica. O genoma do HEV (Figura 1) consiste em uma molécula de RNA fita simples de sentido positivo com aproximadamente 7.2 Kb. Essa molécula é limitada em uma das extremidades pela região 5', que contem a estrutura CAP, e na outra extremidade pela região 3', que possui um poli (A). Este genoma possui três sequências abertas de leitura (ORF1, ORF2, ORF3), que originam proteínas estruturais e não estruturais do vírus (Tam et al, 1991). No citoplasma celular, a ORF1 localizada próxima à extremidade 5' do RNA genômico, é traduzida para produzir uma poliproteína que, após clivagem, origina as proteínas não estruturais com atividade enzimática, envolvidas na replicação, transcrição e processamento das proteínas (Emerson e Purcell, 2007b; Chandra et al, 2008). Moléculas de RNA mensageiro subgenômico são transcritas da cópia negativa do RNA para produzir as proteínas da ORF2 e ORF3. A ORF2, localizada próxima da porção 3' do genoma, codifica a proteína do capsídeo viral, que contem epítomos imunogênicos, indutores de anticorpos neutralizantes que constituem um alvo para o desenvolvimento de vacinas (Meng, 2010b). A ORF3 se sobrepõe à ORF1 por um nucleotídeo em sua porção 5' e estende-se 325-328nt sobre a ORF2 e codifica uma proteína regulatória, essencial para infectividade do vírus “*in vivo*”. Porém, a proteína da ORF3 não é necessária para a replicação

do vírus, montagem do vírion ou para infecção em cultivo celular (Emerson e Purcell, 2007b; Chandra et al, 2008). As funções dessa proteína ainda não estão bem definidas, existindo três funções propostas: i) promoção de sobrevivência celular, ii) ação moduladora de resposta imune durante a fase aguda da infecção, iii) promoção da secreção de uma proteína imunossupressora que pode agir na vizinhança da célula infectada (Okamoto, 2007).

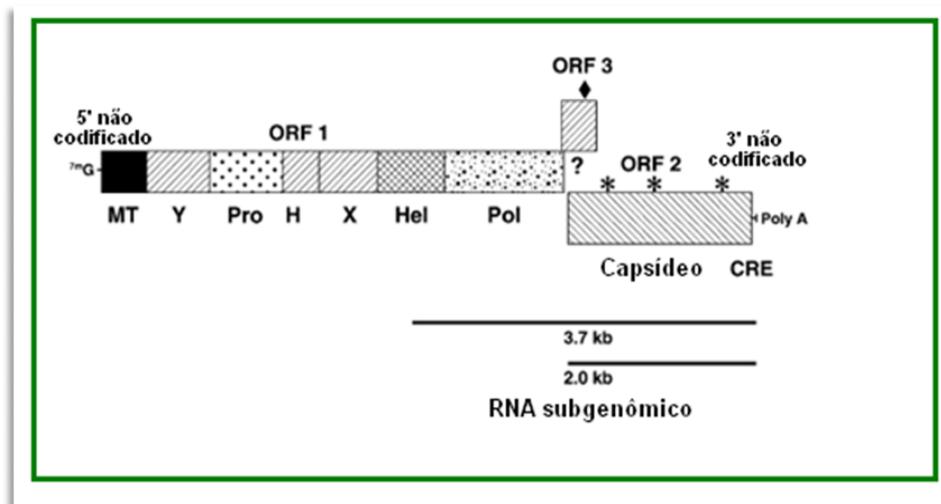


Figura 1. Organização do genoma e das proteínas do HEV (Purcell et al, 2008)

O gênero *Hepevirus* contém duas espécies (i) o HEV de mamíferos, que causa doença principalmente em humanos, podendo acometer outras espécies de mamíferos, como suínos e macacos (Balayan et al, 1990; Meng et al, 1997; Aggarwal e Naik, 2001; Meng, 2010a). (ii) O HEV de aves, que é responsável por esplenomegalia e hepatomegalia nesses animais (Haqshenas et al, 2001; Huang et al, 2002). As análises filogenéticas indicam que o HEV aviário possui aproximadamente 50% de similaridade com o HEV de mamíferos, portanto, seria um vírus distinto, sendo mais apropriado classificá-lo em um gênero dentro da família *Hepeviridae* (Meng, 2010a).

Nas análises de sequências genômicas, observam-se quatro genótipos (1, 2, 3, 4). Os genótipos e subtipos são úteis na compreensão dos fenômenos epidemiológicos, como a área geográfica de propagação do vírus e sua transmissão na comunidade.

O consumo de carne crua ou mal cozida tem sido a forma mais comum de transmissão, nos casos esporádicos que ocorrem em países desenvolvidos não endêmicos (Dalton et al, 2008).

Emerson, Arankalle e Purcell (2005), utilizaram o processo de aquecimento para avaliar a estabilidade térmica do vírus HEV. Para determinar a taxa de inativação, o HEV (a partir de um isolado da Índia genótipo 1) foi aquecido a 56°C durante 0, 15, 30 e 60 minutos e posteriormente inoculado em um sistema de cultura de células. Verificou-se que 96% das partículas virais foram inativadas em 15 minutos, porém 1% das partículas continuava infectivas, mesmo após os 60 minutos de aquecimento.

Para observar o tempo e a temperatura de inativação, o fígado de suíno positivo para HEV foi aquecido (56°C por 1 hora), frito (191°C por 5 min., temperatura interna= 71°C) e fervido em água por 5 minutos. Apenas o tecido contaminado mantido aquecido a uma temperatura constante de 56°C por 1 hora permaneceu infectado, sugerindo que a infectividade pode ser inativada com cozimento adequado como fritura ou fervura durante 5 minutos (Feagins et al, 2008). O HEV também é resistente as variações de PH sobrevivendo ao meio ácido do estômago e alcalino do intestino, permitindo que a rota de transmissão fecal-oral seja bem sucedida (Purcell e Emerson, 2001).

1.2 Transmissão e distribuição mundial do HEV

As rotas de transmissão mais reportadas são: (i) fecal-oral por contaminação de água potável; (ii) por ingestão de alimentos crus ou carnes mal cozidas de animais abatidos durante o estado virêmico (zoonose ou transmissão zoonótica pelo alimento); (iii) através do contato com material biológico infectado (excretas, placenta, sangue); (iv) por transfusões de sangue infectado, (v) transmissão vertical (materno-fetal); (vi) através do transplante de órgãos sólidos infectados (Tei et al, 2003; Khuroo, Kamili e Yattoo, 2004; Cordova et al, 2007; Kamar et al, 2008; Abravanel- Lengrand et al, 2010; dos Santos et al, 2010; Begun et al, 2010).

Do ponto de vista epidemiológico, o HEV se apresenta de duas formas, a epidêmica e a esporádica, que podem ocorrer de forma isolada ou ao mesmo tempo em uma determinada região. Nos países em desenvolvimento, onde as condições sanitárias são precárias, os surtos de hepatite E aguda geralmente ocorrem de forma epidêmica e ocasionalmente são associados à contaminação fecal da água potável (Purcell e Emerson, 2001).

A transmissão de pessoa para pessoa do HEV não é bem definida. Nos casos relatados em grupos familiares, observa-se compartilhamento hídrico primário (Somani et al, 2003; Purcell e Emerson, 2008).

A infecção pelo HEV é endêmica na Ásia e na África, onde já foram relatadas várias epidemias (Li et al, 2006; Myint et al, 2006b). Duas epidemias já foram relatadas no México entre 1986-1987 (Huang et al, *apud* Okamoto, 2007). É considerada não endêmica em outras regiões como: Europa, América do Norte e Austrália (Boutrouille et al, 2007; Dalton et al, 2007b; Famarawi et al, 2010) (Figura 2).

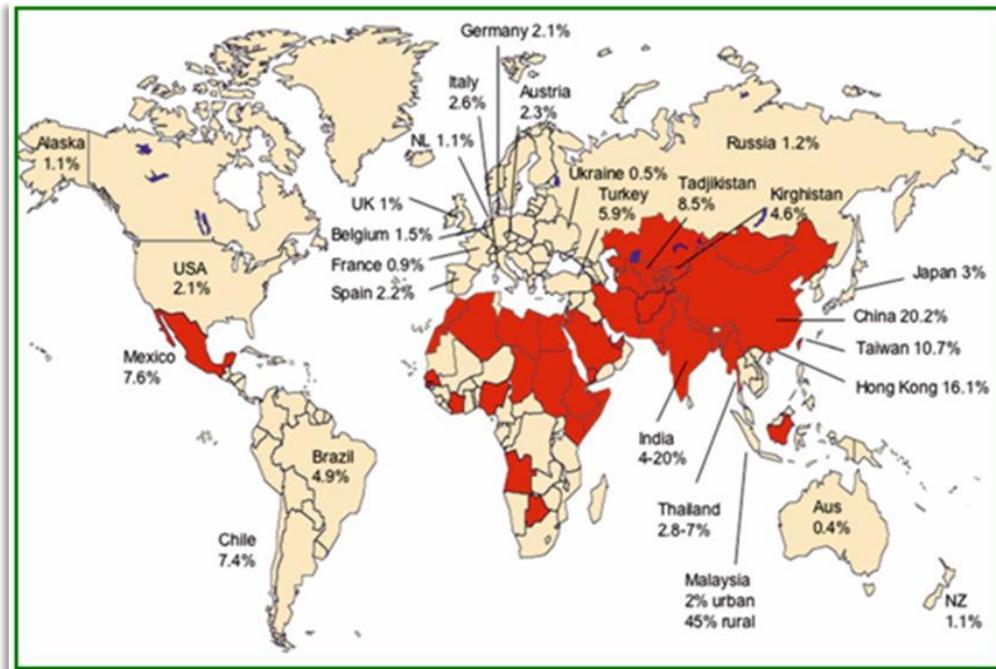


Figura 2. Distribuição mundial da hepatite E. Áreas endêmicas e soroprevalência global determinados por estudos independentes. As áreas vermelhas do mapa indicam regiões do mundo onde já foram descritas epidemias de hepatite E (Chandra et al, 2008).

A notificação da hepatite E não é obrigatória em alguns países, como Reino Unido e Estados Unidos, porém, são de notificação obrigatória na Austrália, Canadá, Alemanha, Hong Kong e Brasil (Fitzsimons et al, 2010).

No Brasil, mesmo com ambiente favorável para replicação e manutenção do vírus, nunca foram descritos surtos de hepatite E (Carrillo, Mendes Clemente e Silva, 2005). Por outro lado, relatos têm demonstrado a presença de IgG anti-HEV, no soro de seres humanos, em diferentes populações de regiões brasileiras (Souto et al, 1997; Paraná et al, 1997; Assis et al, 2002; Bortoliero et al, 2006; dos Santos et al, 2010).

1.3 Heterogenidade genética

O HEV possui 4 genótipos com 24 subtipos. Os genótipos 1 e 2 encontrados em humanos e os genótipos 2 e 3 isolados de mamíferos não humanos e de humanos (Tabela

1). Embora exista uma grande diversidade genética entre eles, até o momento um único sorotipo de HEV é reconhecido (Lu, Li e Hagedorn, 2006; Emerson e Purcell, 2007).

O genótipo 1 do HEV tem sido isolado de humanos em epidemias e em pequenos surtos na Ásia e norte da África, onde a doença é considerada endêmica. É o genótipo mais conservado e está classificado em cinco subtipos (1a, 1b, 1c, 1d e 1e) (Lu, Li e Hagedorn, 2006). O genótipo 2 foi reportado inicialmente em uma epidemia no México, e, posteriormente em casos esporádicos na Nigéria, sendo relatado em humanos no México e no Sul da África. Está classificado em dois subtipos, 2a e 2b (Maila, Bowyer e Swanepoel, 2004; Nicand, Bigaillon e Tesse, 2009). Os genótipos 1 e 2 são responsáveis por epidemias e surtos em regiões tropicais e subtropicais onde a transmissão ocorre, principalmente, por contaminação fecal da água potável (Okamoto, 2007). Os genótipos 3 e 4 apresentam maior diversidade, são classificados em dez (3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 3f, 3g, 3h, 3i, 3j) e sete subtipos (4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 4f e 4g), respectivamente. O genótipo 3 foi isolado de casos esporádicos de hepatite E aguda em humanos e animais (principalmente nos suínos), nos países industrializados. Casos humanos de hepatite E autóctone foram recuperados nas Américas do Norte e do Sul, em vários países da Europa, Japão e países do Pacífico (Okamoto, 2007; Purcell e Emerson, 2008; Nicand, Bigaillon e Tesse, 2009; Meng, 2010a). No Brasil, o genótipo 3 foi recuperado em criações de suínos nos estados de São Paulo, Mato Grosso e Rio de Janeiro (Paiva et al, 2007; dos Santos et al, 2009). Recentemente o genótipo 3 foi isolado de um caso humano autóctone no Rio de Janeiro (dos Santos et al, 2010).

Isolados de genótipos 3 do HEV obtidos de humanos e suínos da mesma região geográfica demonstram elevada homologia genética (>90%), sendo inclusive maior que a encontrada entre os isolados humanos de regiões geográficas diferentes (Lu, Li e Hagedorn, 2006; Okamoto, 2007). O genótipo 4 foi isolado a partir de seres humanos em casos esporádicos na Ásia (China, Japão, Taiwan e Vietnam) (Koizumi et al, 2004; Li et al, 2006).

A diferença geográfica na distribuição dos genótipos contribuiu para a hipótese de que a hepatite E causada pelos genótipos 1 e 2 tem uma evolução clínica epidemiológica diferente da hepatite E causada pelos genótipos 3 e 4 (Lewis, Wichmann e Duizer, 2010). Os genótipos 3 e 4 parecem produzir alta taxa de infecções assintomáticas e infecções crônicas em imunossuprimidos (Purcell e Emerson, 2008; Kamar et al, 2008; Mansuy et al, 2008).

Nos países industrializados, onde os genótipos 1 e 2 não estão presentes ou não podem se manter no ambiente, os genótipos 3 e 4 são os responsáveis pelos casos de hepatite E. Isto sugere que a prevalência relativamente alta de anti-HEV verificada em países industrializados pode ser resultado de infecções inaparentes com cepas menos virulentas de HEV derivados de suínos, animais domésticos ou de animais selvagens. Estudos verificaram que nos Estados Unidos e na Europa, indivíduos com exposição aos suínos têm uma prevalência maior de anticorpos para HEV do que os doadores de sangue pesquisados (Drobeniuc et al, 2001; Meng et al, 2002; Galiana, Fernández-Barredo e Pérez-Gracia, 2010).

Tolari et al, em 2006, realizaram um estudo com a finalidade de comparar as sequências de isolados HEV de suínos com as sequências de isolados HEV de humanos do Reino Unido. Neste estudo, levou-se em consideração se os pacientes que apresentavam histórico de viagem para áreas endêmicas, ou não. As sequências genômicas também foram comparadas com as sequências de amostras de HEV suíno isoladas de outros países. Observou-se que isolados de HEV associados a viagens pertenciam ao genótipo 1, enquanto que isolados de HEV não associados a viagens pertenciam ao genótipo 3 e todos os HEV oriundos de suínos pertenciam ao genótipo 3. Os HEV de suínos provenientes do Reino Unido foram mais estreitamente relacionados aos isolados de humanos daquele país, enquanto que as amostras de suínos e humanos isolados de outros países não foram geneticamente relacionadas.

Tabela 1- Diversidade dos genótipos do HEV em hospedeiros naturais e experimentais

Genótipo do HEV	Hospedeiros naturais	Hospedeiros experimentais
1	humanos	primatas não humanos, ratos e cordeiros
2	humanos	primatas não humanos
3	humanos, suínos, cervos, cães, cavalo, ovelhas e roedores	primatas não humanos e suínos
4	humanos e suínos	primatas não humanos e suínos
Aviário	galinhas	perus e galinhas

Fonte: Meng, 2010^a

1.4 Manifestações clínicas, patogenia e imunidade ao HEV.

A hepatite E é uma infecção aguda e auto-limitada, sua gravidade pode variar desde inaparente à forma fulminante (raros casos). No entanto, infecções persistentes relatadas podem causar hepatite crônica em imunodeprimidos, principalmente em transplantados de fígado, pâncreas e rim (Tabela 2) (Kamar et al, 2008; Abravanel et al, 2010). Os sintomas típicos de hepatite E incluem icterícia, urina escura, dor localizada no quadrante superior direito do abdome acompanhada de náuseas, vômitos e febre (Kamar et al, 2008). Foi relatada que a mortalidade causada pela hepatite E na população geral varia de 1-4% (Purcell e Emerson, 2001). Uma característica da hepatite E é a elevada taxa de mortalidade durante a gestação (cerca de 20%) (Navaneethan, Mohajer e Shata, 2008). A transmissão do HEV da mãe grávida para o seu feto pode resultar em perda fetal principalmente durante o segundo e terceiro trimestre da gestação (Khuroo, Kamili e Jameel, 1995; Navaneethan, Mohajer e Shata, 2008). Um estudo realizado com o objetivo de comparar mulheres grávidas e não grávidas com hepatite viral aguda relatou que, a viremia pelo HEV

parece ser mais prolongada nas mulheres grávidas, sugerindo novas avaliações sobre essa observação (Begum et al, 2010).

A resposta clínica ao HEV, em modelos de primatas não-humanos é dose-dependente e baixos títulos de vírus geralmente resultam em infecções inaparentes. Ainda não está claro se a gravidade da hepatite E é idade-dependente. A principal parcela da população acometida pela hepatite E é constituída por jovens e adultos, porém observa-se que a prevalência aumenta com a idade (Arankalle et al, 1995; Li et al, 2006; Meng, 2010a). A patogênese da hepatite E é pouco entendida, pois os testes morfológicos e moleculares foram desenvolvidos apenas recentemente. O sítio primário de replicação, ainda não foi identificado, presume-se que seja o trato intestinal.

Tabela 2- Características da hepatite E em humanos.

Características	HEV
Período de incubação	em média 40 dias
Gravidade dose dependente	Sim
Mortalidade	1-4%
Mortalidade em grávidas	Maior que 20%
Cronicidade	eventualmente em imunossuprimidos
Países em desenvolvimento	epidêmica, endêmica
Países desenvolvidos	casos esporádicos (presença do anticorpo)
Idade	jovens e adultos
Sexo	não há diferença (exceto em grávidas)

Fonte: Purcell e Emerson, 2008; Aggarwal et al, 2009.

O período de incubação pode durar até 40 dias. O pico da viremia ocorre durante o período de incubação na fase aguda da doença (Figura 3). O RNA do HEV pode ser

detectado no sangue e nas fezes alguns dias antes do início dos sintomas clínicos, e desaparecem do sangue alguns dias depois. Porém, continua a ser eliminado nas fezes por mais três semanas (Tokita et al, 2003). Do mesmo modo que nas hepatites agudas produzidas por outros vírus hepatotrópicos, na hepatite E há elevação importante das aminotransaminases que decairão lentamente nas semanas seguintes conforme a doença se resolve. As bilirrubinas podem-se elevar, com predomínio de sua forma conjugada.

O período de viremia curto, observado em alguns pacientes, pode explicar as infecções assintomáticas ou anictéricas e a discrepância entre a falta de observação de manifestações clínicas da doença e a soroprevalência relativamente alta em países desenvolvidos (Dalton et al, 2008).

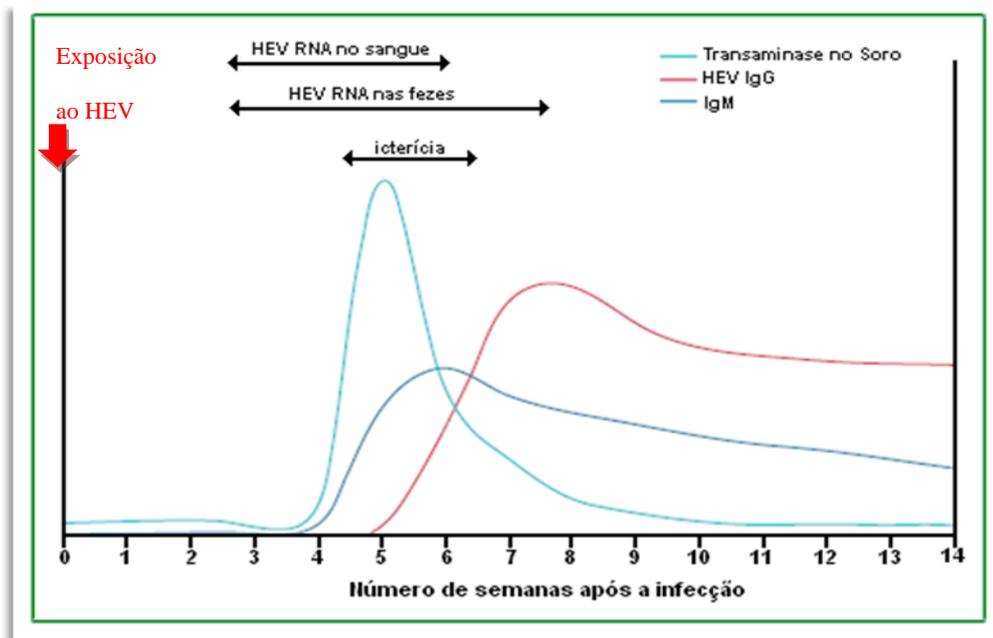


Figura 3- Marcadores sorológicos do HEV. Fonte: Dalton et al, 2008.

Em um estudo de infecção experimental em macacos *Cynomolgus* com uma cepa humana de HEV a Sar-55 (genótipo 1, tipo asiático), observou-se que o período de incubação variou entre 24 horas e 21-45 dias. Neste estudo, o RNA do HEV foi o primeiro indicador da infecção, aparecendo nas fezes e na bile entre o sexto e sétimo dia, antes dos primeiros sintomas (Tsarev et al, 1994).

A demonstração sorológica de anti-HEV IgG tem sido interpretada como uma prova de exposição prévia ao HEV. O tempo de duração e a persistência dos anticorpos anti-HEV IgG na circulação sanguínea permanece indefinida.

Um estudo demonstrou que após 14 anos, quase a metade dos que tinham sido afetados durante um surto de hepatite E já não tinham o anti-HEV detectável no soro (Khuroo et al, 1993 *apud* Myint, 2006b).

O perfil sorológico de um paciente do qual o HEV genótipo 3 foi isolado, demonstrou níveis elevados de anti-HEV IgM e IgA no soro a partir do nono dia após o início dos sintomas da hepatite e, a seguir, ocorreu uma rápida diminuição dos títulos. Os níveis de anti-HEV mais elevados no 145º dia e continuaram a ser detectados por mais de oito anos. Neste estudo, o RNA do HEV foi detectado no soro no sexto dia após o início doença e desapareceu após o 23º dia. Os níveis de ALT apresentaram-se elevados desde o terceiro até o 23º dia após o início dos sintomas (Takahashi et al, 2005).

Em um estudo com pacientes nepaleses, foi observado um declínio nos títulos de IgM nos três primeiros meses pós infecção, e permaneceu detectável em 25% dos casos após 14 meses. Os níveis de IgG permaneceram detectáveis até 14 meses após a infecção aguda (Myint et al, 2006b).

1.5 Diagnóstico Sorológico

Antes de 1990, o diagnóstico da infecção pelo HEV era baseado na exclusão sorológica de outros vírus causadores de hepatites sendo definida como, não-A, não-B, não-C. Como os sintomas da hepatite E não são diferentes dos outros tipos de hepatite viral aguda, o diagnóstico preciso dos casos depende de testes laboratoriais (Focaccia, Sette e Conceição 1995; Meng et al, 2010a).

Para confirmar exposição ao HEV utilizam-se testes sorológicos que detectam anticorpos anti-HEV (IgA, IgM e IgG). Os anticorpos da classe IgM só estão presentes nos primeiros meses da infecção identificando infecção aguda ou recente pelo vírus. A detecção do RNA do HEV em amostras de sangue ou fezes também confirma a existência de infecção recente ou em curso (Mushahwar, 2008; Dalton et al, 2008).

O ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) é o teste imunoenzimático mais utilizado no diagnóstico sorológico da infecção pelo HEV, porém poucos testes comerciais estão disponíveis. Na detecção do anti-HEV, estes testes utilizam antígenos recombinantes derivados de diferentes cepas do vírus (Dalton et al, 2008). Testes imunoenzimáticos que detectam anti-HEV baseados na proteína da ORF2, ou proteína do capsídeo, têm demonstrado maior reprodutibilidade em laboratório do que os baseados na combinação de antígenos ORF2 e ORF3 do HEV (Meng et al, 2002; Obriadina, 2002).

O ELISA têm sido usado para estudos epidemiológicos de infecção pelo HEV em países endêmicos e não endêmicos, tem apresentado variações quando considerados os diferentes kits, na sensibilidade e, conseqüentemente, nas estimativas de soroprevalência (Mushahwar, 2008; Bendall et al, 2010). As taxas de soroprevalência relatadas em países desenvolvidos têm mostrado variações entre 0,26% e 31%, o que pode ser explicado pelos diferentes testes diagnósticos utilizados, pelas condições epidemiológicas locais, pelas cepas

circulantes e também pela presença ou ausência de outras espécies susceptíveis (Bendall et al, 2010). Vários estudos realizados têm como objetivo a avaliação da concordância entre a sensibilidade, especificidade e a soroprevalência desses testes sorológicos (Myint et al, 2006a).

Myint et al (2006a) avaliaram cinco testes para detecção do anti-HEV: Abbot EIA anti-HEV IgG, GDL EIA anti-HEV IgM e IgG, WRAIR EIA anti-HEV IgM e IgG, em comparação com o teste de referência RT-PCR. As amostras utilizadas foram provenientes de uma epidemia ocorrida em 1998 na Indonésia. As sensibilidades de todos os kits de ELISA foram maiores para as amostras provenientes de casos sintomáticos ($p < 0,001$). A concordância entre os kits quando comparada aos resultados obtidos com RT-PCR foi de: 81% nos dois anti-HEV IgM (GDL, WRAIR), e de 85% nos três kits anti-HEV IgG (Abbot, GDL, WRAIR).

Outro estudo avaliou a qualidade de cinco kits ELISA HEV IgG, utilizando amostras de soro de indivíduos sabidamente positivos para anti-HEV e de pessoas saudáveis, das quais se desconhecia o status imunitário. A concordância entre os cinco kits ELISA foi de 90% para as amostras sabidamente positivas de anti-HEV. Porém, entre as amostras de pessoas das quais se desconhecia o status imunitário, houve uma ampla variação dos valores de prevalência entre os kits de 3,4 a 31,7%. Esse estudo concluiu que os resultados obtidos por estes testes imunoenzimáticos podem ser imprecisos nas análises de situação epidemiológica (Jiang et al, 2007).

Pela ocorrência do HEV genótipo 3 em regiões não endêmicas, e, como os kits de ELISA atualmente disponíveis utiliza somente antígenos derivados de genótipo 1 e 2, Herremans et al (2007) avaliaram os testes Genelabs (ELISA) e o RecomBlot da Mikrogen para detecção de IgM e IgG em condições de baixa endemicidade. Foram comparados 16 pacientes com genótipo 3 do HEV, 8 pacientes com infecção pelo genótipo 1, 167 controles

saudáveis e 101 casos de hepatites por outros agentes. A especificidade para detecção de IgM nos ELISA (98%) e RecombLot (97%) foi comparável ao indicado pelos fabricantes. Porém, para IgG isso não foi observado (93% ELISA e 66% RecombLo) quando comparados aos valores reportados pelos fabricantes de 98% e 95% respectivamente. Neste estudo concluiu-se que a combinação do ELISA e do imunoblot é necessária para melhorar a especificidade e a sensibilidade em regiões de baixa endemicidade.

Bendall et al (2010) utilizaram soros de referência isolados na Inglaterra (genótipo 3) para comparar os resultados positivos anti-HEV IgG entre dois kits comerciais (WANTAI e GDL). A avaliação da soroprevalência em 500 doadores de sangue da Inglaterra para anti-HEV IgG também foi avaliada. No resultado para soros de referência genótipo 3, o kit WANTAI apresentou maior positividade quando comparado com GDL (98% vs 56%, respectivamente). Observou-se, também, uma maior soroprevalência nos doadores de sangue (16,2% vs 3,6%), sugerindo que o GDL pode subestimar resultados quando comparados os dois kits.

Continuaram sendo problemas para realização de inquéritos sorológicos, o pequeno número de fabricantes, a dificuldade de obter kits importados e a falta de uniformidade nos resultados dos diferentes testes. Ainda restam dúvidas sobre quais antígenos devem ser utilizados para produzir testes com sensibilidade e especificidade ideais para detecção de anticorpos contra os genótipos. Além disso, a padronização internacional se faz necessária.

1.6 Tratamento e profilaxia

No tratamento da hepatite E, assim como outras hepatites virais agudas, indica-se apenas repouso relativo com restrição de atividades físicas, dieta balanceada e medicamentos para dor e febre, caso ocorram. A hepatite viral crônica pode ocorrer em imunossuprimidos, porém, ainda não está definido o tipo de tratamento dos casos que se cronificam (Péron et al, 2006; Kamar et al, 2008; Abravanel- Legrand et al, 2010).

A principal medida utilizada para prevenção da hepatite E consiste na melhoria das condições de saneamento básico da população, principalmente no que se refere aos reservatórios de água potável. Dentre as condições necessárias para minimizar os riscos de infecção pelo HEV, principalmente em áreas endêmicas estão: evitar o consumo de água ou gelo de procedência duvidosa, evitar alimentos crus ou mal cozidos, especialmente produtos de origem suína (Emerson e Purcell, 2007a).

O HEV suíno (genótipo 3 ou 4) pode infectar principalmente os grupos que trabalham com suínos, onde a principal prevenção é a lavagem das mãos após o trabalho (Fitzsimons et al, 2010). Nesse sentido uma vacina para o HEV aplicada em suínos ajudaria na prevenção da infecção em humanos (Meng et al, 2010b).

O Instituto Walter Reed dos Estados Unidos desenvolveu uma vacina durante um estudo randomizado fase dois observando redução significativa do risco de adquirir infecção (95%) em humanos, demonstrando assim a eficácia do produto na proteção contra o HEV (Shrestha et al, 2007).

Na China a pesquisa da vacina em estudo de fase três, teve eficácia de 100% após a terceira dose (IC95%: 72,1-100,0) analisando homens e mulheres de 16-65 anos. A duração da imunidade ainda não foi determinada (Zhu et al, 2010).

Novos estudos serão necessários para observar o tempo, duração da prevenção e a tolerância em grávidas e crianças pequenas (Meng, 2010a).

1.7 Prevalência de anti-HEV em humanos

Em países considerados endêmicos o anti-HEV IgG está presente em uma proporção significativa de doadores de sangue. No Irã, um estudo de corte transversal foi realizado em doadores de sangue, encontrando prevalência de anti-HEV de 7,8%, onde se observou uma frequência maior nos indivíduos entre 40-49 anos (Aminiafshar et al, 2004). Na China, amostras de sangue foram coletadas de doadores de sangue, em seis centros urbanos, para observação da soroprevalência, que variou de 29,9-41,7% para anti-HEV IgG e de 0,43-1,51% para anti-HEV IgM (Guo et al, 2010). Já nos países industrializados considerados não endêmicos verifica-se a presença de anti-HEV IgG na população geral, porém em níveis mais baixos. Ao comparar um grupo de pacientes com patologias gastrointestinais e doadores de sangue em Portugal, a prevalência para anti-HEV IgG foi de 4,6% e 3,5%, respectivamente. Não havia fatores de risco ou relatos de viagens na maioria dos casos (Alberto et al, 2009).

Na análise de doadores de sangue de duas regiões de Paris, urbana e rural (com criação de suínos), foram encontradas as prevalências para anti-HEV IgG de 2,9% e 3,5%, respectivamente. A frequência do anti-HEV observada nessa população pode refletir a transmissão autóctone de HEV na França (Boutrouille et al, 2007). Em 2008 no sudeste da França, outro estudo encontrou uma prevalência total para anti-HEV IgG de 16,6% em doadores de sangue, sendo que 19,1% nos doadores de sangue da área rural e 14,2% na população da área urbana. Neste estudo não foi observada diferença significativa na prevalência do anti-HEV quando comparados os gêneros e a procedência. Os participantes HEV positivos não tinham história de viagens (Mansuy et al, 2008). Nos EUA, foi verificada

a força da infecção pelo HEV, de 7/1000 pessoas suscetíveis por ano. A mais alta força de infecção foi verificada em pessoas que relatavam comer peixe com frequência ($p < 0,05$) (Faramawi et al, 2010).

Para investigar casos clínicos de hepatite viral, foi realizado um estudo de prevalência para anti-HEV IgG em dois municípios de Cuba. A prevalência encontrada foi de 10% (95%IC; 7,52-13,19%), aumentando com a idade nos dois municípios (Villalba et al, 2010).

No Brasil, existem poucos dados sobre a prevalência do HEV na população, os estudos em pessoas e populações assintomáticas demonstram índices que vão de zero a 38%, e são comparáveis a de outros países ocidentais (Tabela 3) (Trinta et al, 2000; Souto et al, 1997; Paraná et al, 1997; Bortoliero et al, 2006; Cordova et al, 2007).

Os relatos de casos suspeitos de hepatite E são esporádicos, por isso o diagnóstico da doença tem sido pouco confirmado. Há registros de notificação de 810 casos de hepatite E no Ministério da Saúde (Brasil), entre 1999 e 2009. No Centro-Oeste foi registrado um total de 59 casos, durante esse mesmo período (MS/SINAN, 2010). No entanto, muitos desses casos não apresentam critérios confirmatórios, ou seja, positividade para a fração IgM do anti-HEV ou presença do RNA HEV no sangue ou nas fezes.

A prevalência de anti-HEV IgG em doadores de sangue (saudáveis) em estudos realizados no Brasil varia de 2% a 4% (Paraná et al, 1997; Trinta et al, 2001; Bortoliero et al, 2006).

No Estado de Mato Grosso, em 1995, foi pesquisada sorologia para anti-HEV em mineradores suspeitos de hepatite. Dentre os 97 mineradores pesquisados, seis apresentaram sorologia positiva. Este foi o primeiro relato indicando a possibilidade de infecção sintomática pelo HEV na região amazônica brasileira (Pang et al, 1995).

Posteriormente, outro estudo para investigar um surto de hepatite ocorrido em outra localidade amazônica testou a presença de marcadores das hepatites A, B, C e E em 16 casos recentes de hepatite e em 66 contatos domiciliares assintomáticos dos casos. Dois dos 16 casos de hepatite recente e sete dos 66 contatos tiveram sorologia positiva para IgG anti-HEV. Os nove pacientes soropositivos para anti-HEV IgG tiveram sua reatividade confirmada por um teste de neutralização (Souto et al, 1997).

Em 2001, um estudo transversal de prevalência para anti-HEV foi conduzido no Rio de Janeiro. Foram selecionados e testados para Anti-HEV IgG no soro de pessoas de diferentes grupos e de diferentes regiões, encontrando-se as seguintes taxas: pacientes com hepatite aguda viral NANBNC, 2,1%; doadores de sangue, 4,3%; usuários de drogas intravenosas, 11,8%; hemodializados, 6,2%; mulheres grávidas, 1% e indivíduos de área rural, 2,1% (Trinta et al, 2001).

Em outro estudo, realizado em indivíduos moradores da região de Manguinhos (comunidade de baixa condição sócia econômica, localizada na zona norte do Rio de Janeiro), encontrou-se uma prevalência de 2.4% para Anti-HEV IgG(Santos et al, 2002).

Tabela 3- Prevalência do anti-HEV nas diferentes regiões do Brasil

População	Região	anti-HEV	Fonte
Mineradores de ouro	Amazônia brasileira	6,1	Pang et al, 1995
Doadores de sangue	Salvador	2,0	Paraná et al, 1997
População em geral	Amazônia brasileira (Cotriguaçu)	3,3	Souto e Fontes, 1998
Doadores de sangue (ALT<2ULN)	Campinas	3,0	Gonçales et al, 2000
Doadores de sangue (ALT>2ULN)	Campinas	7,5	Gonçales et al, 2000
Doadores de sangue	Rio de Janeiro	4,3	Trinta et al, 2001
Mulheres grávidas	Rio de Janeiro	1,0	Trinta et al, 2001
Indivíduos área rural	Rio de Janeiro	2,1	Trinta et al, 2001
Indivíduos área urbana	Rio de Janeiro	0	Trinta et al, 2001
Indivíduos moradores de regiões com baixa condição econômica	Rio de Janeiro	2,4	Santos et al, 2002
Crianças (2-9 anos)	Amazônia Brasileira (Peixoto de Azevedo-MT)	4,5	Assis et al, 2002
Manipuladores de suínos	Rio de Janeiro	6,3	Vitral et al, 2005
Doadores de sangue	Londrina	2,3	Bortoliero et al, 2006

Fonte; Carrilo, Mendes Clemente e Silva, 2005; Vitral et al, 2005.

1.8 Dados sobre a infecção pelo HEV em animais

São conhecidas mais de 10 espécies de primatas não humanos suscetíveis à infecção pelo HEV em condições experimentais (Arankalle et al, 2001). O HEV é endêmico em ratos e outras espécies de animais selvagens, mas a transmissão para primatas não

humanos não foi comprovada, por isso, não pode ser considerada como provável fonte de infecção humana (Arankalle et al, 2001; Purcell et al, 2008).

Já foi demonstrado em todo o mundo que suínos domésticos e silvestres são os principais reservatórios para os genótipos 3 e 4 do HEV, e que os anti-HEV também são encontrados em outras espécies de animais (Meng, 2010a).

Na Índia a presença de anti-HEV IgG foi determinada em diferentes espécies de animais de diferentes regiões do país, e a prevalência encontrada foi de: 4,4% a 6,9% em bovinos, 54,6 a 74,4% em suínos, 2,1 a 21,5% em roedores, 22,7% em cães. Nos caprinos não foi encontrado o IgG (Arankalle et al, 2001).

No Brasil, foi realizado um estudo sorológico em animais oriundos de 13 diferentes municípios do Estado de Mato Grosso, abatidos em dois matadouros. A prevalência de anti-HEV IgG foi de 81%, demonstrando que o HEV circula em suínos deste Estado (Guimarães et al, 2005).

No Rio de Janeiro, foram coletadas 271 amostras de soro de vários animais domésticos e também dos manipuladores de suínos. O anti-HEV IgG foi detectado em bovinos, 1,4%; cães, 6,9%; frangos, 20%; suínos, 24%; roedores, 50% e manipuladores de suínos, 6,3%. Além da detecção de anticorpos anti-HEV em diferentes espécies animais, os resultados demonstraram que a infecção pelo HEV suíno parece ser muito comum em nosso meio. Este foi o primeiro relato demonstrando evidências da circulação do HEV em espécies animais e manipuladores de suínos brasileiros (Vital et al, 2005).

No Estado de São Paulo, foram coletadas e testadas amostras de fezes de oito suínos (40 e 60 dias de nascidos) para o RNA do HEV, dando positiva em sete delas. A sequência de nucleotídeos e os aminoácidos destes isolados que foram designados swBRA, foram mais semelhantes às sequências de HEV pertencentes ao genótipo 3,

independentemente da região ORF2 analisada. Análises das sequências nucleotídicas realizadas com todo o segmento amplificado, mostraram maior identidade com o isolado encontrado nos Estados Unidos (EUA), do genótipo três. De maneira semelhante, análises da sequência de aminoácidos realizadas com os mesmos segmentos também mostraram maior identidade com os isolados de genótipo 3 (Paiva et al, 2007).

Dos Santos et al (2009), com objetivo de identificar sequências genômicas do HEV suíno que circulava em criações brasileiras, conduziram estudos no Estado do Rio de Janeiro e em Mato Grosso. No Rio de Janeiro, cinco porcas gestantes saudáveis com reatividade para anti-HEV, foram incluídas no estudo. Após o desmame, os 26 leitões tiveram 1 ml de sangue coletado. Todos os soros, coletados imediatamente após o nascimento, foram negativos para anti-HEV. Após 24 horas, novas amostras de sangue foram coletadas e observou-se que o anti-HEV foi transferido para 24 dos 26 animais (92,3%). Após 22 semanas, 23 dos 26 animais (88,4%), novamente anti-HEV negativos após o desmame, evoluíram para soroconversão. Em uma das 26 amostras de soro, foi isolada uma sequência genômica de HEV designada Brasil SW1. Foi coletado um pool de fezes do alojamento dos animais com 4 a 20 semanas de idade, para detecção de sequência do RNA HEV. A amplificação do genoma parcial foi possível para ambas as regiões investigadas, um isolado encontrado foi designado Brasil SW2. Nas amostras de Mato Grosso, os 47 leitões nascidos de seis porcas anti-HEV positivo foram monitorados. A primeira amostra foi coletada cerca de quatro semanas pós-parto, e a segunda amostra, 2 a 4 semanas mais tarde. O anticorpo anti-HEV foi detectado em oito dos 47 (17%) animais estudados com idade entre seis e oito semanas. Um total de 14 pools de fezes retiradas do alojamento dos animais entre 4 a 12 semanas de nascidos foram estudadas para detecção do RNA HEV. Duas sequências foram isoladas e designadas Brasil SW3 e Brasil SW4. Os isolados Brasil SW2, SW3 e SW4 foram classificados como genótipo 3 e mostraram-se intimamente relacionados.

1.9 Infecção causada por ingestão de carne contaminada.

Casos isolados ou pequenos surtos de hepatite E aguda que ocorreram devido ao consumo de fígado de suíno cru ou mal cozidos, já foram relatados no Japão. Foi demonstrado que fígados de suínos vendidos em mercearias locais e lojas no Japão estavam positivos para RNA do HEV suíno. As análises de sequências filogenéticas revelaram que estes isolados pertenciam ao genótipo 3. Posteriormente, foi observado que mesmo após o congelamento, os homogenizados destes fígados (PCR positivos) continham o vírus infeccioso. Os resultados demonstraram que os suínos inoculados com dois, dos três fígados homogenizados tornaram-se infectados (Feagins et al, 2008). Em outro estudo foi detectado RNA HEV em 2% dos pacotes de fígado de suíno de mercearias, e as análises das sequências parciais revelaram que estes isolados pertenciam ao genótipo 3 ou 4. A sequência dos vírus recuperados do fígado de suínos nos supermercados estava intimamente relacionada, ou era idêntica, em alguns casos, ao vírus recuperado de pacientes humanos com hepatite E no Japão (Yazaki et al, 2003).

No Japão, um episódio com quatro casos de hepatite aguda E foi associado ao consumo de carnes de cervídeo em dois membros da mesma família. A sequência amplificada de HEV dos restos congelados da carne mostrou-se idêntica (99,7-100%) ao do vírus recuperado dos quatro pacientes humanos (Tei, Kitajima e Mishiro, 2003).

Em 2010 foi descrito, retrospectivamente, o primeiro caso brasileiro confirmado de hepatite E aguda em humanos, no Rio de Janeiro. Um grupo de pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz estudou o soro estocado de 64 pacientes que apresentaram hepatite aguda e que foram negativos para os marcadores das hepatites A, B e C. Em um paciente do sexo masculino, de 30 anos de idade, foi identificada a sequência genômica de HEV, de genótipo 3b, intimamente relacionada à sequência de suínos obtida no Brasil. Em nova entrevista, o paciente lembrou ter ingerido carne suína mal cozida anteriormente ao início

dos sintomas, e, em período compatível com o tempo de incubação. Este paciente não havia efetuado viagem para países endêmicos nos meses que precederam a doença (dos Santos et al, 2010).

1.10 Exposição ocupacional ao HEV

Estudos têm demonstrado que populações de seres humanos com exposição ocupacional aos animais têm risco aumentado de transmissão zoonótica do HEV. A zoonose pode ser confirmada por vários artigos que analisam e demonstram relações entre as sequências genômicas de infecções humanas e suínas para os genótipos 3 e 4 (dos Santos et al, 2009; dos Santos et al, 2010).

Karetnyi, Gilchrist e Naidea (1999) testaram a prevalência de anticorpos para HEV IgG em 204 pacientes com hepatite NANBNC (4,9%), 87 trabalhadores de campo do Departamento de Recursos Naturais de Iowa (EUA) (5,7%) e 332 doadores de sangue (3,3%).

Meng et al (2002) com o objetivo de avaliar o risco potencial de transmissão zoonótica do HEV, testaram 468 médicos veterinários que trabalhavam com suínos (85% pertenciam aos EUA e Canadá) e 400 doadores de sangue. Antígenos de HEV suíno dos EUA e HEV humano genótipo 1 asiático (Sar-55) foram utilizados em cada ensaio imunoenzimático. Nos médicos veterinários a taxa para anti-HEV IgG encontrada foi de 23% (Sar-55) e de 21% (antígeno de HEV suíno). Entre os doadores de sangue 18% (Sar-55) e 16% (antígeno de HEV suíno). A maior significância estatística foi encontrada entre idade e prevalência de anti- HEV em veterinários de suínos e doadores de sangue.

A soroprevalência em um estudo de corte transversal para infecção pelo HEV, verificada na população rural do sul da China foi de 43% (Li et al, 2006).

Em um funcionário com sintomas de hepatite, de um matadouro na Espanha, foi identificado o HEV genótipo 3, subtipo 3f. A análise genética demonstrou uma homologia de 83,4% até 97,3% quando comparado com isolados de humanos e suínos respectivamente, da Europa (Pérez-Garcia et al, 2007). A prevalência de anti-HEV IgG foi verificada na Espanha entre indivíduos expostos aos suínos (18,8%) e não expostos (4,1%) ($p=0,03$). A presença de anti-HEV IgG teve associação significativa com: consumo de água não tratada ($p=0,01$) e exposição aos suínos ($p=0,03$) (Galiana et al, 2008).

Outro estudo realizado em residentes da comunidade Valênciana (Espanha), analisou 113 indivíduos com exposição aos suínos e 99 sem exposição, verificando-se taxas de anti-HEV IgG de 18,6% nos expostos e 4% nos não expostos ($p=0,004$) (Galiana, Fernández-Barredo e Pérez-Gracia, 2010).

1.11 O Estado de Mato Grosso

O Estado de Mato Grosso ocupa uma extensão de 906.806 Km², cerca de 10% do território nacional, sendo o terceiro maior Estado do Brasil. Está situado no centro da América do Sul, na região Centro Oeste do Brasil. Sua parte norte corresponde ao sul da bacia amazônica, o que compreende a maior parte de seu território. São três os seus principais ecossistemas: o pantanal, o cerrado e a floresta Amazônica. O pantanal cobre 10% de sua área; a vegetação de cerrado ocupa 40%, enquanto a floresta Amazônica se estende por metade do Estado que é dividido em cinco mesorregiões geográficas (Centro-Sul , Nordeste, Norte, Sudeste , Sudoeste) e 22 microrregiões (IBGE, 2010). Mato Grosso concentra 1,55% da população brasileira, que foi estimada em 2.954.625 habitantes, pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2010.

O efetivo de suínos existente no Brasil em 31/12/2008 reunia 36.819 milhões de cabeças. O abate de suínos no ano de 2008 foi de 28.803 milhões de cabeças. No abate de suínos, o Brasil ocupa a 5ª posição, ficando atrás da China, União Européia, Estados Unidos e da Rússia (USDA) (Bergaminni, 2009).

No Brasil, a soja e o milho são os principais produtos agrícolas que embasam a alimentação tecnificada de suínos. Mato Grosso produz um quarto da soja do mundo e aproximadamente 6% do milho (ACRISMAT, 2010).

A economia do Estado de Mato Grosso é sustentada pela atividade agropecuária.

As primeiras granjas tecnificadas produtoras de suínos em Mato Grosso datam do início da década de 90 e foram construídas com o objetivo de agregar valor aos grãos produzidos na região (ACRISMAT, 2010). De acordo com dados do IBGE no ano de 2009, o Estado teve 1.6 milhões de suínos abatidos, observando-se as seguintes regiões, médio norte, 70% do valor total, centro sul 17%, região sudeste 12% do total (IBGE, 2010).

Mato Grosso é um dos poucos estados brasileiros onde o HEV tem sido pesquisado em humanos (Souto et al, 1997; Souto e Fontes, 1998; Assis et al, 2000) e suínos (Guimarães et al, 2005; dos Santos et al, 2009). Porém, o estudo sobre pessoas em contato ocupacional aos suínos ainda não tinha sido conduzido.

2. JUSTIFICATIVA

Embora registros de casos de hepatite E sejam raros no Brasil, evidências da intensa circulação do HEV em animais torna possível a ocorrência ocasional de casos não-identificados, principalmente em indivíduos expostos a animais infectados. Neste contexto casos de hepatite aguda, sem elucidação etiológica, ainda compreendem uma significativa parcela dos casos desse agravo notificados ao Ministério da Saúde todos os anos (MS/SINAN, 2010).

Nesse panorama, é importante estimar se o HEV participa em nosso meio como um potencial causador de casos de hepatite aguda não-A, não-B, não- C. É relevante saber se, em zona rural, indivíduos que realizam o manejo de suínos estão mais expostos ao HEV que indivíduos de zona urbana, sem contato direto com esses animais.

A existência natural do HEV em suínos domésticos e javalis, bem como em outras espécies animais, levanta preocupações de saúde pública para zoonose e segurança alimentar (Meng, 2010). A razão da diversidade dos vírus de genótipo 3 e 4 serem maior que a dos vírus de genótipo 1 e 2 não está bem definida. Dentre as possíveis explicações está a provável manutenção da replicação dos HEV de genótipo 3 e 4 em diversas espécies de animais silvestres ou domésticos. Isto promove maior diversidade genética, como tem sido demonstrado em quase todas as espécies animais portadoras do vírus (Nicand, Bigaillon e Tesse, 2009).

3. OBJETIVOS

-Estimar a prevalência de anticorpos para o vírus da hepatite E em indivíduos residentes na área rural de municípios do Estado de Mato Grosso expostos e que manejam suínos ou suas carcaças.

-Avaliar outros fatores que possam influenciar a prevalência de anti-HEV nesses indivíduos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 População estudada

Para estimar a prevalência de anti-HEV entre os habitantes da zona rural de municípios de Mato Grosso, foram realizadas várias viagens e visitas a propriedades rurais. A maioria delas foi acompanhando equipes do INDEA-MT, que já tinham previamente mapeadas aquelas baseadas na criação de suínos.

No período de julho de 2009 a janeiro de 2010, foram visitadas 54 propriedades rurais de sete municípios do Estado de Mato Grosso. As propriedades visitadas pertenciam ao município de Diamantino, na região norte do Estado, municípios de Várzea Grande, Cuiabá, Nossa Senhora do Livramento e Santo Antônio do Leverger, na região centro sul e na região sudeste os municípios de Rondonópolis e Campo Verde (Figura 4). Com o início da gripe suína no país, na mesma época do início do trabalho de campo, o impedimento sanitário levou ao cancelamento das visitas, inicialmente previstas, aos municípios de Lucas do Rio Verde e Nova Mutum. Foram visitados três tipos de propriedades: matadouro de suínos, propriedades tecnificadas certificadas pelo INDEA-MT e pequenas propriedades de subsistência familiar (criadores domiciliares). Com a finalidade de respeitar o vazio sanitário, e de acordo com as recomendações do INDEA-MT, houve um intervalo de tempo de 24 horas entre as visitas das granjas certificadas (MAPA, 2002).



Figura 4 – Macrorregiões do Estado de Mato Grosso e municípios visitados.
 Fonte: IBGE, 2008; SICME, 2008.

4.2 Tipo de estudo e tamanho da amostra

Foi desenvolvido um estudo descritivo transversal para estimar a prevalência de anti-HEV em moradores da zona rural de Mato Grosso expostos a suínos.

Devido às limitações de recursos para aquisição de reagentes laboratoriais e à falta de informações precisas sobre o número de propriedades rurais criadoras de suínos nos municípios visitados, o tamanho amostral foi calculado baseado nos seguintes parâmetros: i) prevalência estimada, considerando aquela descrita por Vitral et al (2005) em tratadores de suínos no Rio de Janeiro (6,3%); ii) precisão da estimativa de $\pm 4\%$; iii) nível de confiança de 95%.

Usando o software Epi Info 6.04 (Center for Disease Control, USA, 2001), encontrou-se o tamanho amostral de 140 indivíduos. Este tamanho foi duplicado para correção de efeito de desenho, pelo fato da amostra ter sido obtida em “clusters” de todos os moradores das propriedades visitadas.

Aos 280 participantes necessários, adicionou-se mais 10% para minimizar o efeito de possíveis recusas de participação ou ausência de moradores. Deste modo, a amostra estipulada foi de 308 participantes.

Os participantes eram indivíduos com 10 anos ou mais, declarados saudáveis, que trabalhavam com suínos em municípios do Estado de Mato Grosso e doadores voluntários de sangue não expostos aos suínos a partir de 18 anos, com condições físicas para doação.

Todos os indivíduos abordados antes da coleta de sangue receberam as informações necessárias sobre as hepatites de contaminação fecal-oral e seus possíveis fatores de risco. Posteriormente, foram convidados a participar do estudo. Aqueles que concordaram em participar assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 3).

Alguns indivíduos foram entrevistados antes do início do estudo para testar o formulário aplicado, para testar o questionário.

Dados referentes às características demográficas, fatores de risco associados à infecção pelo HEV, histórias prévias de hepatites, relatos de outros membros da família com hepatites, entre outros, foram obtidos por meio de entrevista privada e individual utilizando um formulário padronizado (Apêndice 1 e 2). Tanto a abordagem aos participantes quanto a entrevista foram realizadas por um técnico de nível superior da área de saúde e um técnico de nível médio. Para garantir uma maior credibilidade do projeto nas propriedades tecnificadas e frigorífico de suínos certificados, houve acompanhamento e orientação de um funcionário de nível superior do INDEA, órgão pertencente ao Estado de Mato Grosso, responsável pela

fiscalização e certificação das granjas tecnificadas e frigorífico. O estudo foi programado para ter sua fase de campo executada por sete meses (julho de 2009 a janeiro de 2010).

4.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos os participantes menores de 10 anos (da área rural) e também aqueles sem condições físicas e/ou mentais para responder ao formulário ou entender o objetivo da pesquisa. Foram excluídos os doadores de sangue com histórico prévio de vida rural ou de manejo/contato com suínos.

4.4 Parâmetros para comparação com meio urbano

Como os perfis de sensibilidade, especificidade e acurácia dos diferentes ensaios para detecção de anti-HEV IgG são muito variáveis, e o ensaio comercial utilizado (descrito adiante) nunca foi utilizado em estudos do Estado de Mato Grosso, testou-se o kit anti-HEV IgG em amostras de soro de doadores de sangue da capital. Estas amostras foram obtidas a partir do equipo de doação, evitando, dessa forma, outro procedimento invasivo. O número destes participantes foi estipulado em 96, correspondendo a um kit do reagente anti-HEV IgG.

4.5 Fase laboratorial

4.5.1 Detecção de anti-HEV IgG nos participantes.

As amostras de soro coletadas durante as visitas às propriedades rurais e a dos doadores de sangue do Hemocentro-MT foram acondicionadas em tubos de ensaio de

polipropileno (volume 1 mL) resistentes às baixas temperaturas e armazenados em freezer a – 70°C, até o momento do transporte aéreo. Sendo enviado (de acordo com as normas da Associação de Transporte Aéreo Internacional - IATA), posteriormente, ao Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia IOC- FIOCRUZ, embalada em caixa térmica, contendo gelo reciclável.

A pesquisa de exposição ao anti- HEV foi realizada utilizando o teste imunoenzimático da MP Diagnostics (MPD HEV ELISA, MP Biomedicals Ásia Pacific Pte Ltd., Singapura). O kit ELISA Anti-HEV IgG (ref. 21150), de acordo com o fabricante, é uma prova imunoenzimática para detecção de anticorpos IgG para o vírus da hepatite E no soro ou plasma humano. Neste kit comercial, os poços das tiras de poliestireno das microplacas são revestidos com três epítopos das proteínas de ORF2 e ORF3 de cepas do México (genótipo 2) e da Birmânia (genótipo 1) e a 3,3',5,5'- tetrametilbenzidina (TMB) como substrato (Myint et al, 2006a).

Foram utilizados controles reativo (contendo anticorpos IgG específicos para HEV) e não reativo inclusos no kit.

O teste imunoenzimático utilizado foi processado seguindo as etapas descritas a baixo:

- 1- As amostras de soro foram diluídas em uma solução tampão e posteriormente colocadas nos poços da microplacas revestidos com antígenos do HEV, o tempo de incubação foi de 30 minutos/37°C. Os anticorpos específicos presentes na amostra, se unem aos antígenos imobilizados.

- 2- Em seguida, os poços foram lavados para remoção de materiais não-ligados e um anticorpo monoclonal anti-IgG humano, marcado com peroxidase foi adicionado aos

poços, procedendo a incubação por 30 minutos/37°C. Este anticorpo marcado reconhece os complexos antígeno-anticorpo.

3- Após lavagem, uma solução de substrato contendo TMB, foi adicionada em cada poço e a placa foi incubada por 15 minutos à temperatura ambiente em local escuro. A presença de reação deste substrato com a enzima peroxidase resulta em uma mudança de cor.

4- A reação foi interrompida pela adição de ácido clorídrico e a intensidade da cor (amarela) foi medida espectrofotometricamente em 450 nm, e é proporcional à quantidade de anticorpos presentes na amostra.

4.5.2 Interpretação do teste ELISA HEV MPD

De acordo com as informações fornecidas pelo fabricante do kit de ELISA, foram feitas as seguintes interpretações:

-Amostras com valores de absorvância inferiores ao valor de corte (CUT OFF = 0,500 + absorvância média do controle não reativo) foram consideradas não reativas pelo HEV ELISA MPD.

-Amostras com valores de absorvância iguais ou superiores ao valor de corte foram consideradas inicialmente reativas, e foram novamente analisadas em duplicata antes da interpretação.

-Amostras reativas na segunda análise foram interpretadas como repetidamente reativas e positivas para anticorpos HEV.

- As amostras inicialmente reativas, e que se comportaram como não reativas na segunda análise, foram consideradas como não reativas e conseqüentemente negativas para anticorpos HEV.

4.6 Aspectos Éticos

Este estudo teve seus aspectos éticos analisados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller da Universidade Federal de Mato Grosso, sob o registro nº634 CAP-HUJM/2009, sendo aprovado em 26 de maio de 2009 (Anexo 1).

Após a explicação sobre o objetivo da pesquisa e antes da coleta do material, todos os participantes assinaram um termo de livre consentimento e esclarecimento (Apêndice 3).

Todos os resultados, negativos ou positivos (demonstrando infecção passada), foram enviados para as propriedades de residência e/ou local de trabalho com uma carta explicativa contendo o resultado do exame e seu significado (Apêndice 4).

4.7 Procedimentos de análise dos resultados

4.7.1 Definições das variáveis do estudo

4.7.1.1 Variáveis dependentes

Resultados do anti-HEV foram utilizados para classificar indivíduos positivos ou negativos para a infecção passada pelo HEV.

4.7.1.2 Variáveis independentes

Foram todas as outras variáveis do estudo, relativas a dados demográficos, informações sobre condições sanitárias da propriedade e a fatores de exposição à criação de

animais ou às suas carcaças, antecedente de transfusão de sangue e hemoderivados; história de hepatite A, B ou C; história de familiares com hepatites; morar em área rural ou urbana.

4.7.1.3 Descrição de algumas das variáveis estudadas

Escolaridade: classificação do indivíduo quanto à escolaridade:

- Analfabeto: maior de 10 anos que não sabia ler, nem escrever.
- Ensino fundamental: que concluiu ou frequenta do 1° ao 9° ano do ensino fundamental.
- Ensino médio: que concluiu ou frequenta do 1° ao 3° ano do ensino médio.
- Educação superior: que concluiu ou frequenta o ensino universitário.

Icterícia no passado: se o indivíduo teve sintoma de icterícia em algum momento da vida.

História familiar de hepatite: se algum parente do indivíduo entrevistado, residente na mesma casa, teve hepatite.

Transfusão de sangue: se o indivíduo precisou de transfusão de sangue em algum momento.

Rede de água: origem da água que abastece a propriedade visitada. Por fazer parte do cadastro da propriedade, a pergunta foi questionada apenas ao grupo exposto:

- Pública: abastecido pela rede de água local.
- Córrego: originada de córrego, rio ou nascente.
- Poço: originada de poço ou poços artesianos.

Origem da água para beber

- Água não tratada: origem de poço, nascente, poços artesianos.
- Água tratada: filtrada (vela), da rede de abastecimento local, mineral.

Rede de esgoto: existência ou não de instalação sanitária, origem da água que abastece a propriedade visitada. Por fazer parte do cadastro da propriedade, a pergunta foi dirigida apenas ao grupo exposto.

- Fossa séptica: fossa com duas divisões.
- Fossa seca: fossa local.
- Meio ambiente: ao redor da propriedade.

Categoria de trabalho: local da atividade ocupacional relacionada à exposição do indivíduo.

Tempo de exposição aos suínos: quanto tempo o indivíduo trabalha/trabalhou com suínos.

Presença de outro animal: se trabalha/trabalhou com outra espécie de animal (aves, gado bovino, caprinos) além do suíno.

Abate: se trabalha no abate de suínos.

Manipular carcaça: se trabalha manipulando animais abatidos.

Vazio sanitário: espaço de tempo necessário entre as realizações das visitas nas granjas de suínos e matadouros-frigoríficos certificados (MAPA, 2002).

4.8 Processamento dos dados.

Os resultados obtidos foram analisados com o auxílio do software EpiData versão 3.1 (*The Epidata Association Dinamarca*, 2008). Posteriormente, os dois bancos de

dados foram confrontados, usando-se a função “validate” do software EpiInfo 6.04 (CDC, EUA, 2001). O banco de dados corrigido foi analisado através da função “analysis of data” do software EpiInfo 6.04.

Para variáveis contínuas foram descritas médias e medianas, com respectivos marcadores de dispersão. Para comparação dessas variáveis foi usado o teste de Mann-Whitney. Para variáveis categóricas, foram descritas as proporções e, em caso de comparação, usou-se o teste do chi-quadrado e descrição da razão de chances. Para todas as análises, foram consideradas significativas as associações que apresentaram a possibilidade de erro alfa menor que 5%. As variáveis associadas como descrito acima foram incluídas em um modelo de regressão logística, criado através do software Stata 8.2 (StataCorp, Texas, EUA), com o intuito de ajustá-las entre si e quanto à idade e ao gênero.

5. RESULTADOS

5.1 Descrição da população de estudo.

As entrevistas e coletas das amostras foram aplicadas a 310 indivíduos expostos ocupacionalmente aos suínos. Com intuito de obter um parâmetro de comparação com a população urbana, doadores de sangue foram convidados a participar do experimento como grupo controle

As amostras dos doadores de sangue (101) foram obtidas no Hemocentro estadual, em Cuiabá, durante a doação voluntária de sangue.

5.1.1 Características demográficas

A idade dos 310 participantes variou de 11 a 98 anos, observando-se, nesta população, uma média de $39,8 \pm 18,3$ anos, sendo que 118 (38%) estavam na faixa etária dos 10 ─ 30 anos, 96 (31%) entre 30 ─ 50 anos e 96 (31%) com idade igual ou superior a 50 anos. Dentre estes participantes houve predomínio do sexo feminino (51%).

Em relação ao nível de instrução, 3,5% dos participantes eram analfabetos, 61% apresentavam o ensino fundamental e 3,5% possuíam nível superior. O município de Várzea Grande (26,5%) representou a maior proporção de indivíduos na amostra dos expostos, seguido do município de Rondonópolis (25,2%), Nossa Senhora do Livramento (23,9%), Campo Verde (11,3%), Cuiabá (5,5%), Diamantino (4,5%) e Santo Antônio do Leverger (3,2%) (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição das características demográficas dos 310 participantes expostos aos suínos, Mato Grosso, 2009-2010.

Características	Expostos n (%)
População	310 (75,4)
Gênero	
Feminino	158 (51,0)
Masculino	152 (49,0)
Idade	
10–30	118 (38,0)
30–50	96 (31,0)
≥50 anos	96 (31,0)
Média (±DP)	39,8 (±18,3)
Mediana (25%-75%)	37 (24-54)
Escolaridade*	
Analfabeto	11 (3,5)
Ensino fundamental	189 (61,0)
Ensino médio	99 (32,0)
Educação superior	11 (3,5)
Município de residência	
Santo Antônio	10 (3,2)
Diamantino	14 (4,5)
Cuiabá	17 (5,5)
Campo Verde	35 (11,3)
Livramento	74 (23,8)
Rondonópolis	78 (25,2)
Várzea Grande	82 (26,5)

*Escolaridade classificada de acordo com o plano de desenvolvimento da educação (PDE). (Brasil,2007). NS: não significativo ($p>0,05$). N= total.

5.1.2 História patológica progressiva.

Na tabela 5, estão demonstrados os dados sobre passado de doença icterícia, história de transfusão e contato com casos de hepatite no domicílio.

Entre os participantes, 28 (9%) indivíduos se recordavam de ter tido icterícia no passado. Histórico de hepatite na família foi citado por 57 (18,4%) dos participantes. Informação positiva sobre transfusão de sangue foi obtida em 23 (7,4%) dos participantes.

Tabela 5- Frequência de icterícia, histórico intrafamiliar de hepatite e de transfusão de sangue nos participantes.

Variáveis	Expostos n (%)
Icterícia no passado	
Não	282 (91,0)
Sim	28 (9,0)
Histórico intrafamiliar de hepatite	
Não	253 (81,6)
Sim	57 (18,4)
Transfusão de sangue	
Não	287 (92,6)
Sim	23 (7,4)

NS: não significativo ($p > 0,05$). N= total

5.1.3 Características gerais das condições sanitárias dos participantes.

Entre os 310 participantes, 210 (67,7%) relataram beber água não tratada e 100 (32,2%) tinham acesso à água tratada.

Quanto ao sistema de esgotamento de dejetos dos indivíduos das localidades rurais visitadas, o uso da fossa seca foi relatado por 154 (49,7%) e sete (2,2%) não contavam com nenhum tipo de rede de esgoto.

Foi observado que o abastecimento de água de 214 (69%) dos indivíduos participantes era originado de poço, seguido de rede pública (21%) e de córrego (10%) (Tabela 6).

5.1.4 Tipo de propriedade e tempo de exposição aos suínos.

Os participantes foram classificados de acordo com a propriedade em que trabalhavam em três grupos: 61 (19,7%) indivíduos de matadouro de suínos, 65 (21,0%) de propriedades tecnificadas certificadas pelo INDEA-MT e 184 (59,4%) propriedades de subsistência familiar. O contato com suínos há mais de 10 anos foi relatado por 136 (43,9%) dos participantes e, apenas 32 (10,3%) indivíduos trabalhavam com suínos há menos de um

ano. O contato ocupacional com outros animais além dos suínos foi relatado por 117 (37,7%) dos indivíduos. A realização do abate de suínos foi relatada por 170 (54,8%) dos participantes e 235 (75,8%) manipulavam a carcaça desses animais (Tabela 6).

Tabela 6- Variáveis sanitárias e relacionadas com exposição a animais dos participantes

Variáveis	Expostos n (%)
Água para consumo	
Tratada	100 (32,3)
Não tratada	210 (67,7)
Rede de água	
Pública	65 (21,0)
Córrego	31 (10,0)
Poço	214 (69,0)
Rede de esgoto	
Fossa séptica	149 (48,1)
Fossa seca	154 (49,7)
Meio ambiente	7 (2,2)
Categoria de trabalho	
Propriedade pequena de subsistência	184 (59,4)
Propriedade tecnicada	65 (21,0)
Matadouro	61 (19,6)
Tempo de exposição aos suínos	
≤ 1 ano	32 (10,3)
1-5 anos	92 (29,7)
5-10 anos	50 (16,1)
≥10 anos	136 (43,9)
Manipular outros animais	
Não	193 (62,3)
Sim	117 (37,7)
Abate suíno	
Não	140 (45,2)
Sim	170 (54,8)
Manipula carcaça	
Não	75 (24,2)
Sim	235 (75,8)

Água tratada: da rede pública, mineral. Água não tratada: córrego, nascente, poço e poço artesiano. NS: não significativo ($p \geq 0,05$). N= total.

5.2 Prevalência do anti-HEV

A pesquisa de anti-HEV foi positiva em 26 dos 310 indivíduos participantes (8,4%; IC95%=5,6-12,2).

5.2.1 Anti-HEV entre os doadores de sangue

No Hemocentro-MT foram abordados 101 moradores urbanos, sem passado rural ou exposição a suínos que concordaram em que pequena alíquota do sangue doado fosse testado para anti-HEV IgG. Apresentaram predomínio do sexo masculino (70,3%), como é comum entre doadores no país, e a idade média de 31,3 anos (DP=10,4). Quatro (4,0%; IC95%=1,3-10,4) deles foram positivos para anti-HEV IgG. Não houve diferença estatística entre esta proporção e a encontrada nos participantes rurais ($p=0,206$).

5.3 Presença do anti-HEV IgG quanto as variáveis independentes

5.3.1 Frequência das variáveis demográficas quanto a presença do anti-HEV IgG.

Como pode ser observado na tabela 7, os indivíduos anti-HEV positivos ($n=26$) não diferiram dos anti-HEV negativos ($n=284$) quanto à idade, gênero e escolaridade. Quanto à idade, notou-se uma tendência a elevação da prevalência com o aumento da idade. Assim como entre os analfabetos. A prevalência de anti-HEV variou de 6% a 11% entre as amostras de cada município, com exceção da pequena amostra de Santo Antônio, onde nenhum anti-HEV positivo foi encontrado e em Cuiabá com elevada prevalência 23,5%.

Tabela 7 – Análise de associação dos fatores demográficos e presença de anti-HEV IgG nos 310 participantes expostos a suínos, Mato Grosso, 2009-2010.

Características	anti-HEV + (%)	anti-HEV – (%)	OR (IC95%)	p
Total	26 (8,4)	284 (91,6)	-	-
Gênero				
Feminino	17(10,8)	141 (89,2)	1,0	
Masculino	9 (5,9)	143 (94,1)	0,5 (0,2-1,3)	NS
Idade				
10–30	7 (5,9)	111 (94,1)	1,0**	NS
30–50	7 (7,3)	89 (92,7)	1,2 (0,4-3,7)	
≥50 anos	12 (12,5)	84 (87,5)	2,2(0,8-6,0)	
Mediana (25-75)	47,5 (27-59)	36,5 (23,5-53,5)	-	0, 052***
Escolaridade*				
Analfabeto	2 (18,2)	9 (81,8)	1,0**	NS
Ensino fundamental	17 (9,0)	172 (91,0)	0,4 (0,1-2,2)	
Ensino médio	7(7,1)	92 (92,9)	0,3 (0,1-1,9)	
Educação superior	0 (0)	11 (100,0)	-	
Município de residência				
Santo Antônio	0 (0)	10 (100,0)	-	NS
Várzea Grande	5 (6,1)	77 (93,9)	1,0	
Diamantino	1 (7,1)	13 (92,9)	1,2 (0,1-11,0)	
Rondonópolis	6 (7,7)	72 (92,3)	1,3 (0,4-4,4)	
Livramento	6 (8,1)	68 (91,9)	1,4 (0,4-4,6)	
Campo Verde	4 (11,4)	31 (88,6)	2,0 (0,5-7,9)	
Cuiabá	4 (23,5)	13 (76,5)	4,7 (1,1-20,0)	

*Classificação da escolaridade de acordo com o plano de desenvolvimento da educação (PDE). (Brasil, 2007).

Odds Ratio de tendência. * Valor de p da comparação das medianas pelo teste Mann-Whitney.

NS: não significativo ($p>0,05$). OR: odds ratio. IC: intervalo de confiança.

5.3.2 Presença de anti-HEV e histórico de saúde.

As variáveis de icterícia no passado (OR=0,8; IC95%=0,2-0,3), história familiar de hepatite (OR=0,8; IC95%=0,3-2,4) ao anti-HEV positivo, não demonstraram significância estatística (Tabela 8).

A presença de anti-HEV IgG foi verificada em cinco (21,7%) dos indivíduos que relataram ter sido transfundidos e em 21(7,3%) dos que não foram transfundidos. Essa diferença apresentou significância estatística (OR=3,5; IC95%= 1,2-1,4) ($p=0, 016$).

Tabela 8- Análise patológica pregressa de pessoas expostas a suínos em relação a presença do anti-HEV IgG, Mato Grosso, 2009-2010.

Características	anti-HEV + (%)	anti-HEV – (%)	OR (IC95%)	p
Icterícia no passado				
Não	24 (8,5)	258 (91,5)	1,0	
Sim	2 (7,1)	26 (92,9)	0,8 (0,2-0,3)	NS
História familiar de hepatite				
Não	22 (8,7)	231 (91,3)	1,0	
Sim	4 (7,0)	53 (93,0)	0,8 (0,3-2,4)	NS
Transfusão de sangue				
Não	21 (7,3)	266 (92,7)	1,0	
Sim	5 (21,7)	18 (78,3)	3,5 (1,2-10,4)	0,016

NS: não significativo ($p > 0,05$); OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança.

5.3.3 Presença de anti-HEV e variáveis sanitárias.

Aspectos sanitários, que poderiam revelar maior exposição dos indivíduos a contaminação, como acesso a água tratada e destinação dos dejetos também não foram associados à positividade para anti-HEV (Tabela 9).

5.3.4 Anti- HEV em relação ao tipo de propriedade e exposição a animais.

O tipo de propriedade (de subsistência familiar, tecnificada ou matadouro) não foi relacionado com a distribuição de positividade para anti-HEV IgG.

Quanto maior o tempo de trabalho com suínos, maior a presença de anti-HEV IgG, embora sem significância estatística ($p = 0,651$).

A presença de anti-HEV IgG foi verificada em 15 (12,8%) dos indivíduos que relataram proporção à criação de outras espécies de animais na propriedade (aves, gado bovino e caprinos), além dos suínos. Esta proporção foi significativamente superior àquela verificada entre os expostos exclusivamente a suínos (5,7%) ($p = 0,047$).

A presença da anti-HEV IgG foi verificada em 16 (9,4%) dos indivíduos que abatiam suínos e 23 (9,8%) dos indivíduos que manipulavam as carcaças desses animais.

Analisando as duas variáveis de forma independente, não se observou diferença significativa (OR=1,3; IC95%= 0,5-3,3) e (OR=2,6; IC95%= 0,7-11,4) (Tabela 10).

Tabela 9- Análise dos fatores sanitários de pessoas expostas a suínos em relação à presença de anti-HEV IgG, Mato Grosso, 2009-2010.

Características	anti-HEV + (%)	anti-HEV - (%)	OR (IC95%)	p
Água para consumo				
Não tratada	16 (7,6)	194 (90,8)	1,0	
Tratada	10 (10,0)	90 (90,0)	1,3 (0,5-3,3)	NS
Rede de água				
Pública	6 (9,2)	59 (90,8)	1,0	
Córrego	2 (7,4)	25 (92,6)	0,7 (0,1-4,1)	NS
Poço	18 (8,3)	200 (91,7)	0,9 (0,3-2,7)	NS
Rede de esgoto				
Fossa séptica	13 (8,7)	136 (91,3)	1,0	
Fossa seca	13 (8,4)	141 (91,6)	1,0 (0,4-2,3)	NS
Meio ambiente	0 (0)	7 (100,0)	-	

NS: não significativo ($p > 0,05$); OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança.

5.4 Análises ajustada das variáveis associadas ao anti-HEV na análise univariada

Com intuito de verificar se as associações encontradas na análise univariada entre a presença de anti-HEV e “história de transfusão” e “exposição a outras criações de animais”, foi constituído um modelo de regressão logística, através do software Stata 8.2 (2006). Este modelo, controlado por gênero e idade, não confirmou as associações (Tabela 11).

De modo que “história de transfusão” e “exposição a outras criações de animais” podem ter funcionado como variáveis de confusão ou representar algum viés na

seleção da amostra ou coleta de dados. Ao final dessa análise, não foi possível identificar as variáveis que estavam estatisticamente ligadas à presença de IgG anti-HEV.

Tabela 10- Análise do tipo de exposição ocupacional a suínos e anti-HEV IgG, Mato Grosso, 2009-2010

Características	anti-HEV + (%)	anti-HEV – (%)	OR (IC95%)	p
Categoria de trabalho				
Propriedade de subsistência	15 (8,2)	169 (91,8)	1,0	
Propriedade tecnificada	6 (9,2)	59 (90,8)	0,9 (0,3-2,3)	NS
Matadouro	5 (8,2)	56 (91,8)	0,9 (0,3-2,8)	NS
Tempo de exposição aos suínos				
≤ 1ano	1 (3,1)	31 (96,9)	1,0	NS
1 † 5 anos	7 (7,6)	85 (92,4)	2,5 (0,3-57,4)	
5 † 10 anos	5 (10,0)	45 (90,0)	3,4 (0,3-81,8)	
≥10 anos	13 (9,6)	123 (90,4)	3,3 (0,4-69,6)	
Criação de outros animais				
Não	11 (5,7)	182 (94,3)	1,0	
Sim	15 (12,8)	102 (87,2)	2,4 (1,0-5,9)	0, 047
Abate suíno				
Não	10 (7,1)	130 (92,9)	1,0	
Sim	16 (9,4)	154 (90,6)	1,3 (0,5-3,3)	NS
Manipula carcaça				
Não	3 (4,0)	72 (96,0)	1,0	
Sim	23(9,8)	212 (90,2)	2,6 (0,7-11,4)	NS

NS: não significativo ($p>0,05$); OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança

Tabela 11 – Análise multivariada para ajuste de variáveis inicialmente associadas ao anti-HEV entre trabalhadores da zona rural de Mato Grosso, 2009-2010.

Variáveis	HEV positivo			
	OR bruta (IC95%)	p	OR ajustada (IC95%)	p
Idade*	-	0, 052**	1,0 (0,99-1,03)	NS
Sexo	0,5 (0,2- 1,3)	0, 183	0,6 (0,25-1,42)	NS
Transfusão	3,5 (1,2-10,4)	0, 016	1,0 (0,99-1,03)	NS
Outro animal	2,4 (1,0- 5,9)	0, 047	1,9 (0,82-4,45)	NS

NS: não significativo ($p>0,05$); OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança. *Idade analisada como variável contínua (por ano). **Valor de p da comparação das medianas dos grupos anti-HEV positivo e negativo pelo teste de Mann-Whitney.

6. DISCUSSÃO

A demonstração de alta prevalência de anti-HEV em criações de suínos no Brasil nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Mato Grosso levanta a hipótese, feita em outros países, que exista um risco maior de exposição entre pessoas que manipulam esses animais ou suas carcaças (Guimarães et al, 2005; Paiva et al, 2007; dos Santos et al, 2009). A grande variabilidade na homologia genômica encontrada entre humanos e suínos leva ao deslocamento das atenções para reservatórios animais (Lu, Li, Hagedorn, 2006).

No Estado de Mato Grosso algumas pesquisas já foram realizadas encontrando prevalência para anti-HEV em humanos e em suínos (Pang et al, 1995; Souto et al, 1997; Souto e Fontes, 1998; Guimarães et al, 2005).

O perfil sócio demográfico da população de estudo foi composto por: famílias típicas do entorno das cidades mato-grossenses cuja criação de suínos é doméstica, operários que trabalhavam em propriedades certificadas por órgãos estaduais e federais e operários de frigorífico/abatedouro que estavam expostos aos suínos desde a recepção dos animais até o abate. O local de estudo foi escolhido por ser representativo de uma região que tradicionalmente produz suínos para consumo (pequenas propriedades rurais) e para comercialização (propriedades tecnificadas e frigorífico). A entrevista e coleta de material no local de trabalho dos indivíduos expostos aos suínos minimizaram o risco classificatório do tipo de exposição. Todos os participantes expostos aos suínos tinham residência permanente nas localidades visitadas.

Os ELISA anti-HEV disponíveis utilizam apenas antígenos derivados de genótipo 1 e 2. Por esse fato, acredita-se que estes testes possam subestimar a soroprevalência do HEV em regiões não endêmicas, onde o genótipo 3 do HEV é o mais prevalente. Esse fato pode ser demonstrado pela grande variabilidade na soroprevalência (0,26-21,3%) em

diversos estudos do mundo (Boutrouille et al, 2007; Mansuy et al, 2008; Bendall et al, 2010). Não se pode descartar um resultado diferente do encontrado, caso outro kit tivesse sido utilizado.

A prevalência de anti-HEV foi de 8,4%, sendo superior a de um estudo nacional que também avaliou indivíduos expostos aos suínos (Vital et al, 2005). Porém, não foi estatisticamente superior à prevalência encontrada entre os doadores de sangue (4,0%) de Cuiabá. Esta falta de diferença estatística pode ter sido proporcionada pelo pequeno número de doadores (erro tipo II).

Estudos pesquisando o mesmo grupo de risco já foram realizados em vários países considerados não endêmicos encontrando prevalências para anti-HEV IgG maiores que as encontradas neste estudo com significância frequentemente relacionada com idade e com os fatores de risco como exposição ocupacional aos suínos, histórico de viagens para outros países endêmicos, beber água não tratada e leite não fervido (Drobeniuc et al, 2001; Li et al, 2006; Perez-Garcia et al, 2007; Galiana et al, 2008; Galiana, Fernández-Barredo e Pérez-Gracia, 2010).

No Brasil, poucas pesquisas abordaram trabalhadores rurais, manipuladores de animais em relação ao risco de exposição ao HEV. Em 2005, um estudo que pesquisava a prevalência em animais e manipuladores de suínos (6,4%) foi realizado no Rio de Janeiro (Vital et al, 2005). Neste trabalho a proporção de resposta positiva para anti-HEV na população exposta aos suínos de regiões rurais de municípios do estado de Mato Grosso foi proporcionalmente semelhante aos resultados de estudos realizados anteriormente na América Latina e no Brasil.

Em outros inquéritos analisando HEV realizados no Estado de Mato Grosso foram observados diferentes grupos populacionais, como mineradores, casos de hepatite

aguda e crianças provenientes de regiões onde as condições econômicas e sanitárias são baixas. A prevalência para anti-HEV variou de 3,3-12,6% (Pang et al, 1995; Souto et al, 1997; Souto e Fontes, 1998, Assis et al, 2002).

Os participantes foram distribuídos igualmente quanto ao sexo, verificando-se uma prevalência maior no sexo feminino (10,8%) que no masculino, porém sem significância estatística. Em outros estudos é relatado que os homens podem estar mais frequentemente expostos ao HEV que as mulheres, provavelmente por atividades predominantemente masculinas, como a função de manejar animais de maior porte. Nos estudos de grupos populacionais, estes fatos podem ser confirmados pela maior prevalência de HEV encontrada no sexo masculino, entre os criadores de suínos, veterinários e funcionários de matadouros (Drobeniuc et al, 2001; Meng et al, 2002; Vitral et al, 2005; Galiana, Fernandez-Barreto e Pérez-Garcia, 2010). (Meng et al, 2002; Dalton et al, 2007a)

Quando os participantes foram classificados por faixa etária, notou-se uma tendência de maior positividade do anti-HEV nos extratos mais velhos, maiores de 50 anos (12,5%), mas também não se verificou associação estatística. Embora a média e a mediana de idade dos participantes anti-HEV positivos tenha sido maior que a dos anti-HEV negativos, não houve associação do anti-HEV com idade crescente na análise multivariada. Sabe-se que a soroprevalência de anticorpos de linfócitos B de memória das doenças infecciosas costuma se elevar com o aumento da idade, pelo risco cumulativo de exposição durante a vida (Villalba et al, 2010). A baixa escolaridade pode acarretar menor informação sobre conceito de higiene, o que levaria a um maior risco de contágio com excretas de animais ou consumo de carne crua (Galiana et al, 2008). No entanto, não houve associação entre a presença de anti-HEV IgG com estas variáveis.

E, embora a maior parte da amostra tenha vindo de três municípios rurais, a inclusão de participantes de outros quatro municípios ampliou a representatividade do

grupo. No presente estudo, a maioria (85,7%) dos municípios visitados apresentou pessoas soropositivas para anti-HEV IgG. A única exceção foi o município de Santo Antônio de Leverger. Porém, não houve associação entre município de residência e presença da IgG anti-HEV. O município de Cuiabá demonstrou maior prevalência para anti-HEV IgG quando comparado com outros municípios visitados. Os indivíduos positivos para anti-HEV IgG desse município foram restritos a uma pequena propriedade rural visitada. Este fato sugere novas investigações.

Histórico de hepatite pode apontar pessoas que tiveram infecção pelo HEV sem ter conhecimento desse fato (Paraná et al, 1997; Souto et al, 1997). Histórico de transfusão sanguínea pode significar exposição a outros fatores hospitalares ou cirúrgicos, que propiciariam contato com este patógeno (Khuroo, Kamili e Yattoo, 2004). Neste estudo não foram encontradas diferenças estatísticas entre prevalência de anti-HEV IgG e a presença icterícia ou história familiar de hepatite.

Uma das características observada nas pequenas propriedades, cuja criação de suínos era doméstica, foi o hábito de construir pocilgas próximas as residências e o despejo dos dejetos dos suínos no meio ambiente. Além disso, não foi observada a utilização de medidas de proteção individual durante o manejo dos suínos.

Indicadores de condições sanitárias podem demonstrar que falta de acesso a água tratada e destinação precária dos dejetos aumentam exposição à patógenos de transmissão enteral, como o HEV. As várias fontes de água, “in natura” e tratada, não demonstraram relação com presença de anti-HEV IgG.

Os indivíduos expostos aos suínos eram, na sua maioria, oriundos de pequenas propriedades de subsistência. Levando-se em consideração que as condições sanitárias dessas propriedades são precárias, esperava-se uma maior soroprevalência nesses

indivíduos, quando comparados com os grupos originados de propriedades tecnificadas e matadouros certificados. Não houve diferença significativa de prevalência com relação à categoria de trabalho, propriedades de subsistência, propriedades tecnificadas ou frigorífico.

Com relação ao aumento do tempo de trabalho, a partir de cinco anos, com suínos este estudo observou um aumento na soroprevalência para anti-HEV IgG. Porém, não foi observado diferença significativa com relação ao tempo de exposição aos suínos. A exposição ocupacional a outros animais como galinhas, bovinos e caprinos foi relatada por 12,8% da população estudada. A prevalência de anti-HEV em diferentes espécies de animais domésticos podem sugerir a presença outras fontes de infecção, além da suína, para seres humanos.

E finalmente, variáveis de especial interesse do presente estudo como, manipulação de animais ou de suas carcaças, normalmente suínos, podem expor as pessoas ao HEV. Porém, participar do abate de suínos ou a exposição a suas carcaças não demonstraram significância com a presença de anti-HEV IgG.

Este foi o primeiro estudo em trabalhadores rurais expostos aos suínos no Estado de Mato Grosso, com objetivo de conhecer a prevalência da infecção pelo HEV e os possíveis mecanismos de infecção. Inicialmente, foram observadas associações significativas entre a presença de anti-HEV IgG e o trabalho com outros animais e transfusão de sangue. No entanto, apesar das possibilidades de associações citadas acima, após ajustamento por regressão logística, nenhuma variável manteve associação com a positividade para o anti-HEV. É possível que as variáveis analisadas possuam influencia, mas não determinem a prevalência do HEV nessa população.

De modo que o presente estudo estimou a prevalência de 8,4% de anti-HEV em trabalhadores e moradores rurais que manuseiam suínos ou suas carcaças, mas não encontrou diferenças estatísticas sobre os controles urbanos e sobre outros estudos brasileiros. Igualmente não foi possível identificar os fatores de risco associados com esta distribuição do marcador na amostra estudada.

7. CONCLUSÃO

Concluiu-se com este estudo que:

- A prevalência de anti-HEV IgG entre os indivíduos expostos a suínos de regiões rurais de Mato Grosso foi de 8,4% (IC95%=5,6- 12,2).
- A prevalência encontrada entre os doadores de sangue (4,0%) de área urbana sem exposição aos suínos foi menor que a da população exposta (8,4%).
- Houve discreta tendência de elevação de prevalência conforme aumentava o tempo de exposição aos suínos no grupo de interesse.
- Não foi encontrada nenhuma associação entre a presença do anti-HEV e quaisquer das variáveis investigadas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abravanel-Legrand F, Kamar N, Sandres-Saune K, Garrouste C, Dubois M, Mansuy J et al. Characteristics of autochthonous hepatitis E vírus infection in solid-organ transplant recipients in France. *J Infect Dis.* 2010; 202: 835-844.
- ACRISMAT. Rebanho suíno de Mato Grosso. [online]. Mato Grosso. 2010. Disponível em: < <http://acrismat.com.br>> [Acesso em 2011 Jan 12]
- Aggarwal R, Naik S. Epidemiology of hepatitis E: Current status. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009; 24: 1484-1493.
- Albert MB, Bellato NL, Klein ZP. Plano diretor de regionalização da assistência à saúde, PDR. Secretaria de Saúde do estado de Mato Grosso. [online]. Mato Grosso. 2005. Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf_completo.pdf> [Acesso em 2011 mar 12]
- Alberto FS, Pires S, Felix J, Figueiredo A, Silva L, Franco M et al. Prevalence of hepatitis E virus antibody in non endemic population-prospective study. *J Port Gastroenterol.* 2009; 16: 191-197.
- Aminiafshar S, Alimaghani M, Gachkar L, Yousefi F, Attarchi D. Anti hepatitis E vírus seropositivity in a group of blood donors. *Iranian J Publ Health.* 2004; 33: 53-56.
- Arankalle VA, Tsarev SA, Chadha MS, Alling DW, Emerson SU, Banerjee K et al. Age-specific prevalence of antibodies hepatitis A and E viruses in Pune, India, 1982 and 1992. *J Infect Dis.* 1995; 171: 447-500.
- Arankalle VA, Joshi MV, Kulkarni AM, Gandhe SS, Chobe LP, Rautmare SS, et al. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in different Indian animal species. *J Viral Hepat.* 2001; 8: 223-227.
- Arankalle VA, Chobe LP, Walimbe AM, Yergolkar PN, Jacob GP. Swine HEV infection in south India and phylogenetic analysis (1985-1999). *J Med Virol* 2003; 69: 391-396.
- Assis SB, Souto FJ, Fontes CJ e Gaspar AN. Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite A e E em escolares em um município da Amazônia no estado de Mato Grosso. *Soc Bras Med Trop.* 2000; 35: 155-158.
- Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM, Savinov AP et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology.* 1983; 20: 23-31.
- Balayan MS, Usmanov RK, Zamyatina NA, Djumaliev DI, Karas FR. Brief report: experimental hepatitis E infection in domestic pigs. *J Med Virol.* 1990; 32: 58-59.
- Begun N, Polipali SK, Husain SA, Kumar A. Duration of hepatitis E viremia in pregnancy. *Int J Gynecol Obstet.* 2010; 108: 207-210.
- Bendall R, Ellis V, Ijaz S, Ali R, Dalton H. A Comparison of two commercially available anti-HEV IgG kits and a re-evaluation of anti-HEV IgG seroprevalence data in developed countries. *J Med Virol.* 2010; 82: 799-805.

- Bihl F, Negro F. Hepatitis E: a zoonosis adapting to humans. *J Antimicrob Chemother.* 2010; 65: 817-821.
- Bilic I, Jaskulska B, Basic A, Morrow CJ, Hess M. Sequence analysis and comparison of avian hepatitis E viruses from Australia and Europe indicate the existence of different genotypes. *J Gen Virol.* 2009; 90: 863–873.
- Bortoliero AL, Bonametti AM, Morimoto HK, Matsuo T, Reiche EM. Seroprevalence for hepatitis E virus (HEV) infection among volunteer blood donors of the regional blood bank of Londrina, state of Paraná. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2006; 48: 87-92.
- Boutrouille A, Bakkali-Kassimi L, Cruciere C, Pavio N. Prevalence of anti hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *J Clin Microbiol.* 2007; 45: 2009-2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais. Dados preliminares da infecção pelas hepatites virais no Brasil versão preliminar. Data de publicação: 28/07/2010. Brasília: MS/DST. 2010. [online]. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/publicacao/boletim-epidemiologico-das-hepatites-virais-2010>> [Acesso em 2010 out 13].
- BRASIL. Ministério da Saúde. As hepatites virais. Casos notificados até 31/12/2009 e registrados no SINAN 1999-2009. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Sistema de Informações de Agravos de Notificação. Brasília: MS/SINAN. 2010. [online]. Disponível em: <http://www.cosemsrj.org.br/images/aviso_hepatite.pdf> [Acesso em 2011 abr 12].
- Carrilho FJ, Mendes Clemente C, Silva LC. Epidemiology of hepatitis A and E virus infection in Brazil. *Gastroenterol Hepatol.* 2005; 28: 118-125.
- Chandra V, Taneja S, Kalia M, Jameel S. Molecular Biology and pathogenesis of hepatitis E virus. *J Biosci.* 2008; 33: 451.
- Clemente-Casares P, Pina S, Buti M, Jardi R, Martin M, Bofill-Mas S, et al. Hepatitis E virus epidemiology in industrialized countries. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9: 448–454.
- Cordova CM, Blatt SL, Botelho TKR, Dalmarco EM. Serology for Hepatitis E virus in pregnant women: clinically important or unnecessary? *Rev bras anal clin.* 2007; 39: 269-273. [online]. Paraná. 2007. Disponível em: <http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac_39_04/> [Acesso em 2009 nov 10]
- Dalton HR, Fellows HJ, Gane EJ, Wong P, Gerred S, Schroeder B, et al. Hepatitis E in New Zealand. *J Gastro Hepatol.* 2007a; 22: 1236-1240.
- Dalton HR, Thuraiajah PH, Fellows HJ, Hussaini HR, Mitichell J, Bendall R, et al. Autochthonous hepatitis E in south west England. *J Viral Hepat.* 2007b; 14: 304-309.
- Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis.* 2008; 89: 698-709.

- dos Santos DR, Vitral CL, de Paula VS, Marchevsky RS, Lopes JF, Gaspar AM, et al. Serological and molecular evidence of hepatitis E virus in swine in Brazil. *Vet J*. 2009; 182: 474–480.
- dos Santos DR, Lewis-Ximenez LL, da Silva MF, de Sousa PS, Gaspar AM, Pinto MA. First report of a human autochthonous hepatitis E virus infection in Brazil. *J Clin Virol*. 2010; 47: 276–279.
- Drobeniuc J, Favorov MO, Shapiro CN, Bell BP, Mast EE, Dadu A et al. Hepatitis E virus antibody prevalence among persons who work with swine. *Infect Dis*. 2001; 184: 1594–1597.
- Emerson SU, Arankalle VA, Purcell RH. Thermal stability of hepatitis E virus. *J Infect. Dis*. 2005; 192: 930–933.
- Emerson SU, Purcell RH. Hepatitis E virus. *Pediatr Infect Dis J*. 2007a; 26: 1147-1148.
- Emerson SU, Purcell RH. Hepatitis E virus. In: Knipe DM, Howley PM. *Fields Virology*. 5^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2007b; 78: 3047-3058.
- Faramawi MF, Johnson E, Chen S, Pannala PR. The incidence of hepatitis E virus infection in general population of the USA. *Epidemiol Infect*. 2010:1-6.
- Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Detection and characterization of infectious Hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery stores in the USA. *J Gen Virol*. 2007; 88: 912-917.
- Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *Int J Food Microbiol*. 2008; 123: 32–37.
- Fitzsimons D, Hendrickx G, Vorsters A, Van Damme P. Hepatitis A and E: update on prevention and epidemiology. *Vaccine*. 2010; 28: 2062.
- Focaccia R, Sette H, Conceição OJ. Hepatitis E in Brazil. *Lancet*. 1995; 346: 1165.
- Galiana C, Fernández-Barredo S, García A, Gómez MT, Pérez-Gracia MT. A short report: occupational exposure to hepatitis E virus (HEV) in swine workers. *Am J Trop Med Hyg*. 2008; 78: 1012–1015.
- Galiana C, Fernández-Barredo S, Pérez-Gracia MT. Prevalencia del virus de la hepatitis E (VHE) y factores de riesgo en trabajadores de explotaciones porcinas y donantes voluntarios. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010; 28: 602-607.
- Gandolfo GM, Ferri GM, Conti L, Antenucci A, Marrone R, Frasca AM et al. Prevalence of infections by hepatitis A, B, C and E viruses in two different socioeconomic groups of children from Santa Cruz, Bolivia. *Med Clin (Barc)*. 2003; 120: 725-727.
- Gonçales NS, Pinho JR, Moreira RC, Saraceni CP, Spina AM, Stucchi RB, et al. Hepatitis E virus immunoglobulin G antibodies in different populations in Campinas, Brazil. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000; 7: 813-816.

Guimarães RF, Saddi T, Pinto M, Vitral CL, Souto FJ. Hepatitis E virus antibodies in swine herds of Mato Grosso state, central Brasil. *Braz J Microbiol.* 2005; 36: 223-226.

Guo QS, Yan Q, Xiong JH, Ge SX, Shih JW, Ng MH et al. Prevalence of hepatitis E virus in chinese blood donors. *J Clin Microbiol.* 2010; 48: 317-318.

Guu TS, Zheng L, Qiaozhen Y, Douglas AM, Kunpeng L, Changcheng Y et al. Structure of the hepatitis E virus-like particle suggests mechanisms for virus assembly and receptor binding. *Proc Natl acad Sci USA.* 2009; 106: 12992-12997.

Halbur PG, Kasorndorkbua C, Gilbert C, Guenette D, Potters MB, Purcell RH et al. Comparative pathogenesis of infection of pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a human. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 918-923.

Haqshenas G, Shivaprasad HL, Woolcock PR, Read DH, Meng XJ. Genetic identification and characterization of a novel virus related to human hepatitis E virus from chickens with hepatitis-splenomegaly syndrome in the United States. *J Gen Virol,* 2001; 82: 2449-2462.

Herremans M, Bakker J, Duizer E, Vennema H, Koopmans MP. Use of serological assays for diagnosis of hepatitis E virus genotype 1 and 3 infections in a setting of low endemicity. *Clin Vaccine Immunol.* 2007; 14: 562-568.

Huang FF, Haqshenas G, Shivaprasad HL, Guemette DK, Woolcock PR, Larsen CT et al. Heterogeneity and seroprevalence of a newly identified avian hepatitis E virus from chickens in the United States. *J Clin Microbiol.* 2002; 40: 4197-202.

Ibarra H, Riedemann S, Toledo C. Seguimientos de anticuerpos contra hepatitis A y E en una cohorte de niños de bajo nivel socioeconómico / Hepatitis A and E virus antibodies in Chilean children of low socioeconomic status. A one year follow-up study. *Rev Med Chile.* 2006; 134: 139-144.

IBGE. Produção da Pecuária Municipal. 2008a. [online]. Brasília (DF). Disponível em: <<http://www.investidura.com.br/biblioteca-juridica/artigos/economia/23322-producao-da-pecuaria-municipal--fonte-ibge-base-ano-de-2008.html>> [Acesso em 2011 jan 28]

IBGE. Projeto Divisão Regional do Brasil em Mesorregiões e Microrregiões demográficas. Diretoria de Geografia e Ciências. [online]. Brasil. 2008b. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/default.shtm>> [Acesso em 2011 mar 29]

IBGE. Censo demográfico 2010. [online]. Brasil. 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/censo2010/>> [Acesso em 2011 jan 28]

ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus taxonomy: release. 2009.(online). Disponível em: <<http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?bhcp=1>> [Acesso em 2010 mai 21]

Jiang YZ, Tian RG, Lu J, Bi SL. Evaluation of the ELISA diagnostic kits for hepatitis E virus antibody in the reference serum, the suspect patients of hepatitis E and normal persons' sera. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi.* 2007; 21: 59-61. Chinese.

- Jiménez de Oya N, Escribano-Romero E, Blázquez AB, Saiz JC. El virus de la hepatitis E: implicaciones zoonóticas. *Gastroenterol Hepatol*. 2007; 30:408-418.
- Kamar N, Selves J, Mansuy JM, Ouezzani L, Peron JM, Guitard J et al. Hepatitis E Virus and Chronic Hepatitis in Organ-Transplant Recipients. *N Engl J Med*. 2008; 358: 811-817.
- Khuroo MS, Duermeyer W, Zargar SA, Ahanger MA, Shah MA. Acute sporadic non-A, non-B hepatitis in India. *Am J Epidemiol*. 1983; 118: 360–364.
- Khuroo MS, Kamili S, Rar MY, Moecklii R, Jameel S. Hepatitis E and long-term antibody status. *Lancet*. 1993; 341:1355.
- Khuroo MS, Kamili S, Jameel S. Vertical transmission of hepatitis E virus. *Lancet*. 1995; 345: 1025-1026.
- Khuroo MS, Kamili S, Yattoo GN. Hepatitis E virus infection may be transmitted through blood transfusions in an endemic area. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004; 19:778-784.
- Khuroo MS, Khuroo MS. Seroepidemiology of a second epidemic of hepatitis E in a population that had recorded first epidemic 30 years before and has been under surveillance since then. *Hepatol Int*. 2010; 4: 494-499.
- Koizumi Y, Isoda N, Sato Y, Iwaki T, Ono K, Ido K et al. Infection of a Japanese patient by genotype 4 hepatitis E virus while traveling in Vietnam. *J Clin Microbiol*. 2004; 42: 3883–3885.
- Lewis HC, Wichmann O, Duizer E. Transmission routes and risk factors for autochthonous hepatitis E virus infection in Europe; a systematic review. *Epidemiol Infect*. 2010; 138: 145-166.
- Li TC, Chijiwa K, Sera N, Ishibashi T, Etoh Y, Shinohara Y, et al. Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11: 1958–1960.
- Li RC, Ge SX, Li YP, Zheng YJ, Nong Y, Guo QS et al. Seroprevalence of hepatitis E virus infection, rural southern people's Republic of China. *Emerg Infec Dis*. 2006 ; 12: 1682-1688.
- Lu L, Li C, Hagedorn CH. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol*. 2006; 16: 35–36.
- Maila HT, Bowyer SM, Swanepoel R. Identification of a new strain of hepatitis E virus from an outbreak in Namibia in 1995. *J Gen Virol*. 2004; 85: 89-95.
- Mansuy JM, Legrand-Abrevanel F, Calot JP, Peron JM, Alric L, Agudo S, et al. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from south west France. *J Med Virol*. 2008; 80: 289-293.
- Meng, XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94: 9860–9865.

Meng XJ, Halbur PG, Haynes JS, Tsareva TS, Bruna JD, Royer RL, et al. Experimental infection of pigs with the newly identified swine hepatitis E virus (swine HEV), but not with human strains of HEV. *Arch Virol*. 1998a; 143:1405-15.

Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS, Govindarajan S, Bruna JD, Mushahwar IK, et al. Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J Virol*. 1998b; 72: 9714-9721.

Meng XJ, Wiseman B, Elvinger F, Guenette DK, Toth TE, Engle RE, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and other countries. *J Clin Microbiol*. 2002; 40: 117-122.

Meng XJ. Swine hepatitis E virus: cross-species infection and risk in xenotransplantation. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2003; 278: 185–216.

Meng XJ. Recent advances in Hepatitis E virus. *J Vir Hepat*. 2010a; 17 : 153 -161.

Meng XJ. Hepatitis E vírus; Animal reservoirs and zoonotic risk. *Vet Microbiol*. 2010b; 140: 256-265.

MAPA. Instrução normativa n 19 de 15/02/2002. Adota as disposições sanitárias para a regionalização da PSC no Mercosul. Secretaria de defesa agropecuária. 2002. [online]. Brasília (DF). Disponível em: <[Http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/outras_normas/instrucao_normativa_019.ht](http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/outras_normas/instrucao_normativa_019.ht)> [Acesso em 2011 abr 19].

MPD. Diagnóstico HEV ELISA. [online]. Disponível em: <http://www.diagnostictchnology.com.au/persistent/catalogue_files/> [Acesso em 2011 mar 19]

Munné MS, Vladimírsky S, Otegui L, Castro R, Brajterman L, Soto S. Identification of the first strain of swine hepatitis E vírus in South America and prevalence of anti-HEV antibodies in swine in Argentina. *J Med Virol*. 2006; 78: 1579–1583.

Mushahwar IK. Hepatitis E Virus: molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. *J Med Virol*. 2008; 80: 646–658.

Myint KS, Endy TP, Gibbons RV, Laras K, Mammen MP Jr, Sedyaningsih ER, et al. Evaluation of diagnostic assay for hepatitis E virus in outbreak setting. *J Clin Microbiol*. 2006a; 4: 1581–1583.

Myint KS, Endy TP, Shrestha MP, Shrestha SK, Vaughn DW, Innis BL, et al. Hepatitis E antibody kinetics in Nepalese patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006b; 100: 938-941.

Navaneethan U, Mohajer M, Shata M. Hepatitis E and pregnancy; understanding the pathogenesis. *Liver Int*. 2008; 28: 1190-1199.

Nakamura M, Takahashi K, Taira K, Taira M, Sakugawa H, Arai M. et al. Hepatitis E virus infection in wild mongooses of Okinawa, Japan: demonstration of anti-HEV antibodies and a full-genome nucleotide sequence. *Hepato Res*. 2006; 34: 137–140.

Nicand E, Bigaillon C, Tesse S. Hepatitis E; An emerging disease? *Pathol Biol*. 2009; 57: 203-211.

- Obriadina A, Meng J, Ulanova T, Trinta K, Burkov A, Fields H. A new enzyme immunoassay for the detection of antibody to hepatitis E virus. *J Gastroenterol Hepatol*. 2002; 17: 360-364.
- Okamoto H. Genetic variability and evolution of hepatitis E virus. *Virus Res*. 2007; 127: 216–228.
- Paiva HH, Tzaneva V, Haddad R, Yokosawa J. Molecular characterization of swine hepatitis E virus from southeastern Brazil. *Braz J Microbiol*. 2007; 38: 693-698.
- Pang L, Alencar FE, Cerutti C Jr, Milhous WK, Andrade AL, Oliveira R et al. Hepatitis E infection in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 1995; 52: 347-348.
- Paraná R, Cotrim HP, Cortey-Boennec ML, Trepo C, Lyra LGC. Prevalence of hepatitis E virus IgG antibodies in patients from a referral unit of liver diseases in Salvador, Bahia, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 1997; 57: 60-61.
- Pavio N, Mansuy JM. Hepatitis E in high-income countries. *Curr Opin Infect Dis*. 2010a; 23: 521-527.
- Pavio N, Meng XJ, Renou C. Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks. *Vet Res*. 2010b; 41: 46.
- Peralta B, Biarnés M, Ordóñez G, Porta R, Martín M, Mateu E et al. Evidence of widespread infection of avian hepatitis E virus (avian HEV) in chickens from Spain. *Vet Microbiol*. 2009; 137: 31–36.
- Pérez-García MT, Mateos ML, Galiana C, Fernández-Barredo S, Gomes MT, Moreira V. Autochthonous hepatitis E infection in a slaughterhouse worker. *Am J Hyg*. 2007; 77: 893-896.
- Péron JM, Mansuy JM, Récher C, Bureau C, Poirson H, Alric L et al. Prolonged hepatitis E in an immunocompromised patient. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006; 21: 1223-1224.
- Pujol FH, Favorov MO, Marcano T, Esté JA, Magris M, Liprandi F, et al. Prevalence of antibodies against hepatitis E virus among urban and rural populations in Venezuela. *J Med Virol*. 1994; 42: 234-236.
- Purcell RH, Emerson SU. Animal models of hepatitis A and E. *ILAR J*. 2001; 42:161-177.
- Purcell RH, Emerson SU. Hepatitis E: An emerging awareness of an old disease. *J Hepatol*. 2008; 48: 494-503.
- Purcell RH, Emerson SU. Hidden danger: the raw facts about hepatitis E virus. *J Infect Dis*. 2010; 202: 819-821.
- Santos DC, Souto FJ, Vitral C L, Gaspar AM. Seroepidemiological markers of enterically transmitted viral hepatitis A and E in individuals living in a community located in the north area of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2002; 97: 637-640.
- Shrestha MP, Scott RM, Joshi DM, Mammen MP Jr, Thapa GB, Thapa N et al. Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *Engl J Med*. 2007; 356: 895-903.

- SICME. Secretaria de Indústria Comércio Minas e Energia. Balanço energético do estado de Mato Grosso e mesorregiões. BEEMT. 2008. [online]. Disponível em: <URL:<http://www.sicme.mt.gov.br/>> [Acesso em 2011 mar 29].
- Somani SK, Aggarwal R, Naik SR, Srivastava S, Naik S. A serological study of intrafamilial spread from patients with sporadic hepatitis E vírus infection. *J Viral Hepat.* 2003; 10: 446-449.
- Souto FJ, Fontes CJ, Parana R, Lyra LG. Short report: further evidence for hepatitis E in the brazilian amazon. *Am J Trop Hyg.* 1997; 57: 149-150.
- Souto FJ e Fontes CJ. Prevalence of IgG class antibodies against hepatitis E vírus in a community of the southern amazon: a randomized survey. *Am Trop Med Parasitol.* 1998; 92: 623-625.
- STATA/SE STATA. Para análise de dados. [online] Disponível em: <<http://www.stata.com/statalist/archive/>> [Acesso em 2011 mar 29].
- Takahashi K, Kitajima N, Abe N, Mishiro S. Complete or near-complete nucleotide sequences of hepatitis E virus genome recovered from a wild boar, a deer, and four patients who ate the deer. *Virology.* 2004; 330: 501–505.
- Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, Suzuki H, Fujimura H, Masuko K et al. Simultaneous detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (HEV) is highly specific for diagnosis of acute HEV infection. *J Clin Microbiol.* 2005; 43: 49–56.
- Tam AW, Smith, MM, Guerra ME, Huang CC, Bradley DW, Fry KE, Reyes GR. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology.* 1991; 185: 2110–2131.
- Tei S, Kitajima N, Takajashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E vírus from deer to humans beings. *Lancet.* 2003; 362: 371-373.
- Tokita H, Harada H, Gotanda Y, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H. Molecular and serological characterization of sporadic acute hepatitis E in a Japanese patient infected with a genotype III hepatitis E virus in 1993. *J Gen Virol.* 2003; 84: 421-427.
- Tolari F, Del Chiaro L, Card R, Mazze M, Bandecchi P, Banks M. Phylogenetic study of viral isolates of swine and human hepatitis E vírus. *Veter Res Communicat.* 2006; 30: 273–276.
- Trinta KS, Liberto MI, de Paula VS, Yoshida CF, Gaspar AM. Hepatitis E virus infection in selected Brazilian population. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001; 96: 25-29.
- Tsarev S, Tsareva T, Emerson S, Govindaraja S, Shapiros M, Gerine J et al. Successful passive and active immunization of Cynomolgus monkeys against hepatitis. *E. Proc Natl. Acad Sci USA.* 1994; 91: 10198-10202.
- Villalba MC, Guan M, Pérez A, Corredor MB, Frometa SS, Moreno AG, et al. Seroprevalence of antibodies to hepatitis E vírus in two large communities in Havana, Cuba. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010; 104: 772-776.

Vitral CL, Pinto MA, Lewis-Ximenez LL, Khudyakov YE, dos Santos DR, Gaspar AM. Serological evidence of hepatitis E virus infection in different animal species from the Southeast of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005; 100: 2117-2217.

Withers MR, Correa MT, Morrow M, Stebbins ME, Seriwatana J, Webster DW, et al. Antibody levels to hepatitis E virus in North Carolina swine works, non swine works ,swine and Murids. *Am J Trop Med Hyg*. 2002; 66: 384–388.

Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, et al. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J Gen Virol*. 2003; 84: 2351–2357.

Zhao C, Ma Z, Harrison TJ, Feng R, Zhang C, Qiao Z, Fan J, et al. A novel genotype of hepatitis E virus prevalent among farmed rabbits in China. *J Med Virol*. 2009; 81: 1371–1379.

Zhu FC, Zhang J, Zhang XF, Zhou C, Wang ZZ, Huang SJ, et al. Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2010; 376: 849-851.

APÊNDICE 1

ROTEIRO DE ENTREVISTA

**Inquérito soro epidemiológico para avaliação da soroprevalência do anti- HEV IgG
em trabalhadores expostos aos suínos.**

CADASTRO DE PROPRIEDADE RURAL (apenas para o grupo exposto)

Município:	
Localidade:	
Número da propriedade:	
Número de indivíduos na propriedade:	
Data da entrevista:	
CONDIÇÕES SANITÁRIAS	
Abastecimento de água	PÚBLICA CÓRREGO POÇO
Rede de esgoto	FOSSA SECA FOSSA SÉPTICA AMBIENTE

APÊNDICE 2

Inquérito soro epidemiológico para avaliação da soroprevalência do anti- HEV IgG em trabalhadores expostos aos suínos.

QUESTIONÁRIO INDIVIDUAL

Nome:	Número do participante:	
Data da entrevista:		
Classificação quanto ao grupo	Doador	Rural
Município:		
Localidade: (localização do sítio ou da propriedade, apenas para o grupo exposto)		
Número da propriedade: (apenas para o grupo de expostos)		
Aceitou participar do estudo (marcar com um X no quadro correspondente)	SIM	NÃO
Idade: _ _ (em anos completos)		
Sexo :	Masculino	Feminino
(marcar com um X no quadro correspondente)		
Estado Civil (marcar com um X no quadro correspondente)	Casado Viúvo Solteiro Divorciado	
Escolaridade (marcar com um X no quadro correspondente)	Analfabeto Fundamental Médio Superior	
Trabalha com animais	SIM	NÃO
Trabalha ou já trabalhou com suínos	SIM	NÃO
Quanto tempo trabalha/trabalhou com suínos (incluir na faixa mais adequada caso não precise o tempo)	Menos de 1 ano de 1 a 5 anos de 5 a 10 anos Mais de 10 anos	
Já abateu suíno?	SIM	NÃO
Já carneou suíno?	SIM	NÃO
Você já teve icterícia em algum momento? (a questão seguinte deve ser feita apenas em caso de resposta positiva)	SIM	NÃO

A suspeita de hepatite foi confirmada sorologicamente? Qual tipo de hepatite você teve? (a questão deve ser respondida apenas se houve confirmação sorológica)		
	A	
	B	
	C	
	NÃO SABE	
Alguem da casa já teve hepatite?		
	SIM	NÃO
(a questão seguinte deve ser feita apenas em caso de resposta positiva)		
Você sabe qual tipo de hepatite ele/ela teve?		
	A	
	B	
	C	
	Não sabe	
Você já precisou ficar internado em algum momento ?		
	SIM	NÃO
Você já recebeu transfusão de sangue em algum momento?		
	SIM	NÃO
Você já tomou vacina para hepatite?		
	SIM	NÃO
(a questão seguinte deve ser feita apenas em caso de resposta positiva)		
Você se lembra o tipo de vacina para hepatite que tomou?		
	A	
	B	
	Não Sabe	
Que tipo de água você bebe? (marcar com um X no quadro correspondente)		
	Tratada	
	Não tratada	
Qual é o destino dado aos dejetos dos suínos: (apenas para o grupo exposto) (marcar com um X no quadro correspondente)		
	Queimado	
	Fossa	
	Meio ambiente	
	Biodigestores	
	Represa	

APÊNDICE 3

Termo de livre consentimento e esclarecimento.

Universidade Federal de Mato Grosso

Centro de Ciências da Saúde

Termo de Livre Consentimento

Adulto exposto/doador

Você está convidado (a) voluntariamente para participar do projeto ***Prevalência de anticorpos contra o vírus da hepatite E (HEV) em expostos aos suínos de regiões rurais de Mato Grosso, Brasil.***

(Leia e ouça atentamente as informações a seguir antes de dar seu consentimento.)

A Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso no projeto de mestrado está realizando uma pesquisa com os trabalhadores rurais e doadores de sangue com o objetivo de conhecer a soro prevalência da hepatite E em trabalhadores rurais criadores e tratadores de suínos e com doadores voluntários de sangue com objetivo de prevenção deste tipo de hepatite.

Ao concordar você permitirá que;

1. Seja realizada uma entrevista confidencial com perguntas sobre a vida pessoal, comportamentos e problemas de saúde.
2. Seja coletada uma pequena quantidade de sangue venoso para pesquisa de anticorpos para o vírus da hepatite E. A coleta do sangue será feita por técnico treinado utilizando material descartável, ou seja, utilizado uma única vez.

Toda informação pessoal obtida nesta pesquisa será considerada confidencial e a identificação será mantida como informação sigilosa.

Os relatórios deste estudo serão apresentados em forma de tabelas, gráficos, sem nenhuma forma de identificação individual.

Você poderá se quiser receber os resultados dos seus exames. Estes resultados só serão revelados à você. A participação é totalmente voluntária e você poderá se recusar a participar do estudo sem qualquer prejuízo pessoal

Declaro que li e entendi as informações relativas a este estudo e concordo com minha participação pessoal nesta pesquisa

Você gostaria de ser informado sobre os resultados dos exames laboratoriais citados neste documento? Sim: _____ Não: _____

, de 2009.

Assinatura do participante ou responsável;

Assinatura do entrevistador;

APÊNDICE 4
RESULTADO DO EXAME NEGATIVO

Prezado senhor (a),

Esta carta é para informá-lo (a) a respeito do exame de hepatite E realizado no ano de 2009/2010. O procedimento foi a entrevista, através de um questionário, e a coleta de uma amostra de sangue para realização do exame.

O resultado foi **NEGATIVO** para hepatite E, indicando que ainda não teve exposição a esta doença. Por ser uma doença de contaminação fecal-oral são necessárias medidas preventivas como lavagem das mãos, higienização e cozimento adequado dos alimentos, beber água fervida ou filtrada.

Obrigada por sua participação.

Sabrina Monteiro Tosoncin da Silva
Coordenadora da pesquisa sobre hepatite E

RESULTADO DO EXAME POSITIVO

Prezado senhor (a),

Esta carta é para informá-lo (a) a respeito do exame de hepatite E realizado no ano de 2009/2010. O procedimento foi a entrevista, através de um questionário e a coleta de uma amostra de sangue para realização do exame.

O resultado demonstrou que o senhor (a) já teve, no passado, exposição ao vírus da hepatite E de uma forma branda e **agora já está curado**, não precisando de nenhum remédio ou dieta especial. **A hepatite E é viral e não se desenvolve para formas graves, se teve não voltará a ter.**

Obrigada por sua participação.

Sabrina Monteiro Tosoncin da Silva
Coordenadora da pesquisa sobre hepatite E

ANEXO 1

Ministério da Educação
 FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
 HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JÚLIO MÜLLER

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller
 Registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa em 25/08/97

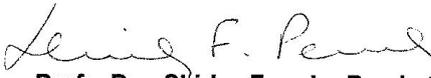
TERMO DE APROVAÇÃO ÉTICA
 DE PROJETO DE PESQUISA

REFERÊNCIA: Projeto de protocolo Nº 634/CEP-HUJM/09

“Com pendências”	<input type="checkbox"/>
Aprovado “ad referendum”	<input checked="" type="checkbox"/>
APROVAÇÃO FINAL	<input type="checkbox"/>
Não aprovado	<input type="checkbox"/>

O projeto de pesquisa intitulado **Prevalência de anticorpos contra o vírus da hepatite E (VHE) em tratadores de suínos na região rural da grande Cuiabá, Mato Grosso**: “”encaminhado pelo (a) pesquisador (a) **Francisco José Dutra Souto** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM, sendo aprovado “ad referendum”.

Cuiabá, 26 de Maio de 2009.


Profa. Dra. Shirley Ferreira Pereira
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM

Hospital Universitário Júlio Müller
 Rua L, SN. Jardim Alvorada. CEP 78048-790 Cuiabá –MT, Brasil
 Fone: 65-3615-7254. e-mail: cephujm@cpd.ufmt.br

ANEXO 2



Governo do Estado de Mato Grosso
Secretaria de Estado de Saúde
MT - HEMOCENTRO

OFICIO Nº28/ RH/APOIO LOGÍSTICO /MT.HEMOCENTRO/2008.

Cuiabá, 22 de abril de 2009.

Prezado Senhor,

Em resposta a solicitação feita por vossa senhoria, para a realização do projeto de pesquisa de mestrado da Bioquímica Sabrina Tosoncin, colocamo-nos à disposição para receber a mestranda e disponibilizá-la o material necessário para a referida pesquisa.

Lembramos que, é obrigatório a aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética.

Sem mais para o momento, agradecemos sua cordialidade e nos colocamos à disposição para quaisquer dúvidas.

Atenciosamente,


Gislene Cristina Gaiva Correa
PNS do SUS/Matrícula 486260038
RH/MT.HEMOCENTRO

De Acordo:


Carla Marques Rondon Campos
Diretora Técnica
MT.HEMOCENTRO

Ilmo Sr.
MS. Francisco José Dutra Souto
FCM - UFMT



ANEXO 3



Estado de Mato Grosso
SECRETARIA DE ESTADO DE DESENVOLVIMENTO RURAL – SEDER
INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE MATO GROSSO

OF.PRES.CCDA. N.º 484 /09.

Cuiabá-MT, 22 de Abril de 2009.

Senhora Mestranda,

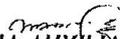
Em resposta a solicitação do Projeto de Mestrado, para acesso a informações com relação aos trabalhadores rurais de Mato Grosso, para verificar a exposição prévia do vírus da Hepatite E (VHE), estamos de acordo para que Vossa Senhoria juntamente com um técnico de laboratório visite as Unidades Locais de Execução de Pedra Preta, Rondonópolis, Diamantino, Nova Mutum, Campo Verde e Lucas do Rio Verde no período de Julho a Agosto de 2009, no sentido de promover entrevistas e colheitas sorológicas de trabalhadores rurais em criatórios de suínos dos referidos municípios.

Cumpre-nos esclarecer ainda, que em cada Unidade dos municípios citados, estaremos disponibilizando um servidor para fazer a devida apresentação ao proprietário dos criatórios.

Lembramos também, da necessidade de que seja enviado um cronograma antecipado para que possamos comunicar os funcionários, para que os mesmos incluam na programação das Unidades as atividades desse projeto.

Sem só para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,


MÉD.VET MARIA AUXILIADORA P. R. DINIZ
PRESIDENTE SUBSTITUTA

ILMº Sra.
Sabrina Monteiro Tosoncin da Silva
Farmacêutica-Bioquímica
Funcionária da SES/MT
RRPS/smos

ANEXO 4

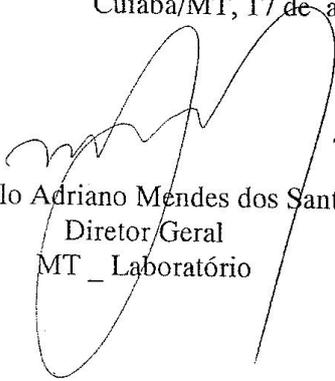


Governo do Estado de Mato Grosso
Secretaria de Estado de Saúde
MT Laboratório
Diretoria Geral

DECLARAÇÃO

Declaramos que SABRINA MONTEIRO TOSONCIN DA SILVA, Farmacêutica Bioquímica, está AUTORIZADA a armazenar as amostras e a utilizar o espaço físico do MT – Laboratório durante o projeto de pesquisa: Prevalência de Anticorpos contra o vírus da Hepatite E (VHE) em Tratadores de Suínos na Região Rural da Grande Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

Cuiabá/MT, 17 de abril de 2009


Marcelo Adriano Mendes dos Santos
Diretor Geral
MT _ Laboratório