

HEPATITE E NO BRASIL E NO MUNDO: REVISÃO DE LITERATURA

Debora Lopes dos Santos¹
Edmilson Ferreira de Oliveira Filho²
Marcelo Alves Pinto³

RESUMO

Desde sua caracterização em 1983, o vírus da hepatite E (HEV) vem sendo associado à ocorrência de surtos ictericos de hepatite aguda em regiões endêmicas como a Índia. Recentemente casos esporádicos de hepatite E começaram a ser descritos e associados à transmissão zoonótica deste vírus a partir de reservatórios animais, principalmente suínos, cujos vírus foram caracterizados no final dos anos 90. Desta forma hepatite E é a única hepatite viral em que foi evidenciada a transmissão zoonótica. Desde então, a descoberta de potenciais reservatórios animais vem cada vez mais contribuindo para mudança do padrão epidemiológico da hepatite E.

Palavras-chave: HEV, hepatitis E, hepatites virais

HEPATITIS E WORLDWIDE AND IN BRAZIL: REVIEW

ABSTRACT

Since its characterization in 1983, the hepatitis E virus (HEV) has been associated with outbreaks of icteric acute hepatitis in endemic regions such as India. However, sporadic cases of hepatitis E are described as being associated with zoonotic transmission this virus from animal reservoirs, especially pigs, from which viruses were characterized at the end of 1990's. Since then, the description of potential animal reservoirs is increasingly contributing to the changing epidemiological pattern of Hepatitis E.

Keywords: HEV, hepatitis E, viral hepatitis

HEPATITIS E EN BRASIL Y EN EL MUNDO

RESUMEN

Desde su caracterización en 1983, el virus de la hepatitis E (VHE) ha sido asociado a ocurrencia de brotes ictericos de hepatitis aguda en regiones endémicas de países como la India y China. Más recientemente, los casos esporádicos de hepatitis E comenzaron a ser descrito y asociados con la transmisión zoonótica de este virus a partir de reservorios animales, principalmente cerdos, cuyos virus fueron caracterizados al final de la década de 90. Así, la hepatitis E es la única Hepatitis viral en que fue evidenciada la transmisión zoonótica. Desde entonces, el descubrimiento de reservorios animales potenciales está contribuyendo cada vez más al cambio del patrón de evolución epidemiológica de la hepatitis E.

Palabras clave: VHE, hepatitis E, hepatitis virales

¹ Professor Adjunto no Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

² Doutorando desenvolvendo tese em hepatite E no Institut für Virologie Justus - Liebig Universität Gießen/ Alemanha

³ Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico em Virologia – Instituto Oswaldo Cruz

INTRODUÇÃO

Histórico: Ontem e Hoje

O vírus da hepatite E foi descrito no início dos anos 80 a partir de um estudo retrospectivo realizado com amostras estocadas de um surto de hepatite infecciosa ocorrido na Índia em 1955 (1, 2). Este novo agente de transmissão oro-fecal foi caracterizado a partir da detecção de partículas semelhantes a vírus (VLPs) por imunoeletromicroscopia (IEM) nas fezes de um voluntário humano experimentalmente infectado (3). O voluntário que já havia sido previamente exposto ao HAV não apresentou resposta sorológica para este vírus nem para o vírus da hepatite B (HBV), mas desenvolveu anticorpos para VLPs recuperados de suas fezes. Posteriormente, foi relatada a transmissão de hepatite em macacos do gênero *Cynomolgus* inoculados com uma amostra fecal proveniente de um surto ocorrido em Burma (Ásia), seguida da recuperação de VLPs das fezes destes animais (4). Após a caracterização completa do genoma (4), este agente foi denominado vírus da hepatite E (HEV) no início da década de 90 (5). A partir da disponibilidade de testes de diagnóstico, estudos epidemiológicos demonstraram que a hepatite E era uma doença endêmica em diversos países da Ásia e da África (6-8). Recentemente, testes sorológicos e moleculares desenvolvidos e aplicados em estudos epidemiológicos de regiões diversas permitiram a avaliação da frequência da infecção pelo HEV em pacientes tanto de casos esporádicos como de epidemias em diferentes grupos populacionais (7).

No fim da década de 90, a descoberta de um isolado do HEV em suínos de fazendas comerciais nos Estados Unidos, abriu as portas para novas descobertas em relação à epidemiologia deste vírus (9). Inicialmente o isolado denominado “HEV suíno” estava relacionado a casos agudos esporádicos identificados no país, alavancando os estudos nesta espécie animal em outras regiões desenvolvidas, consideradas não endêmicas, trazendo novas informações sobre a epidemiologia do HEV e seu potencial de transmissão zoonótica.

O vírus da hepatite E

Taxonomia

O HEV foi classificado como um membro da família *Caliciviridae* até o ano de 1998 devido às semelhanças morfológicas compartilhadas com outros vírus desta família. Posteriormente, observou-se que o genoma do HEV não estava relacionado a qualquer outro vírus conhecido e que a sua organização assemelhava-se à observada no vírus da rubéola, atualmente classificado na família *Togaviridae*. Em 2004, o Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV) aprovou a nova classificação dos HEV (Hepatitis E-like viruses) no gênero *Hepevirus* da família *Hepeviridae* (10).

Os genomas de diversas amostras de HEV detectadas na Ásia (Burma, Paquistão, Índia, China, Nepal, Taiwan), África (Egito, Argélia, Marrocos, Chad, Nigéria), Europa (Holanda, Itália, Grécia, Espanha, Áustria), América do Sul (Argentina e Cuba), Oceania (Nova Zelândia) e América do Norte (Estados Unidos da América e México) foram total ou parcialmente seqüenciados. De uma maneira geral, os HEV agrupam-se em pelo menos quatro genótipos principais (Figura 1). O primeiro (genótipo 1) é composto por vírus detectados em amostras de origem humana provenientes da Ásia e África. O segundo (genótipo 2) possui uma amostra protótipo proveniente de um surto ocorrido no México e outras provenientes do continente africano (Chad e Nigéria). O genótipo 3 agrupa amostras de origem humana e animal detectadas nos Estados Unidos da América (EUA), países da Europa, e da América do Sul, Ásia e Oceania e por fim, o genótipo 4 que também agrega

vírus de origem humana e animal provenientes da China, Japão, Taiwan e mais recente em alguns países Europeus como Alemanha, França e Bélgica (11-16). Recentemente, a partir da identificação de novos isolados descritos em coelhos na China, em roedores na Alemanha e em javalis no Japão, novos genótipos adicionais foram propostos (17-19). Um estudo realizado em 2006, analisou a relação filogenética de 421 HEV disponíveis no Genbank e baseado nas diferenças nucleotídicas de cinco filogenias foram propostos 5, 2, 10 e 7 diferentes subtipos para os respectivos genótipos do HEV (1a – 1e, 2a e 2b, 3a – 3j, 4a – 4g). A maior variabilidade foi observada para os genótipos 3 e 4, cujos vírus de origem humana e animal foram caracterizados como relacionados indicando uma fonte infecciosa comum (20).

Existe ainda o HEV de aves (aHEV) detectado na Austrália, na Europa e nos EUA, dividido em 3 genótipos (21). Um novo vírus denominado *cutthroat trout virus* (CTV) prevalente em trutas teve seu genoma seqüenciado demonstrando maior proximidade com o HEV (22). Recentemente, um vírus detectado em Morcegos também demonstrou grande proximidade com os membros da família (23) indicando uma possível inclusão dos dois vírus na família *Heperiridae*.

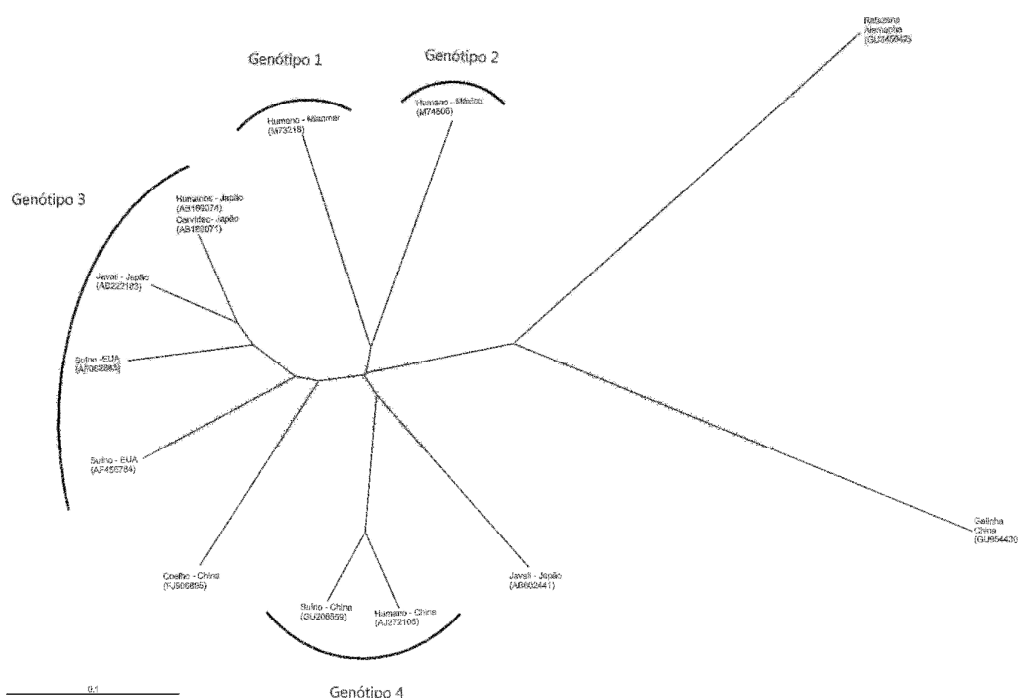


Figura 1: Protótipos dos genótipos do vírus da hepatite E (HEV). Amostras de humanos e animais distribuídas de acordo com genótipos 1-4. Amostras de ratas, coelho e galinha representam propostas de um novo gênero na família *Heperiridae*. Números em parênteses representam os números de acesso das sequências nucleotídicas obtidas no Genbank.

A partícula viral

O HEV apresenta uma partícula não envelopada e esférica, com aproximadamente 32-34 nm de diâmetro e uma superfície indefinida com leves depressões (24). O genoma do HEV consiste de uma fita simples de RNA de polaridade positiva com a presença de cap (7-metilguanossina) e de uma cauda poli-A, com aproximadamente 7200 nucleotídeos (nt) (5). O genoma viral possui duas regiões não-codificantes (NC) nas extremidades 5' e 3', que são altamente conservadas e possuem 35 e 68-75 nt, respectivamente (25). Acredita-se que estas regiões estejam envolvidas na replicação do genoma viral e na encapsidação, como observado em outros vírus com genoma constituído de RNA. Existem três fases abertas de leitura

(ORFs), organizadas na ordem 5'-ORF1-ORF3-ORF2-3'. A ORF1 codifica as proteínas envolvidas no processo replicativo do genoma viral como a metiltransferase, uma protease semelhante à papaína, a helicase e a RNA polimerase RNA dependente (26). A ORF2 codifica uma proteína que compõe o capsídeo viral que contém uma sequência sinal típica próxima à região 5' terminal, seguida de uma região com cargas altamente básicas do genoma viral. Acredita-se que esta região esteja envolvida na encapsidação do transcrito genômico. A ORF2 é altamente imunogênica e possui diversos epítomos. Essa região é alvo para o desenvolvimento de uma vacina, além de codificar outros epítomos secundários na região central da proteína (6). A ORF3 codifica uma fosfoproteína capaz de se associar ao citoesqueleto da célula, possivelmente servindo como sítio de ancoragem (27).

Resistência e Inativação

Procedimentos laboratoriais como centrifugação em gradiente de cloreto de cério, ultracentrifugação, concentração e a prática de congelamento e descongelamento são capazes de desestruturar a partícula do HEV (28). Entretanto, apesar de lábil em condições laboratoriais, o HEV pode ser estável em condições ambientais. A detecção de HEV-RNA em esgoto demonstra que o vírus é resistente a condições adversas (13, 29). Quanto à estabilidade térmica do HEV em alimentos, um estudo demonstrou que embora menos estável que o vírus da hepatite A (HAV), o HEV pode resistir à temperatura interna de carnes mal cozidas (30).

Epidemiologia

Modo de Transmissão

O principal modo de transmissão durante os surtos de hepatite E é a via oro-fecal, pela ingestão de água ou alimentos contaminados (Figura 2). Os indivíduos que eliminam vírus entericamente durante a fase aguda da doença, sintomáticos ou não, são provavelmente aqueles que mais contribuem para a manutenção do vírus no ambiente, com a quantidade de vírus excretada chegando a 10^8 cópias de genoma por miligrama de fezes. Indivíduos que eliminam HEV nas fezes por um período prolongado também podem contribuir para esta manutenção (31). A viabilidade do HEV no ambiente e em esgoto ainda é desconhecida.

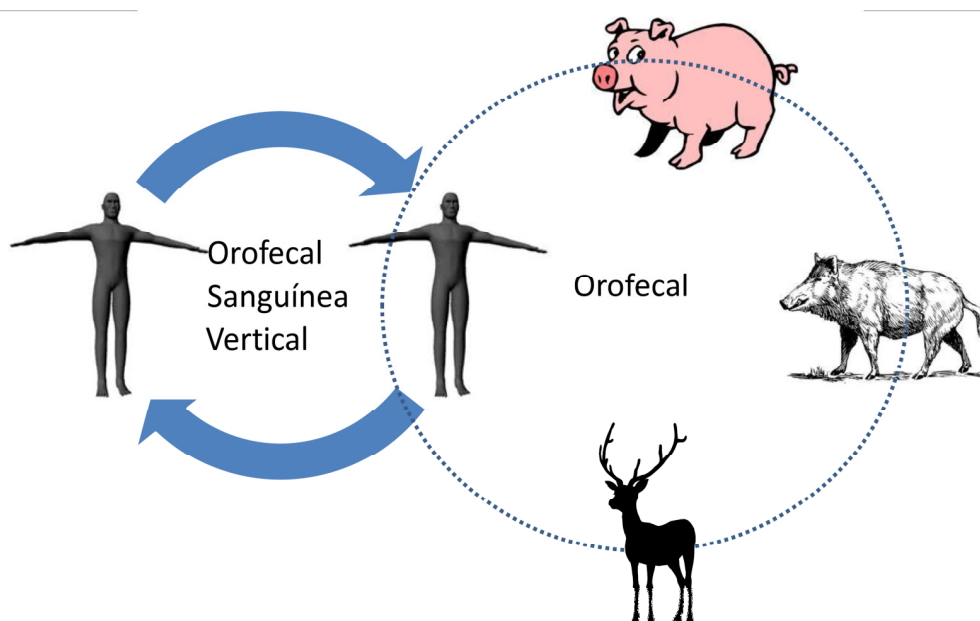


Figura 2: Rotas de transmissão do vírus da hepatite E (HEV) entre hospedeiros humano e reservatórios animais.

A transmissão entre indivíduos e vertical não é comum, mas os riscos de infecção pelo HEV e a mortalidade de crianças nascidas de mães infectadas pelo HEV é alta (32). Alguns casos de transmissão vertical do HEV foram relatados em um estudo onde 5 de 8 crianças nascidas de mães com hepatite E foram HEV-RNA positivas ao nascer (33). Tendo em vista o curto período da fase virêmica da infecção, admite-se que a probabilidade de transmissão parenteral seja baixa. A ocorrência de transmissão do HEV por transfusão de sangue em áreas endêmicas foi demonstrada em pacientes infectados a partir de doadores com infecção subclínica e viremia (34). A transmissão parenteral foi apontada como possível fator de risco associado a um surto nosocomial no Paquistão (35).

Um surto de icterícia foi descrito em uma população de um navio em cruzeiro. Neste surto, 33 passageiros estavam infectados pelo HEV e foi verificado que o consumo de bivalves foi o fator de risco significativo (36).

Distribuição geográfica

Epidemias de hepatite E associadas ao genótipo 1 do HEV foram relatadas no Sudeste e Centro Asiático, Norte, Leste e Oeste da África e na América Central (37-39). Um aumento significativo no relato de casos autóctones associados ao genótipo 3 estão sendo descritos em alguns países da Europa, Oceania e das Américas do Norte e do Sul. Evidências apontam como causa, o aumento de infecções adquiridas por transmissão zoonótica visto que este genótipo circula em algumas espécies animais como suínos e cervos (40). Nas Américas, surtos da infecção pelo HEV ocorreram no México (genótipo 2), em 1986-1987 e, mais recentemente, na Argentina, casos esporádicos foram descritos, sendo este o primeiro relato da circulação do HEV genótipo 3 nas Américas (6, 39, 41). Estudos de soroprevalência demonstraram que o HEV é endêmico na Bolívia, Chile, Cuba e México (42-44). O genótipo 3 foi também descrito em casos humanos esporádicos na Bolívia e Uruguai (45, 46).

A primeira descrição de um surto do genótipo 1 do HEV nas Américas foi feita em Cuba (16). Epidemiologicamente, este dado é muito relevante, uma vez que este genótipo está associado à ocorrência de surtos na Ásia e na África. Em outro estudo retrospectivo realizado pelo mesmo grupo foi demonstrada a cocirculação e coinfeção por HEV e HAV em surtos e em casos esporádicos (47).

Em animais

Anticorpos contra HEV já foram detectados em diversas espécies de animais silvestres e domésticos em diferentes regiões do mundo com soroprevalência variando entre 9 – 80%. Dentre estas, incluem-se suínos, roedores, caprinos, bovinos, aves domésticas e primatas (não humanos) (48, 49). Dentre as espécies animais analisadas, os suínos vêm sendo os mais investigados como possíveis reservatórios do HEV (50-53). A primeira amostra de HEV suíno (“swine HEV”) foi caracterizada por Meng et al. (9) a partir de um estudo prospectivo realizado em uma granja comercial nos EUA (9). Desde a descrição do primeiro HEV suíno nos Estados Unidos, outros HEV foram identificados em suínos de diferentes países endêmicos e não endêmicos para hepatite E (14, 45, 54-58) sendo pertencentes aos genótipos 3 e 4. Nas Américas, o HEV foi identificado em suínos do México, Bolívia, Costa Rica e Argentina, até o momento classificados no genótipo 3 (56, 59, 60).

Hepatite E no Brasil

No Brasil, alguns estudos de soroprevalência demonstraram a evidência de anticorpos anti-HEV em diferentes grupos populacionais como em mineiros na Bacia Amazônica (6,1%) (61). Em São Paulo, pacientes submetidos à hemodiálise apresentaram prevalência de 4,9% de anti-HEV (62). Prevalências de 2% entre doadores de sangue e de 29% dos casos de

hepatite viral aguda foram observadas em Salvador, Bahia (63). No Laboratório de Referência Nacional para Hepatites Virais / Fiocruz / RJ (CRNHV), entre janeiro de 1994 e dezembro de 1996, foram diagnosticados 147 casos de hepatite viral aguda não A-C, com prevalência de anti-HEV de 2,1% (64). No Rio de Janeiro, foi observada prevalência de 2,4% para anti-HEV na comunidade de Manguinhos (65). Estudos realizados com usuários de drogas não-injetáveis e injetáveis, também deste estado, revelaram prevalências de 6,5% e 11,8%, respectivamente (64). Em Londrina, o marcador anti-HEV IgM foi detectado concomitantemente em quatro pacientes com hepatite A e em um paciente com hepatite aguda não A-C sugerindo a hepatite E como etiologia provável de alguns casos de coinfeção ou de casos não esclarecidos (66).

Um estudo realizado em São Paulo demonstrou pela primeira vez a circulação do HEV em suínos no Brasil (67). Em seguida, em um estudo realizado em suídeos provenientes de granjas comerciais do Rio de Janeiro e do Mato Grosso, animais foram acompanhados sorologicamente e fragmentos de RNA do HEV foram identificados em amostras de soro e fezes (68). As amostras de ambos estudos foram caracterizadas no genótipo 3 entre protótipos de outras regiões não-endêmicas onde amostras de casos humanos foram descritas como relacionadas a amostras circulantes em suínos para uma mesma região geográfica. Dando continuidade ao estudo no Rio de Janeiro, o mesmo grupo realizou uma investigação com 64 amostras de soro de casos agudos de hepatite não A-C atendidos no núcleo de hepatites virais do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz. Dentre as amostras, foi identificado um paciente que apresentou soroconversão (anti-HEV IgM) e viremia, sendo a amostra deste paciente também classificada no genótipo 3. Na análise filogenética, esta amostra demonstrou estar relacionada a amostras de suínos brasileiras do estudo realizado anteriormente (69). (Figura 3)

Aspectos Zoonóticos

Cada vez mais, acumulam-se evidências que reforçam que os genótipos 3 e 4 do HEV sejam responsáveis pela doença zoonótica, transmitida a partir de reservatórios animais, principalmente de suídeos. Em uma série de 29 casos esporádicos de hepatite E aguda descritos no Japão, foram identificados nove pacientes com história recente de consumo de porções de fígado de suíno grelhado (70). A pesquisa pelo HEV-RNA em fígados de suínos comercializados em mercearias próximas às residências dos respectivos pacientes revelou que 2% de 363 amostras eram positivas para presença do genoma do HEV. Sequências nucleotídicas provenientes destas amostras apresentaram grande similaridade com as seqüências determinadas das amostras dos pacientes. Um estudo subsequente demonstrou que 80% dos pacientes diagnosticados com hepatite E possuíam histórico recente de consumo de porções de fígado cru ou mal cozido de suíno, e metade destes pacientes também haviam consumido porções de intestino de suíno (14, 71).

Nos EUA, 11% de 127 amostras de fígado de suíno para consumo foram positivas para HEV-RNA. Suínos livres de patógenos específicos (SPF – “specific pathogen-free”) inoculados com homogenatos destes fígados reproduziram a infecção, o que sugere uma sobrevivência relativamente longa de partículas infecciosas sob aquelas condições de armazenamento (72). Ainda nos EUA, outro estudo revelou prevalência de 21% de anticorpos anti-HEV em 18.000 mil amostras de populações normais investigadas. A análise de fatores de risco identificou uma correlação do consumo mensal de fígado ou carne de suíno com a maior sororeatividade para anti-HEV (73). Na Holanda, seqüências nucleotídicas provenientes de HEV obtidos a partir de fígados de suínos de açougues apresentaram similaridade com as de casos esporádicos autóctones (74). Ainda na Europa, dois casos autóctones de hepatite E foram descritos em um funcionário de matadouro (Espanha) e em um

manipulador de carcaças (Inglaterra). A análise da sequência parcial do genoma do HEV da amostra do paciente espanhol demonstrou alto grau de similaridade com os HEV suínos da Espanha (75, 76). A possibilidade de transmissão pelo consumo de carne de porco incorporada em embutidos foi considerada por Mataragas, Skandamis e Drosinos (77). Na Hungria, o primeiro caso humano autóctone de hepatite E foi descrito como relacionado ao consumo de linguiça artesanal (78).

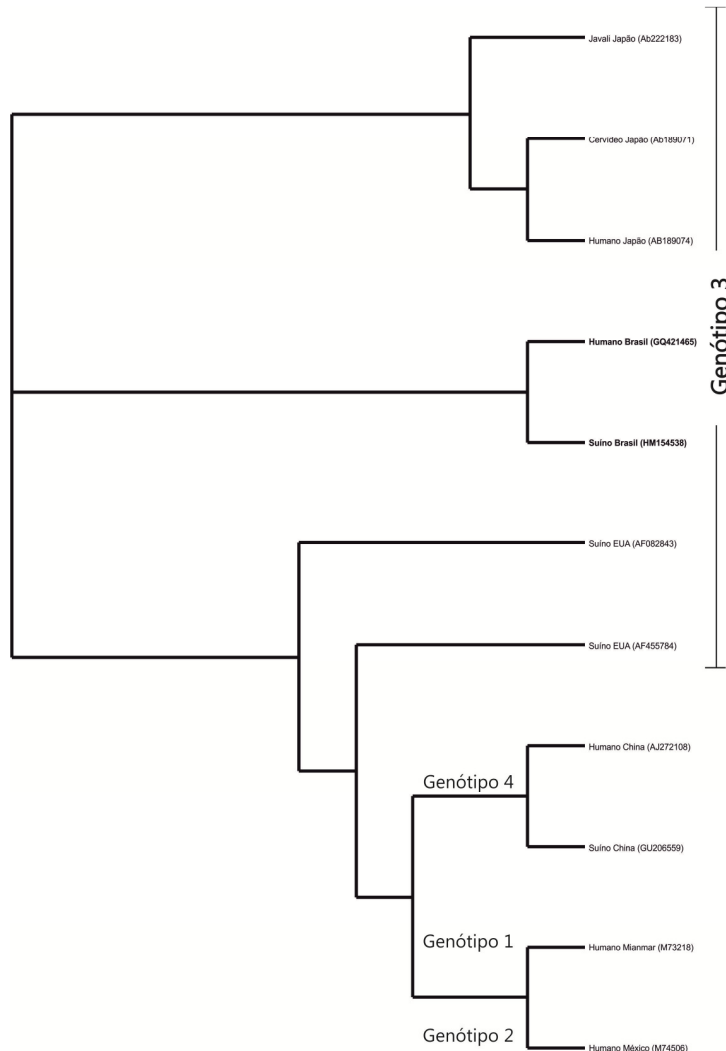


Figura 3. Classificação em genótipos de protótipos humanos e suínos do vírus da hepatite E (HEV) incluindo amostras de estudos brasileiros. Números em parênteses representam os números de acesso das sequências nucleotídicas obtidas no Genbank.

O RNA do HEV também foi detectado em javalis e em carne de cervos, representando um risco potencial de transmissão zoonótica (79-85). Um fato curioso é que os HEV obtidos de suínos da Índia, um país onde epidemias de hepatite E são frequentes em humanos, foram caracterizados como genótipo 4, sendo os HEV circulantes em epidemias pertencentes ao genótipo 1. Estes dados sugerem que os HEV do genótipo 1 parece não infectar facilmente suínos e vice-versa (86).

No Japão, casos esporádicos de hepatite E e casos provenientes de surtos foram descritos como associados à ingestão de carne de javali mal cozida. Outro estudo descreveu a infecção pelo HEV em duas famílias que compartilharam refeições que consistiam em carne crua de cervos (83, 84, 87). Posteriormente, o sequenciamento completo do HEV proveniente

de um paciente envolvido no surto descrito demonstrou ser quase idêntico ao HEV obtido de uma amostra de um cervo capturado em uma região próxima (83).

Independente das prevalências observadas em populações humanas clinicamente saudáveis de regiões onde a hepatite E é endêmica ou não, as altas soroprevalências de anti-HEV frequentemente observadas em suínos demonstraram que o HEV é enzoótico em animais desta espécie (88). Nos EUA, além dos suínos, foram observadas prevalências variando de 70% a 80% em roedores silvestres (89, 90). Paralelamente, observou-se que manipuladores de suínos representam o grupo de maior risco para adquirir a infecção pelo HEV (91).

Diagnóstico laboratorial

As provas laboratoriais para o diagnóstico da infecção pelo HEV incluem testes sorológicos para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG, além de testes moleculares para detecção do genoma do vírus nas fezes e no soro (92).

Anticorpos anti-HEV IgM atingem níveis séricos máximos de detecção durante as quatro primeiras semanas, decaindo normalmente três meses após o início dos sintomas (93). Títulos crescentes de anti-HEV IgG também podem ser utilizados para fins de diagnóstico. Anticorpos atingem maior título de detecção entre 2 a 4 semanas após o início dos sintomas e decaem após o fim da infecção (94). No entanto, em estudo com um voluntário, anticorpos anti-HEV foram primeiramente observados 41 dias p.i. e permaneceram detectáveis após 2 anos (95). Existe ainda um relato de soropositividade entre adultos 14 anos após a aquisição da infecção (96). Os testes sorológicos disponíveis para pesquisa de anticorpos contra o HEV foram desenvolvidos a partir da expressão de proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos (97, 98). Os epítomos foram determinados por estudos de mapeamento utilizando-se peptídeos sintéticos ou pelo rastreamento imunológico de bibliotecas de cDNA recombinante com anticorpos específicos derivados de soros das fases aguda e convalescente (99). Foram identificados seis domínios antigênicos na ORF2 e três na ORF3 (99). Os antígenos podem ser adsorvidos em placas (EIA) ou em membranas (Western Blot). A maioria dos testes para a detecção de anticorpos anti-HEV utiliza proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos que correspondem aos epítomos imunodominantes das proteínas estruturais do HEV traduzidas a partir das ORF2 e ORF3 dos dois principais protótipos do HEV provenientes de Burma e do México (100, 101).

Os ensaios imunoenzimáticos (EIA) desenvolvidos para diagnosticar a hepatite E foram, inicialmente, padronizados para diagnóstico de infecção aguda pelo HEV adquirida em regiões endêmicas. Portanto, em áreas reconhecidamente endêmicas a pesquisa de marcadores de infecção aguda em pacientes com quadro de hepatite faz parte da linha de frente no diagnóstico. Uma vez que nestes locais o HEV é responsável por grande parte dos casos de hepatite aguda esporádica, tanto em crianças quanto em adultos. No entanto, o emprego destes testes em estudos de soroprevalência fora das áreas endêmicas é questionável. Uma vez que anticorpos anti-HEV têm sido detectados em todos os países, mesmo naqueles industrializados com ótimas condições sanitárias e também em locais onde não existe evidência de infecção aguda pelo HEV (7). Fora das áreas endêmicas, a possibilidade de infecção pelo HEV deve ser considerada se o indivíduo apresenta histórico de viagem recente para áreas endêmicas. Caso não exista tal fator de risco, a investigação deve ser feita somente após a exclusão de outras causas mais comuns associada com hepatite e colestase (102). Existem ainda algumas hipóteses para interpretar esta sororeatividade para anti-HEV em áreas não-endêmicas como a infecção subclínica e/ou anictérica, a reatividade cruzada com outros agentes, um resultado falso positivo do teste ou uma combinação de todos estes fatores. Investiga-se também a relação desta sororeatividade com exposição ao HEV suíno que está

intimamente relacionado com HEV que circula em populações humanas. Estudos em doadores de sangue de regiões não-endêmicas para infecção pelo HEV mostraram prevalência de anti-HEV de 1-20%, a qual é surpreendentemente alta se comparada com a baixa quantidade de casos associados ao HEV nestas regiões (103, 104).

Para se verificar a concordância entre os resultados obtidos com os EIA disponíveis e utilizados em vários laboratórios, Mast et al. (105) compararam 12 testes utilizando um painel de amostras de soro codificadas. Os testes analisados empregavam proteínas de HEV, recombinantes ou peptídeos sintéticos, que diferiam no tamanho, região correspondente no genoma e a região geográfica do HEV correspondente. Este estudo demonstrou que a sensibilidade destes testes variou de 17-100%. A concordância nos resultados, com soros de doadores, variou de 41-94% (média de 68%) e entre amostras de soro reativas de 0 a 89% (média de 32%) (105). Esta avaliação sugere que a baixa concordância e a sensibilidade de alguns ensaios se devem ao uso de antígenos derivados da região ORF3, por esta ser a região mais variável entre os genótipos do HEV. Nestes casos, os métodos moleculares representam ferramentas importantes para confirmação da infecção pelo HEV. Sequências genômicas podem ser detectadas pela RT-PCR em amostras de soro e fezes antes das alterações enzimáticas e da soroconversão (95). A pesquisa de genoma viral é fundamental no esclarecimento e investigação epidemiológica de casos específicos, como os casos agudos esporádicos ocorridos em regiões não-endêmicas.

Diante da problemática da variabilidade observada nas sensibilidades e especificidades de testes comerciais aplicados em regiões não endêmicas, atualmente, em países como EUA e países da Europa vêm sendo implementadas políticas de controle para hepatite E que preconizam a detecção de anticorpos específicos associada à detecção do genoma viral no soro ou nas fezes do paciente, visto que ainda não existe um padrão ouro de diagnóstico para infecção aguda pelo HEV (102, 106).

Prevenção e Controle

Em países com boa disponibilidade de saneamento básico, o papel do ambiente como fator contribuinte para transmissão e manutenção da endemicidade do HEV ainda é pouco esclarecido, ao contrário das regiões endêmicas, onde esta forma de transmissão já é bem caracterizada e reconhecida (107). Estudos desenvolvidos na Espanha e na Holanda demonstraram a correlação entre amostras de origem humana, suína e ambiental para a mesma região geográfica (14, 108). Na Espanha, um estudo prospectivo demonstrou o impacto das melhorias sanitárias na circulação de HAV em regiões onde programas de vacinação foram estabelecidos desde o ano de 1999. No entanto, estas medidas não influenciaram a circulação do HEV, cuja proporção de detecção permaneceu constante nos últimos anos, o que pode sugerir a sua manutenção em reservatórios animais (109).

Vacina

Segundo Shrestha et al. (110), duas vacinas candidatas para hepatite E estão em desenvolvimento, sendo uma delas composta por proteína recombinante truncada de 56 kDa da região ORF2. Os autores revelam que em um estudo clínico de fase II/III, num esquema de três doses de 20 µg cada (0, 1 e 6 meses), com 2 mil voluntários, verificou-se a eficácia de 95% após um acompanhamento por mais de 2 anos. Li et al. (111) relatam o desenvolvimento de uma vacina produzida na China denominada p239 constituída por uma proteína do capsídeo truncada do HEV (correspondendo aos aminoácidos 368-606). Zhu et al. (112) descrevem que um estudo de fase III foi realizado na China recentemente, envolvendo 97 mil participantes, num esquema de três doses de 30 µg cada (0, 1 e 6 meses). Os autores revelam

ainda que foi verificada eficácia de proteção em 100% dos casos para os genótipos 1 e 4 durante o ano seguinte.

O futuro da Hepatite E no Brasil

Os crescentes dados obtidos a partir de estudos dos aspectos epidemiológicos da hepatite E devem influenciar nas medidas de prevenção e estratégias de diagnóstico e vacinação.

Considerando-se as limitações relacionadas à aplicação de testes comerciais em regiões não endêmicas, como o Brasil, o diagnóstico deve ser avaliado com extrema cautela. O diagnóstico para hepatite E não está incluído na rotina de laboratórios centrais, portanto os potenciais casos não estão sendo notificados. Dados recentes sobre o estudo molecular de isolados suínos e humanos do HEV circulantes no Brasil sugerem que a transmissão zoonótica tenha impacto e possa estar relacionada a casos não notificados.

Estratégias de fluxograma e dinamização do diagnóstico, associada à disponibilidade de testes comerciais assim como o desenvolvimento de diagnósticos específicos para regiões não endêmicas irão esclarecer sobre a real incidência e ocorrência da hepatite no Brasil.

REFERÊNCIAS

1. Bradley DW. Enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. *Br Med Bull.* 1990;46(2):442-61.
2. Wong DC, Purcell RH, Sreenivasan MA, Prasad SR, Pavri KM. Epidemic and endemic hepatitis in India: evidence for a non-A, non-B hepatitis virus aetiology. *Lancet.* 1980;2(8200):876-9.
3. 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(1):23-31.
4. Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, Luk KC, Young LM, Fry KE, et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science.* 1990;247(4948):1335-9.
5. Tam AW, Smith MM, Guerra ME, Huang CC, Bradley DW, Fry KE, et al. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology.* 1991;185(1):120-31.
6. Meng XJ. Recent advances in Hepatitis E Virus. *J Viral Hepat.* 2010;17(3):153-61.
7. Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis.* 2008;8(11):698-709.
8. Engle RE, Yu C, Emerson SU, Meng XJ, Purcell RH. Hepatitis E virus (HEV) capsid antigens derived from viruses of human and swine origin are equally efficient for detecting anti-HEV by enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol.* 2002;40(12):4576-80.

9. 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 U S A*. 1997;94(18):9860-5.
10. Emerson SU, Purcell RH. Hepatitis E virus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. 5^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. v.2, p.3047-58.
11. Banks M, Bendall R, Grierson S, Heath G, Mitchell J, Dalton H. Human and porcine hepatitis E virus strains, United Kingdom. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(5):953-5.
12. Mateos ML, Molina A, Ta TH, Moreira V, Milicua JM, Barcena R. [Acute hepatitis E in Madrid: description of 18 cases]. *Gastroenterol Hepatol*. 2006;29(7):397-400.
13. Pina S, Buti M, Cotrina M, Piella J, Girones R. HEV identified in serum from humans with acute hepatitis and in sewage of animal origin in Spain. *J Hepatol*. 2000;33(5):826-33.
14. Rutjes SA, Lodder WJ, Lodder-Verschoor F, van den Berg HH, Vennema H, Duizer E, et al. Sources of hepatitis E virus genotype 3 in The Netherlands. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(3):381-7.
15. Takahashi K, Okamoto H, Abe N, Kawakami M, Matsuda H, Mochida S, et al. Virulent strain of hepatitis E virus genotype 3, Japan. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(5):704-9.
16. Villalba Mde L, Lay Lde L, Chandra V, Corredor MB, Frometa SS, Moreno AG, et al. Hepatitis E virus genotype 1, Cuba. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(8):1320-2.
17. Johne R, Plenge-Bonig A, Hess M, Ulrich RG, Reetz J, Schielke A. Detection of a novel hepatitis E-like virus in faeces of wild rats using a nested broad-spectrum RT-PCR. *J Gen Virol*. 2010;91(pt 3):750-8.
18. Zhao C, Ma Z, Harrison TJ, Feng R, Zhang C, Qiao Z, et al. A novel genotype of hepatitis E virus prevalent among farmed rabbits in China. *J Med Virol*. 2009;81(8):1371-9.
19. Takahashi M, Nishizawa T, Sato H, Sato Y, Jirintai, Nagashima S, et al. Analysis of the full-length genome of a hepatitis E virus isolate obtained from a wild boar in Japan that is classifiable into a novel genotype. *J Gen Virol*. 2011;92(pt 4):902-8.
20. Lu L, Li C, Hagedorn CH. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol*. 2006;16(1):5-36.
21. King AM, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ. *Virus taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier; 2011.
22. Batts W, Yun S, Hedrick R, Winton J. A novel member of the family Hepeviridae from cutthroat trout (*Oncorhynchus clarkii*). *Virus Res*. 2011;158(1-2):116-23.

23. Drexler JF, Seelen A, Corman VM, Fumie Tateno A, Cottontail V, Melim Zerbinati R, et al. Bats worldwide carry hepatitis E-related viruses that form a putative novel genus within the family Hepeviridae. *J Virol*. 2012;86(17):9134-47.
24. Wang CY, Miyazaki N, Yamashita T, Higashiura A, Nakagawa A, Li TC, et al. Crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of recombinant hepatitis E virus-like particle. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*. 2008;64(pt 4):318-22.
25. Haqshenas G, Meng XJ. Determination of the nucleotide sequences at the extreme 5' and 3' ends of swine hepatitis E virus genome. *Arch Virol*. 2001;146(12):2461-7.
26. Huang YW, Opriessnig T, Halbur PG, Meng XJ. Initiation at the third in-frame AUG codon of open reading frame 3 of the hepatitis E virus is essential for viral infectivity in vivo. *J Virol*. 2007;81(6):3018-26.
27. Tyagi S, Surjit M, Roy AK, Jameel S, Lal SK. The ORF3 protein of hepatitis E virus interacts with liver-specific alpha1-microglobulin and its precursor alpha1-microglobulin/bikunin precursor (AMBP) and expedites their export from the hepatocyte. *J Biol Chem*. 2004;279(28):29308-19.
28. Balayan MS. Epidemiology of hepatitis E virus infection. *J Viral Hepat*. 1997;4(3):155-65.
29. Pina S, Jofre J, Emerson SU, Purcell RH, Girones R. Characterization of a strain of infectious hepatitis E virus isolated from sewage in an area where hepatitis E is not endemic. *Appl Environ Microbiol*. 1998;64(11):4485-8.
30. Emerson SU, Arankalle VA, Purcell RH. Thermal stability of hepatitis E virus. *J Infect Dis*. 2005;192(5):930-3.
31. Teo CG. The two clinico-epidemiological forms of hepatitis E. *J Viral Hepat*. 2007;14(5):295-7.
32. Patra S, Kumar A, Trivedi SS, Puri M, Sarin SK. Maternal and fetal outcomes in pregnant women with acute hepatitis E virus infection. *Ann Intern Med*. 2007;147(1):28-33.
33. Khuroo MS, Kamili S, Jameel S. Vertical transmission of hepatitis E virus. *Lancet*. 1995;345(8956):1025-6.
34. 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(7):778-84.
35. Siddiqui AR, Jooma RA, Smego RA, Jr. Nosocomial outbreak of hepatitis E infection in Pakistan with possible parenteral transmission. *Clin Infect Dis*. 2005;40(6):908-9.
36. Said B, Ijaz S, Kafatos G, Booth L, Thomas HL, Walsh A, et al. Hepatitis E outbreak on cruise ship. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(11):1738-44.

37. Bryan JP, Iqbal M, Tsarev S, Malik IA, Duncan JF, Ahmed A, et al. Epidemic of hepatitis E in a military unit in Abbotabad, Pakistan. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67(6):662-8.
38. Isaacson M, Frean J, He J, Seriwatana J, Innis BL. An outbreak of hepatitis E in Northern Namibia, 1983. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;62(5):619-25.
39. Velazquez O, Stetler HC, Avila C, Ornelas G, Alvarez C, Hadler SC, et al. Epidemic transmission of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in Mexico, 1986-1987. *J Am Med Assoc.* 1990;263(24):3281-5.
40. Meng XJ. Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. *Vet Microbiol.* 2010;140(3-4):256-65.
41. Schlauder GG, Frider B, Sookoian S, Castano GC, Mushahwar IK. Identification of 2 novel isolates of hepatitis E virus in Argentina. *J Infect Dis.* 2000;182(1):294-7.
42. Alvarez-Munoz MT, Torres J, Damasio L, Gomez A, Tapia-Conyer R, Munoz O. Seroepidemiology of hepatitis E virus infection in Mexican subjects 1 to 29 years of age. *Arch Med Res.* 1999;30(3):251-4.
43. Bartoloni A, Bartalesi F, Roselli M, Mantella A, Arce CC, Paradisi F, et al. Prevalence of antibodies against hepatitis A and E viruses among rural populations of the Chaco region, south-eastern Bolivia. *Trop Med Int Health.* 1999;4(9):596-601.
44. Ibarra HV, Riedemann SG, Siegel FG, Reinhardt GV, Toledo CA, Frosner G. Hepatitis E virus in Chile. *Lancet.* 1994;344(8935):1501.
45. Dell'Amico MC, Cavallo A, Gonzales JL, Bonelli SI, Valda Y, Pieri A, et al. Hepatitis E virus genotype 3 in humans and Swine, Bolivia. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(8):1488-90.
46. Mirazo S, Ramos N, Russi JC, Gagliano G, Arbiza J. Detection and molecular characterization of sporadic cases of acute human hepatitis E virus infection in Uruguay. *Arch Virol.* 2011;156(8):1451-4.
47. Rodriguez Lay Lde L, Quintana A, Villalba MC, Lemos G, Corredor MB, Moreno AG, et al. Dual infection with hepatitis A and E viruses in outbreaks and in sporadic clinical cases: Cuba 1998-2003. *J Med Virol.* 2008;80(5):798-802.
48. 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(2):117-22.
49. Meng XJ. Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. *Vet Microbiol.* 2010;140(3-4):256-65.
50. 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(3):391-6.

51. Garkavenko O, Obriadina A, Meng J, Anderson DA, Benard HJ, Schroeder BA, et al. Detection and characterisation of swine hepatitis E virus in New Zealand. *J Med Virol.* 2001;65(3):525-9.
52. Leblanc D, Ward P, Gagne MJ, Poitras E, Muller P, Trottier YL, et al. Presence of hepatitis E virus in a naturally infected swine herd from nursery to slaughter. *Int J Food Microbiol.* 2007;117(2):160-6.
53. Meng XJ. Hepatitis E virus: Animal reservoirs and zoonotic risk. *Vet Microbiol.* 2010;140(3-4):256-65.
54. Hakze-van der Honing RW, van Coillie E, Antonis AF, van der Poel WH. First isolation of hepatitis E virus genotype 4 in Europe through swine surveillance in the Netherlands and Belgium. *PLoS One.* 2011;6(8):e22673.
55. Breum SO, Hjulsgaard CK, de Deus N, Segales J, Larsen LE. Hepatitis E virus is highly prevalent in the Danish pig population. *Vet Microbiol.* 146(1-2):144-9.
56. Cooper K, Huang FF, Batista L, Rayo CD, Bezanilla JC, Toth TE, et al. Identification of genotype 3 hepatitis E virus (HEV) in serum and fecal samples from pigs in Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 HEV strains are prevalent in the respective human populations. *J Clin Microbiol.* 2005;43(4):1684-8.
57. Di Martino B, Di Profio F, Martella V, Di Felice E, Di Francesco CE, Ceci C, et al. Detection of hepatitis E virus in slaughtered pigs in Italy. *Arch Virol.* 2010;155(1):103-6.
58. Di Bartolo I, Martelli F, Inglese N, Pourshaban M, Caprioli A, Ostanello F, et al. Widespread diffusion of genotype 3 hepatitis E virus among farming swine in Northern Italy. *Vet Microbiol.* 2008;132(1-2):47-55.
59. Kase JA, Correa MT, Luna C, Sobsey MD. Isolation, detection and characterization of swine hepatitis E virus from herds in Costa Rica. *Int J Environ Health Res.* 2008;18(3):165-76.
60. Munne MS, Vladimirov S, Otegui L, Castro R, Brajterman L, Soto S, et al. Identification of the first strain of swine hepatitis E virus in South America and prevalence of anti-HEV antibodies in swine in Argentina. *J Med Virol.* 2006;78(12):1579-83.
61. Pang L, Alencar FE, Cerutti C Jr, Milhous WK, Andrade AL, Oliveira R, et al. Short report: hepatitis E infection in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* 1995;52(4):347-8.
62. Focaccia R, Sette Junior H, Conceicao OJ. Hepatitis E in Brazil. *Lancet.* 1995;346(8983):1165.
63. Parana R, Vitvitski L, Andrade Z, Trepo C, Cotrim H, Bertillon P, et al. Acute sporadic non-A, non-B hepatitis in Northeastern Brazil: etiology and natural history. *Hepatology.* 1999;30(1):289-93.

64. Trinta KS, Liberto MI, Paula VS, Yoshida CF, Gaspar AM. Hepatitis E virus infection in selected Brazilian populations. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96(1):25-9.
65. Santos DC, Souto FJ, Santos DR, Vitral CL, 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(5):637-40.
66. Lyra AC, Pinho JR, Silva LK, Sousa L, Saraceni CP, Braga EL, et al. HEV, TTV and GBV-C/HGV markers in patients with acute viral hepatitis. *Braz J Med Biol Res.* 2005;38(5):767-75.
67. Paiva HH, Tzaneva V, Haddad R, Yokosawa J. Molecular characterization of swine hepatitis E virus from southeastern Brazil. *Braz J Microbiol.* 2007;2007(38):693-8.
68. Santos DR, Vitral CL, 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(3):474-80.
69. Lopes dos Santos DR, Lewis-Ximenez LL, Silva MF, Sousa PS, Gaspar AM, Pinto MA. First report of a human autochthonous hepatitis E virus infection in Brazil. *J Clin Virol.* 2010;47(3):276-9.
70. 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(pt 9):2351-7.
71. Mizuo H, Yazaki Y, Sugawara K, Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, et al. Possible risk factors for the transmission of hepatitis E virus and for the severe form of hepatitis E acquired locally in Hokkaido, Japan. *J Med Virol.* 2005;76(3):341-9.
72. 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(pt 3):912-7.
73. Kuniholm MH, Purcell RH, McQuillan GM, Engle RE, Wasley A, Nelson KE. Epidemiology of hepatitis E virus in the United States: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *J Infect Dis.* 2009;200(1):48-56.
74. Bouwknegt M, Lodder-Verschoor F, van der Poel WH, Rutjes SA, Roda Husman AM. Hepatitis E virus RNA in commercial porcine livers in The Netherlands. *J Food Prot.* 2007;70(12):2889-95.
75. Jary C. Hepatitis E and meat carcasses. *Br J Gen Pract.* 2005;55(516):557-8.
76. Perez-Gracia MT, Mateos ML, Galiana C, Fernandez-Barredo S, Garcia A, Gomez MT, et al. Autochthonous hepatitis E infection in a slaughterhouse worker. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77(5):893-6.

77. Mataragas M, Skandamis PN, Drosinos EH. Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *Int J Food Microbiol.* 2008;126(1-2):1-12.
78. Reuter G, Fodor D, Katai A, Szucs G. Identification of a novel variant of human hepatitis E virus in Hungary. *J Clin Virol.* 2006;36(2):100-2.
79. Widen F, Sundqvist L, Matyi-Toth A, Metreveli G, Belak S, Hallgren G, et al. Molecular epidemiology of hepatitis E virus in humans, pigs and wild boars in Sweden. *Epidemiol Infect.* 2011;139(3):361-71.
80. Kaba M, Davoust B, Marie JL, Colson P. Detection of hepatitis E virus in wild boar (*Sus scrofa*) livers. *Vet J.* 2011;186(2):259-61.
81. Meng XJ, Lindsay DS, Sriranganathan N. Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2009;364(1530):2697-707.
82. Deus N, Peralta B, Pina S, Allepuz A, Mateu E, Vidal D, et al. Epidemiological study of hepatitis E virus infection in European wild boars (*Sus scrofa*) in Spain. *Vet Microbiol.* 2008;129(1-2):163-70.
83. 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(2):501-5.
84. Tei S, Kitajima N, Ohara S, Inoue Y, Miki M, Yamatani T, et al. Consumption of uncooked deer meat as a risk factor for hepatitis E virus infection: an age- and sex-matched case-control study. *J Med Virol.* 2004;74(1):67-70.
85. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet.* 2003;362(9381):371-3.
86. Arankalle VA, Chobe LP, Joshi MV, Chadha MS, Kundu B, Walimbe AM. Human and swine hepatitis E viruses from Western India belong to different genotypes. *J Hepatol.* 2002;36(3):417-25.
87. Tamada Y, Yano K, Yatsunami H, Inoue O, Mawatari F, Ishibashi H. Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. *J Hepatol.* 2004;40(5):869-70.
88. Meng XJ, Dea S, Engle RE, Friendship R, Lyoo YS, Sirinarumit T, et al. Prevalence of antibodies to the hepatitis E virus in pigs from countries where hepatitis E is common or is rare in the human population. *J Med Virol.* 1999;59(3):297-302.
89. Favorov MO, Kosoy MY, Tsarev SA, Childs JE, Margolis HS. Prevalence of antibody to hepatitis E virus among rodents in the United States. *J Infect Dis.* 2000;181(2):449-55.
90. Kabrane-Lazizi Y, Fine JB, Elm J, Glass GE, Higa H, Diwan A, et al. Evidence for widespread infection of wild rats with hepatitis E virus in the United States. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;61(2):331-5.

91. 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. *J Infect Dis.* 2001;184(12):1594-7.
92. Mushahwar IK. Hepatitis E virus: molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. *J Med Virol.* 2008;80(4):646-58.
93. Ticehurst J, Popkin TJ, Bryan JP, Innis BL, Duncan JF, Ahmed A, et al. Association of hepatitis E virus with an outbreak of hepatitis in Pakistan: serologic responses and pattern of virus excretion. *J Med Virol.* 1992;36(2):84-92.
94. Bryan JP, Tsarev SA, Iqbal M, Ticehurst J, Emerson S, Ahmed A, et al. Epidemic hepatitis E in Pakistan: patterns of serologic response and evidence that antibody to hepatitis E virus protects against disease. *J Infect Dis.* 1994;170(3):517-21.
95. Chauhan A, Jameel S, Dilawari JB, Chawla YK, Kaur U, Ganguly NK. Hepatitis E virus transmission to a volunteer. *Lancet.* 1993;341(8838):149-50.
96. Khuroo MS, Kamili S, Dar MY, Moecklii R, Jameel S. Hepatitis E and long-term antibody status. *Lancet.* 1993;341(8856):1355.
97. Engle RE, Yu C, Emerson SU, Meng XJ, Purcell RH. Hepatitis E virus (HEV) capsid antigens derived from viruses of human and swine origin are equally efficient for detecting anti-HEV by enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol.* 2002;40(12):4576-80.
98. Li F, Riddell MA, Seow HF, Takeda N, Miyamura T, Anderson DA. Recombinant subunit ORF2.1 antigen and induction of antibody against immunodominant epitopes in the hepatitis E virus capsid protein. *J Med Virol.* 2000;60(4):379-86.
99. Khudyakov YE, Lopareva EN, Jue DL, Crews TK, Thyagarajan SP, Fields HA. Antigenic domains of the open reading frame 2-encoded protein of hepatitis E virus. *J Clin Microbiol.* 1999;37(9):2863-71.
100. Anderson DA, Li F, Riddell M, Howard T, Seow HF, Torresi J, et al. ELISA for IgG-class antibody to hepatitis E virus based on a highly conserved, conformational epitope expressed in *Escherichia coli*. *J Virol Methods.* 1999;81(1-2):131-42.
101. Coursaget P, Depril N, Buisson Y, Molinie C, Roue R. Hepatitis type E in a French population: detection of anti-HEV by a synthetic peptide-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Res Virol.* 1994;145(1):51-7.
102. Echevarria JM, Fogeda M, Avellon A. Diagnosis of acute hepatitis E by antibody and molecular testing: a study on 277 suspected cases. *J Clin Virol.* 2011;50(1):69-71.
103. Mast EE, Kuramoto IK, Favorov MO, Schoening VR, Burkholder BT, Shapiro CN, et al. Prevalence of and risk factors for antibody to hepatitis E virus seroreactivity among blood donors in Northern California. *J Infect Dis.* 1997;176(1):34-40.

104. Schlauder GG, Dawson GJ, Erker JC, Kwo PY, Knigge MF, Smalley DL, et al. The sequence and phylogenetic analysis of a novel hepatitis E virus isolated from a patient with acute hepatitis reported in the United States. *J Gen Virol.* 1998;79 (pt 3):447-56.
105. Mast EE, Alter MJ, Holland PV, Purcell RH. Evaluation of assays for antibody to hepatitis E virus by a serum panel. Hepatitis E Virus Antibody Serum Panel Evaluation Group. *Hepatology.* 1998;27(3):857-61.
106. Khudyakov Y, Kamili S. Serological diagnostics of hepatitis E virus infection. *Virus Res.* 2011;161(1):84-92.
107. Ippagunta SK, Naik S, Sharma B, Aggarwal R. Presence of hepatitis E virus in sewage in Northern India: frequency and seasonal pattern. *J Med Virol.* 2007;79(12):1827-31.
108. Clemente-Casares P, Rodriguez-Manzano J, Girones R. Hepatitis E virus genotype 3 and sporadically also genotype 1 circulate in the population of Catalonia, Spain. *J Water Health.* 2009;7(4):664-73.
109. Rodriguez-Manzano J, Miagostovich M, Hundesa A, Clemente-Casares P, Carratala A, Buti M, et al. Analysis of the evolution in the circulation of HAV and HEV in Eastern Spain by testing urban sewage samples. *J Water Health.* 2010;8(2):346-54.
110. Shrestha MP, Scott RM, Joshi DM, Mammen MP Jr, Thapa GB, Thapa N, et al. Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *N Engl J Med.* 2007;356(9):895-903.
111. Li SW, Zhang J, Li YM, Ou SH, Huang GY, He ZQ, et al. A bacterially expressed particulate hepatitis E vaccine: antigenicity, immunogenicity and protectivity on primates. *Vaccine.* 2005;23(22):2893-901.
112. 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(9744):895-902.

Recebido em: 17/08/2012

Aceito em: 11/04/2013