

# Diagnóstico laboratorial das hepatites virais

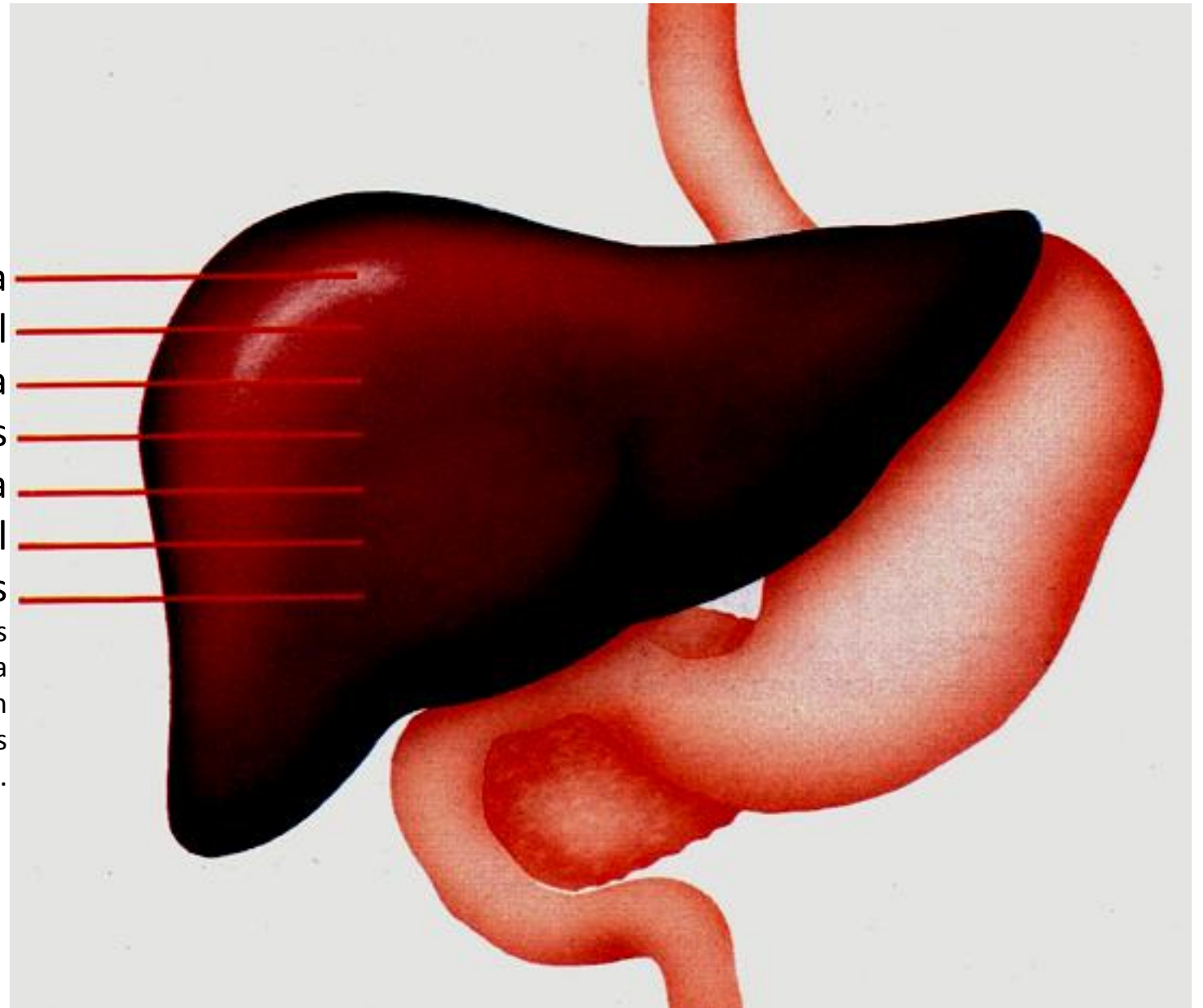
[www.profbio.com.br](http://www.profbio.com.br)

Profa. Alessandra Barone

Prof. Archangelo P. Fernandes

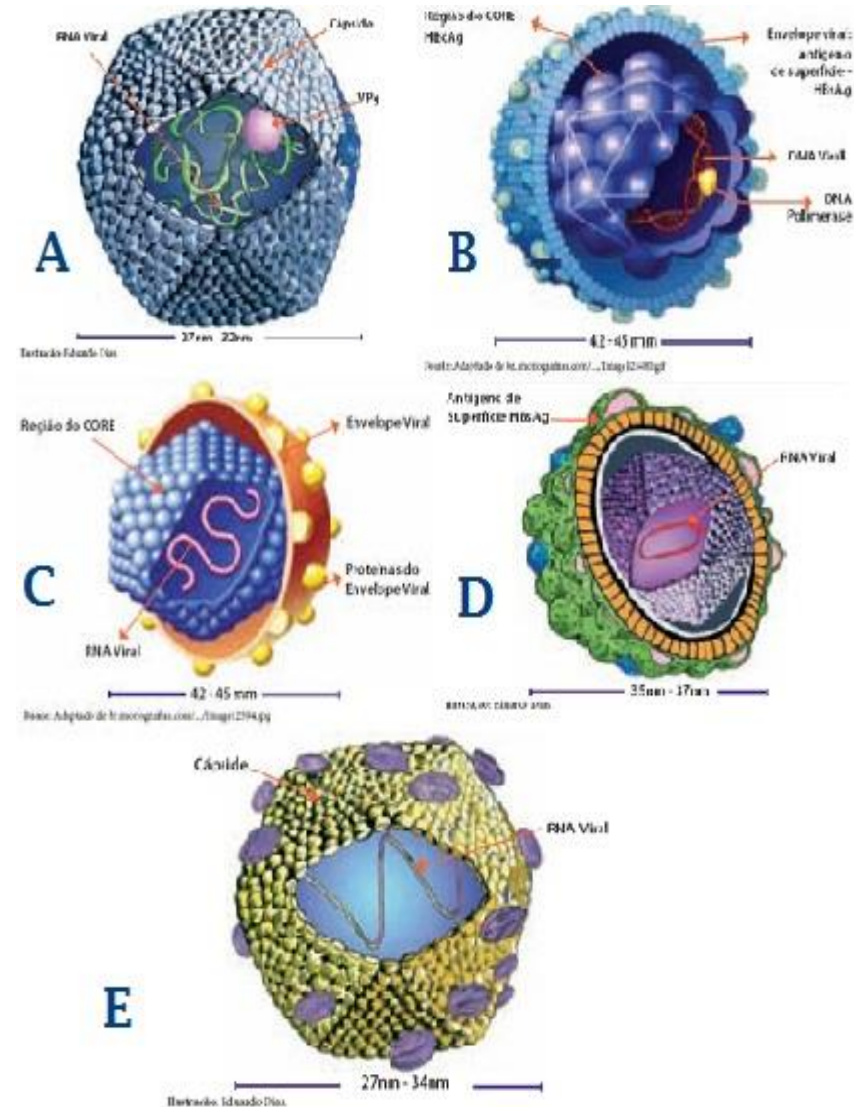
# ETIOLOGIA DAS HEPATITES

- Bacteriana
- Viral
- Parasitária
- Drogas
- Toxina
- Álcool
- Outras
- Doenças auto imunes
- Trauma
- Doença de Wilson
- Colangites
- Etc...



# Hepatites virais

- Causadas por vírus:
  - Vírus da hepatite A
  - vírus da hepatite B
  - vírus da hepatite C
  - vírus da hepatite D
  - vírus da hepatite E
  - Vírus da hepatite G
  - Entre outros (TTV, SEV-V, etc)



# Hepatites virais

Agente etiológico	Genoma	Modo de transmissão	Período de incubação	Período de transmissibilidade
HAV	RNA	Fecal-oral	15-45 dias (média de 30 dias)	Desde duas semanas antes do início dos sintomas até o final da segunda semana da doença
HBV	DNA	Sexual, parenteral, percutânea, vertical	30-180 dias (média de 60 a 90 dias)	Duas a três semanas antes dos primeiros sintomas, se mantendo durante a evolução clínica da doença. O portador crônico pode transmitir o HBV durante anos
HCV	RNA	Parenteral, percutânea, vertical, sexual	15-150 dias	Uma semana antes do início dos sintomas e mantém-se enquanto o paciente apresentar HCV-RNA detectável
HDV	RNA	Sexual, parenteral, percutânea, vertical	30-180 dias. Este período é menor na superinfecção	Uma semana antes do início dos sintomas da infecção conjunta (HBV e HDV). Na superinfecção não se conhece este período
HEV	RNA	Fecal-oral	14-60 dias (média de 42 dias)	Duas semanas antes do início dos sintomas até o final da segunda semana da doença

# Hepatites virais

- Pode apresentar-se de forma assintomática, anictéricas e ictericas típicas, até a insuficiência hepática aguda grave (fulminante).
- Quando apresentam sintomatologia, são caracterizadas por **fadiga, mal-estar, náuseas, dor abdominal, anorexia e icterícia**.
  - As manifestações clínicas aparecem quando a doença está em estágio avançado, com relato de fadiga.
- Os vírus A e E não cronificam, embora o HAV possa produzir casos que se arrastam por vários meses. Os vírus B, C e D são aqueles que têm a possibilidade de cronificar.

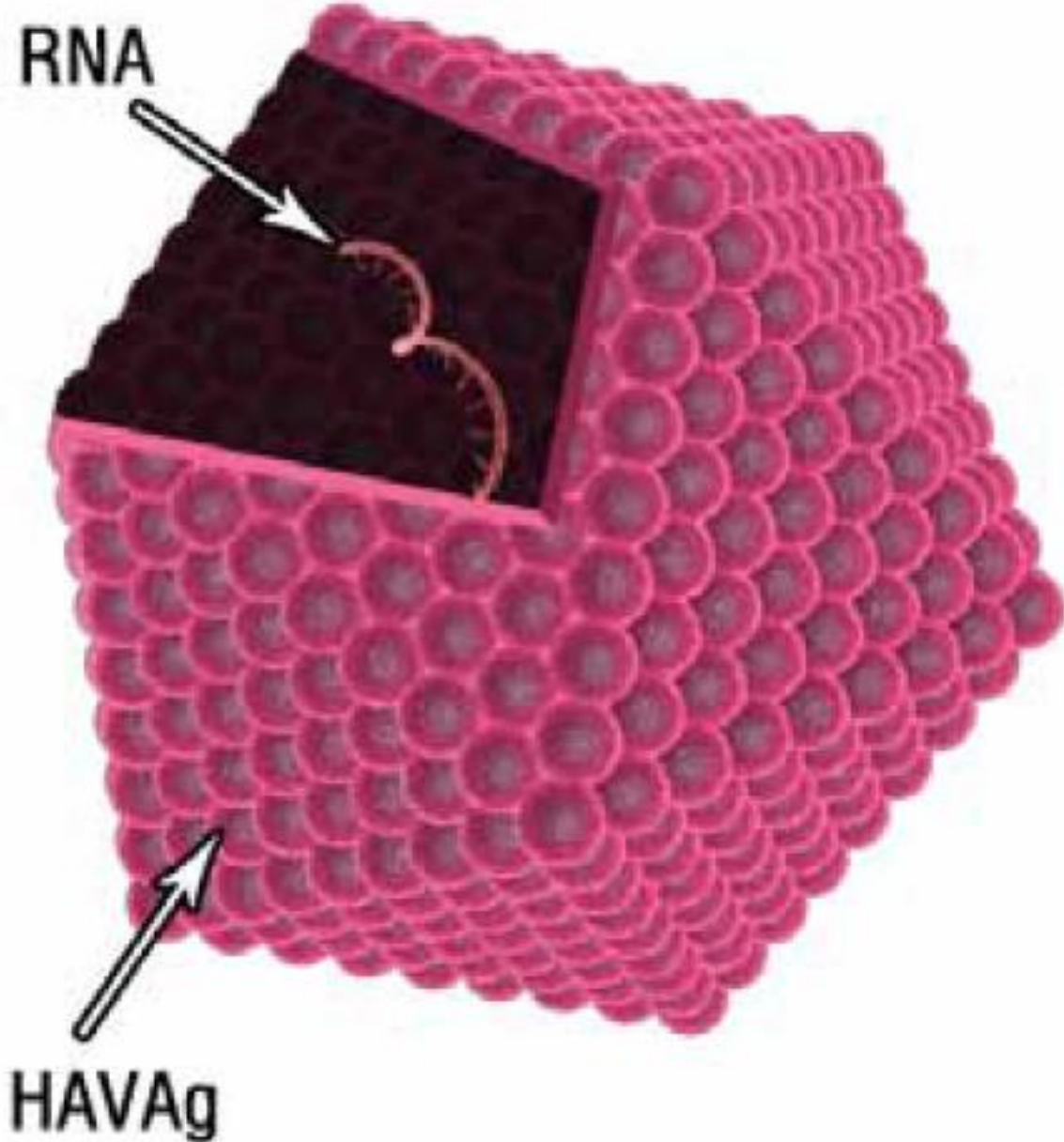
# Diagnóstico

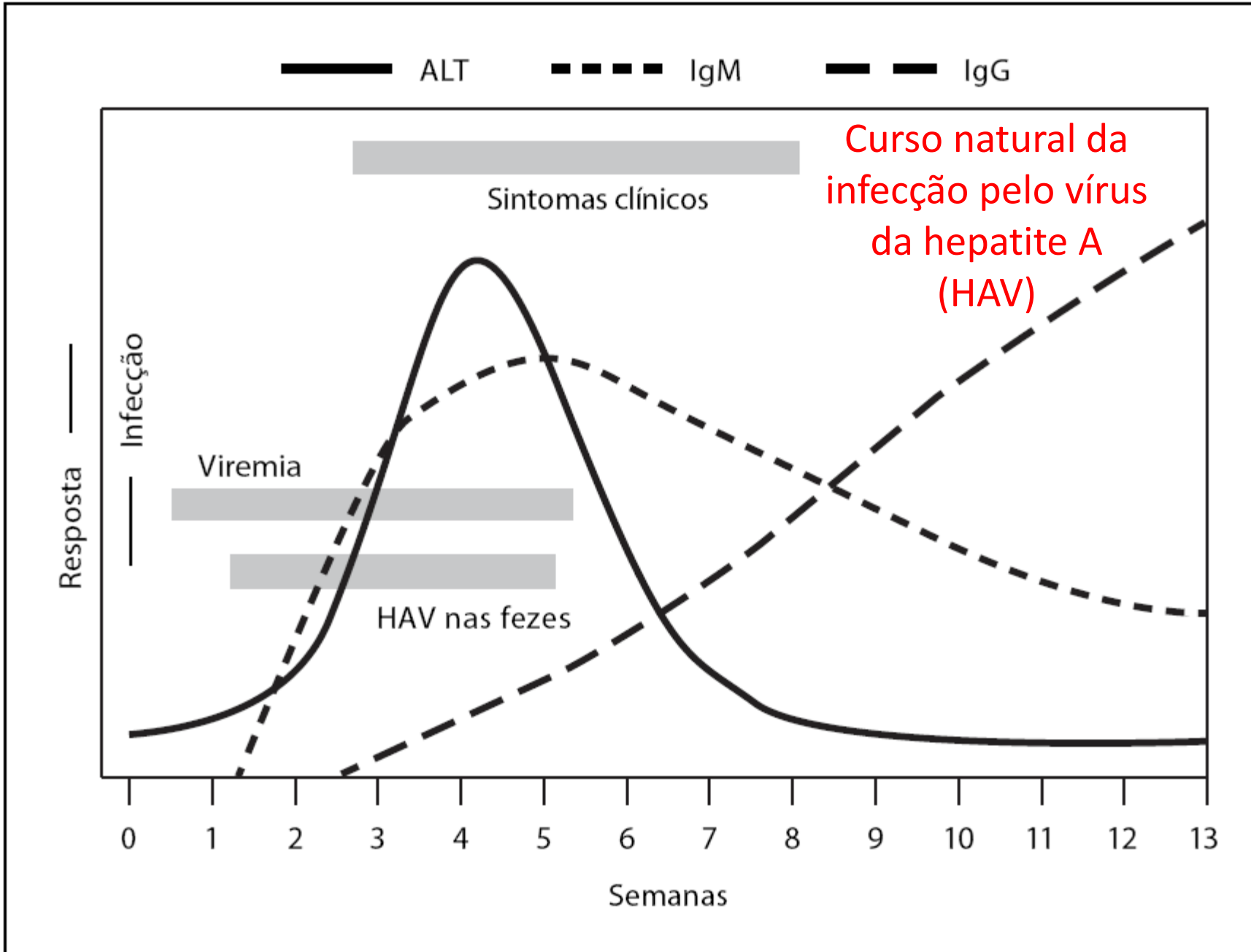
- O diagnóstico das hepatites pode ser realizados através de testes bioquímicos para dosagens de enzimas e testes imunológicos específicos para os variados tipos de hepatites
- Provas bioquímicas:
  - Dosagem de aminotransferases (ALT e AST)
  - Bilirrubinas
  - Gama GT, Fosfatase Alcalina e proteínas séricas estão mais alteradas em hepatites não virais como hepatites tóxico medicamentosas, colangite e hepatite alcoólica.

# Hepatite A

- A principal via de contágio do HAV é a fecal-oral, por contato inter-humano ou por meio de água e alimentos contaminados.
- A transmissão parenteral é rara.
- A disseminação está relacionada com a precariedade da infraestrutura de saneamento básico e condições de higiene praticadas.
- Autolimitada e de caráter benigno.

O HAV é formado por um capsídeo de formato icosaédrico, composto pelas proteínas estruturais **VP1**, **VP2** e **VP3**, o qual envolve o genoma viral





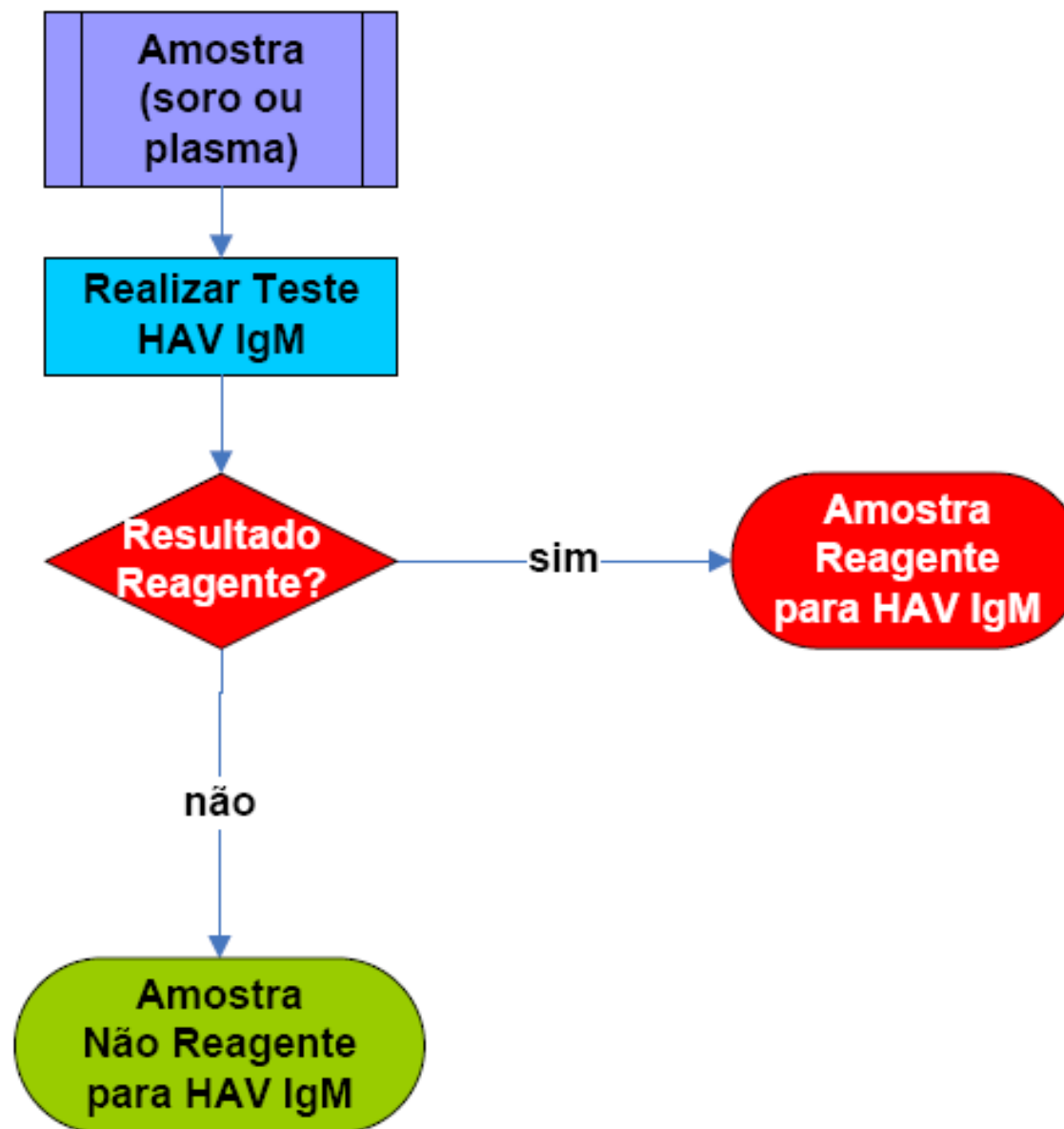
Realizado por meio de imunoensaios que detectam IgM anti-HAV.

Positividade **entre 5 e 10 dias** após a infecção, desde que existam **altas concentrações de IgM anti-HAV**;

**Baixas concentrações** de IgM anti-HAV, são detectadas entre **quatro e seis meses** após a infecção aguda.

Os testes para anti-HAV total (IgM e IgG) permanecem reagentes após a infecção ou imunização durante toda a vida do paciente

Fluxograma  
para o  
diagnóstico  
para a  
infecção pelo  
vírus da  
hepatite A  
(HAV)



# Hepatite B

- Transmitida por via parenteral, vertical e sexual (considerada uma IST - Infecções Sexualmente Transmissíveis).
- As infecções causadas pelo HBV são habitualmente anictéricas.
  - Cerca de **30%** dos indivíduos adultos apresentam a forma **ictérica** da doença na **fase aguda** e essa porcentagem é ainda menor entre crianças.
  - A evolução para formas crônicas ocorre em aproximadamente 5 a 10% dos casos em adultos.
- O vírus provoca **hepatite aguda** em **um terço dos atingidos** e um em cada mil infectados pode ser vítima de hepatite fulminante.

# Hepatite B

- Segundo a Organização Mundial da Saúde – OMS, a **infecção crônica** causada pelo vírus da hepatite viral B (VHB) atinge aproximadamente **350 milhões de pessoas em todo o mundo**.
- Caso a infecção ocorra por transmissão vertical, o risco de cronificação dos recém-nascidos de gestantes com evidências de replicação viral (HBeAg reagente) é de cerca de 70% a 90%.

# Hepatite B

- Fases da doença:
  - **1ª fase: Imunotolerância** : elevada replicação viral, sem evidências de agressão hepatocelular. Aminotransferases estão normais ou próximas do normal.
  - **2ª fase: Imunoclearance**: agressão dos hepatócitos nos quais ocorre replicação viral, gerando elevação das transaminases.
  - **3ª fase: Portador inativo**: níveis muito baixos ou indetectáveis de replicação viral, normalização das transaminases.
  - **4ª fase: Reativação** - retorno da replicação

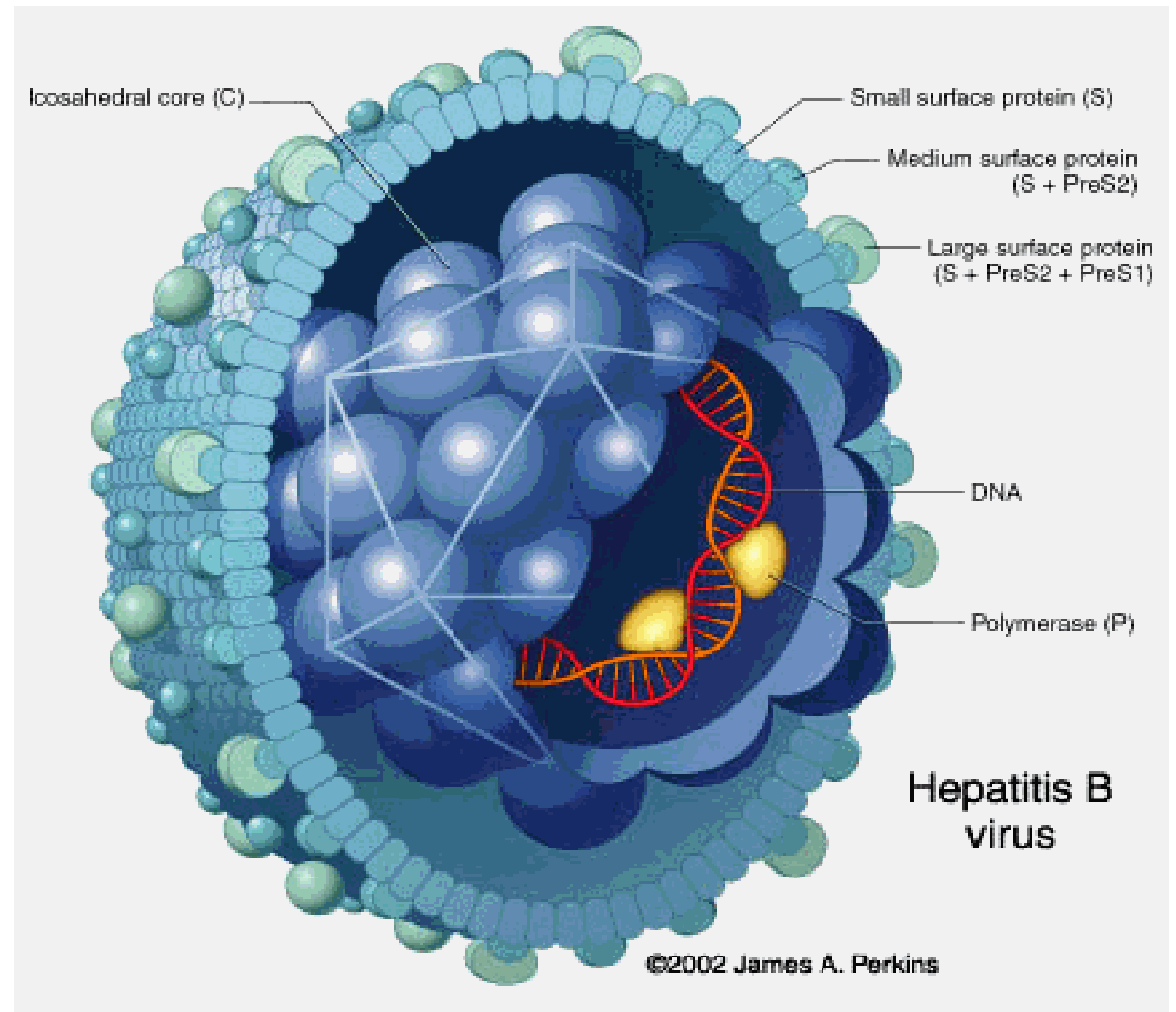
# Hepatite B

- Existem oito genótipos do VHB, que recebem denominação de A a H, distintos entre si pela sequência de nucleotídeos no genoma
- A variação genotípica responde diferentemente ao tratamento
  - Melhor resposta ao interferon com o genótipo A e B.
  - Os genótipos C e F estão relacionados a maiores riscos de carcinogênese
  - São Paulo: predomínio do genótipo A e D

O HBV pertence à família *Hepadnaviridae* (vírus de DNA hepatotrópicos)

A partícula viral infecciosa do HBV inclui um nucleocapsídeo proteico (HBcAg) sendo envolta por um envelope lipoproteico contendo as três formas do antígeno de superfície viral (HBsAg).

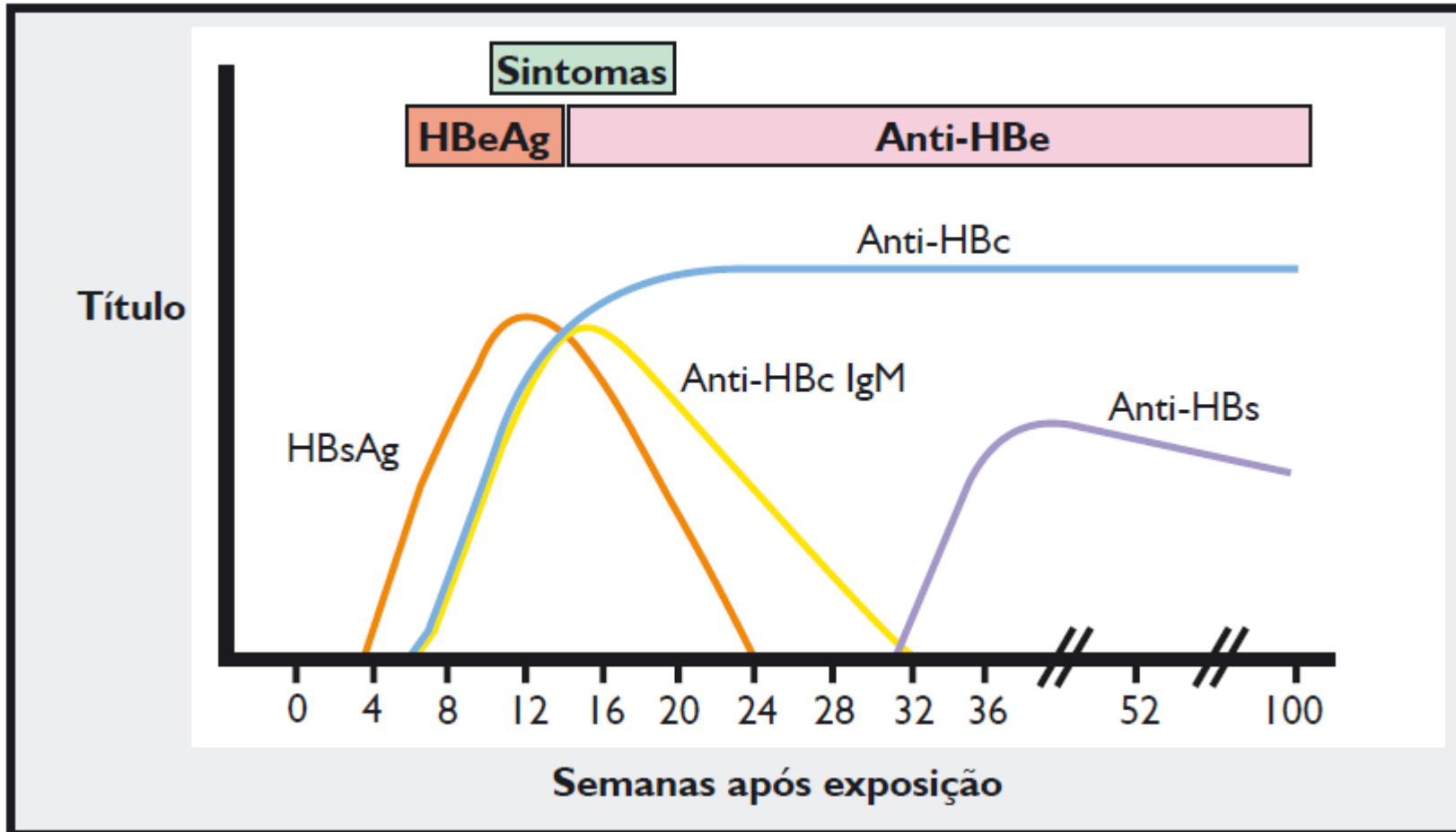
Ainda dentro da partícula, está presente a enzima DNA polimerase viral, que irá completar o genoma do vírus durante a infecção.



# Marcadores virais

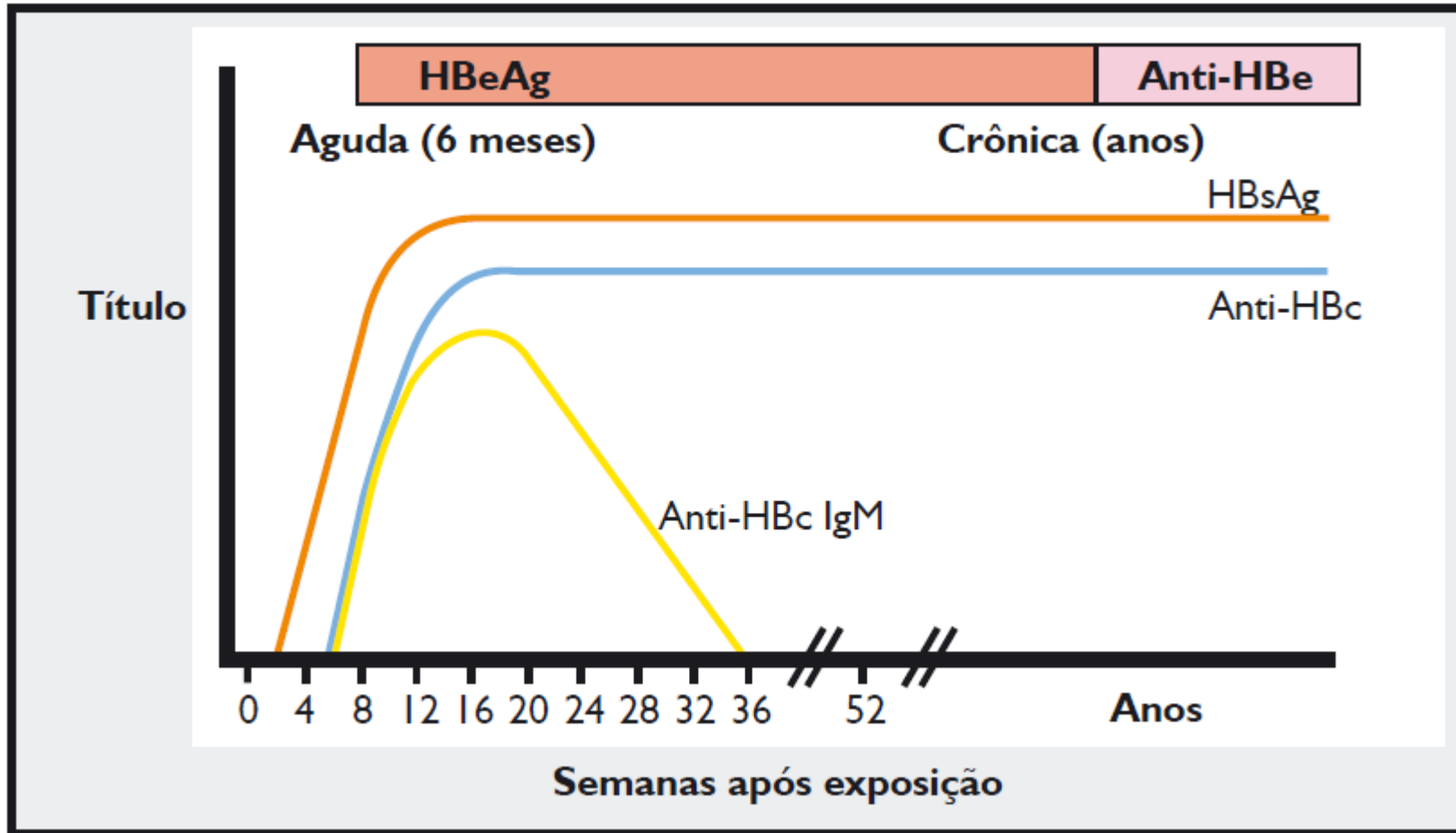
- **HBsAg**: 1º marcador detectado → após 30-45d de infecção (antes da ALT) → permanece ~ 4m
  - **HBeAg**: replicação viral → permanece ~ 2,5m
  - **Anti-HBc-IgM**: 1º Ac detectado; presente ~ 6m
  - **Anti-HBc-IgG**: positivo por toda a vida - marcador de infecção prévia ou atual por HBV
  - **Anti-HBe**: logo após HBeAg - bom prognóstico
  - **Anti-HBs**: evolução para cura (imunidade)
- permanece anos ou décadas. (presente nos vacinados)

## Cinética da evolução dos marcadores sorológicos durante a hepatite B aguda



A janela imunológica para os anticorpos anti-HBc é de aproximadamente 45 dias, posterior ao aparecimento do HBsAg.

## Cinética da evolução dos marcadores sorológicos durante a hepatite B crônica



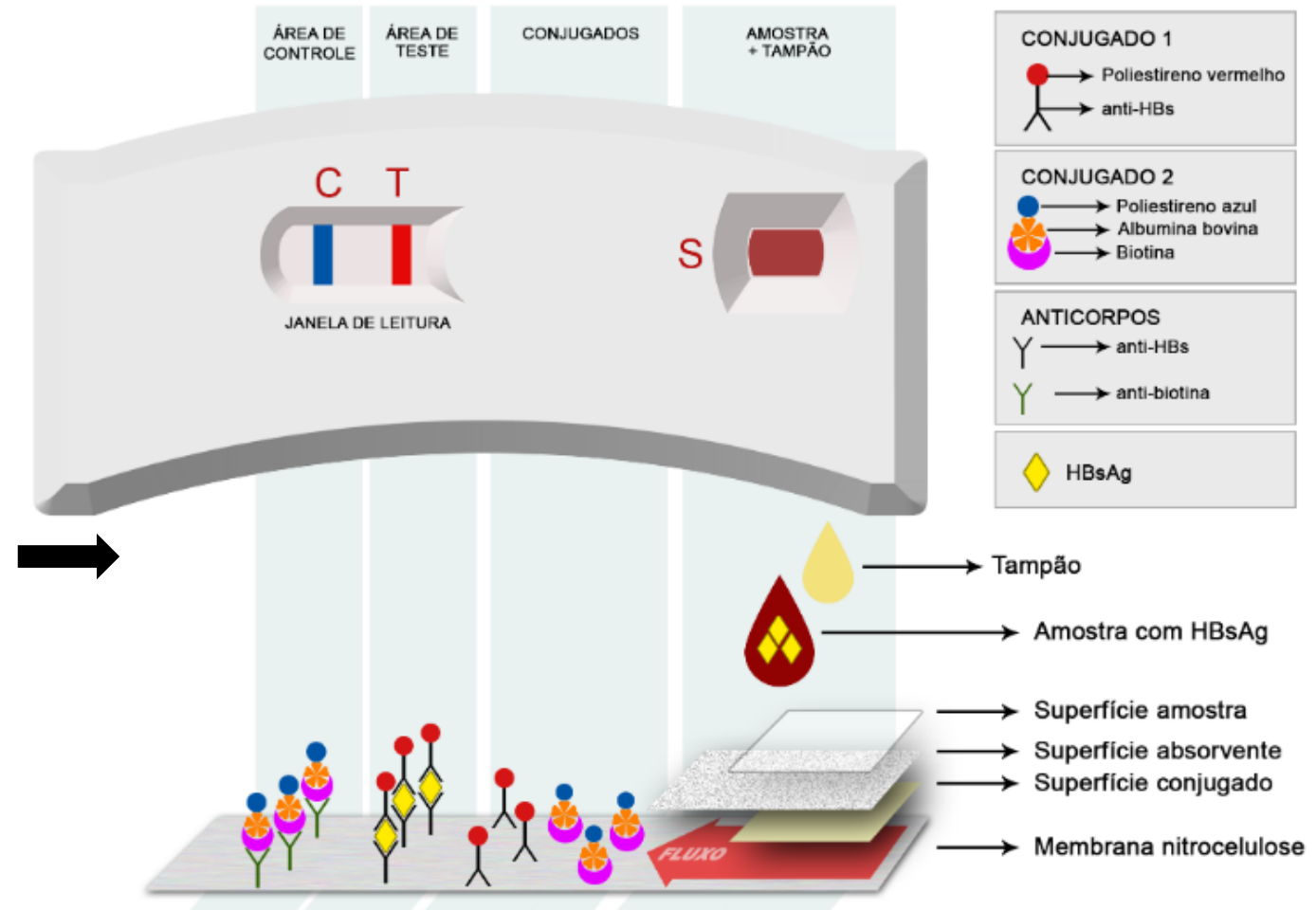
# Interpretação dos resultados sorológicos para hepatite B

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

Os marcadores sorológicos circulantes podem ser detectados no soro, plasma ou sangue de pacientes infectados por meio de imunoenaios.

O HBsAg também pode ser detectado por meio de testes rápidos (TR), que usam a tecnologia de **imunocromatografia de fluxo lateral**.

Com raras exceções, ambos os marcadores estão presentes em todas as fases da infecção pelo HBV.

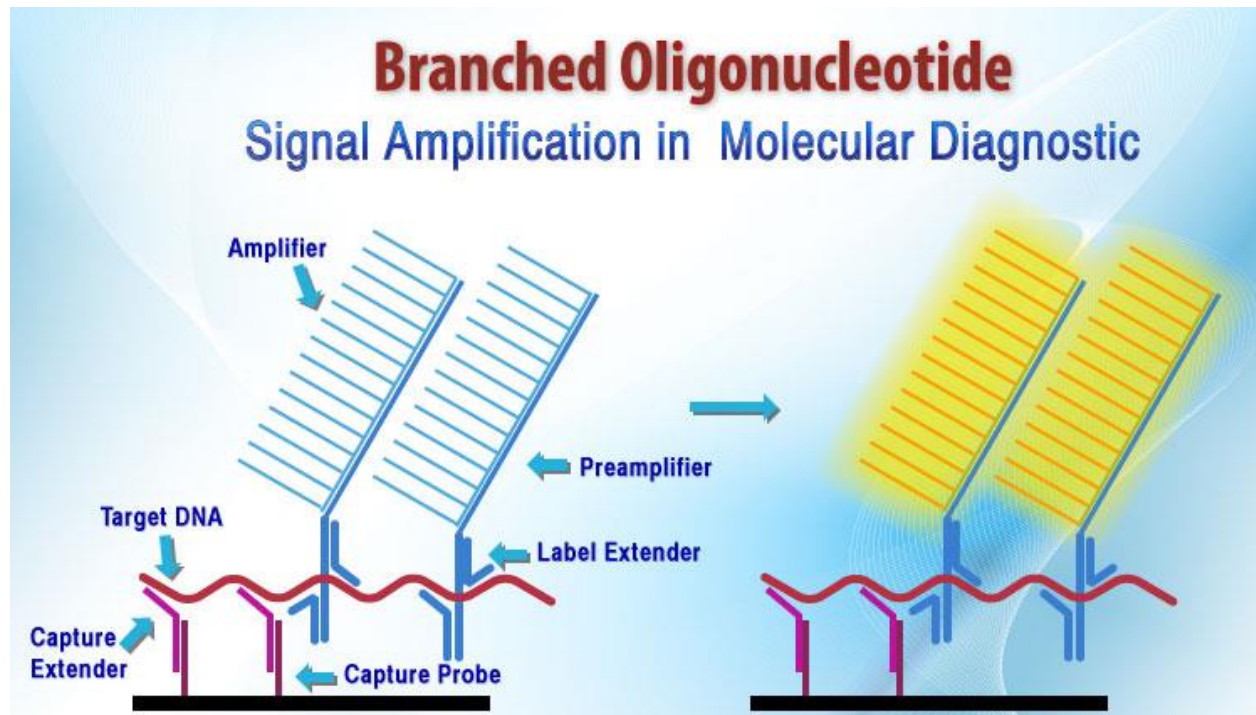


# Diagnóstico

- Pesquisa de antígenos virais – AgHBs por quimiluminescência ou ELISA
- Pesquisa dos antígenos AgHBs e AgHBc no tecido hepático (marcadores virais teciduais) pela imunohistoquímica

# Diagnóstico

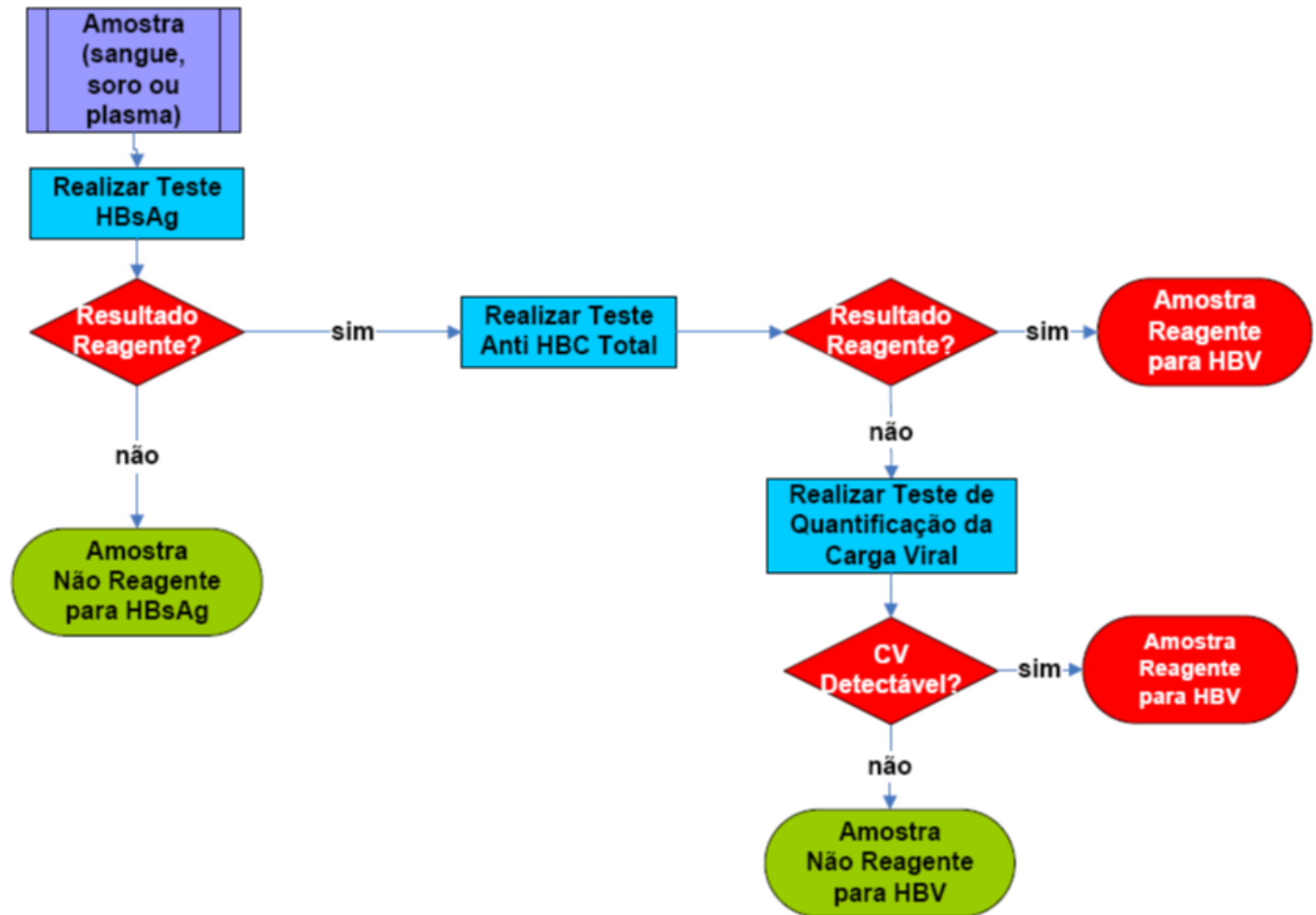
- **Quantificação da carga viral**
  - Amplificação dos sinais (branched-DNA-bDNA) e detecção do produto da amplificação é a quimioluminescência
  - Amplificação de alvos específicos por PCR e detecção do produto da amplificação por ensaio imunoenzimático (EIA)
  - Amplificação de alvos específicos por PCR em tempo real, cujo método de detecção do produto da amplificação é a fluorescência



- As amostras são adicionadas a uma microplaca sensibilizada com sondas que irão capturar a sequência-alvo.
- Em seguida, outras sondas são adicionadas que irão hibridizar na sequência-alvo e numa sonda de DNA ramificado (bDNA) simultaneamente.
- Esta sonda de bDNA contém ramificações que irão se ligar a sondas conjugadas com fosfatase alcalina.
- A detecção se dá por incubação do complexo com um substrato quimioluminescente e posterior medida da emissão de luz num luminômetro.
- O sinal é diretamente proporcional à concentração do ácido nucleico-alvo.

<https://www.youtube.com/watch?v=-bIJt7zsj2k>

Fluxograma para o diagnóstico para a infecção pelo vírus da hepatite B (HBV)



A amostra com carga viral indetectável deverá ser liberada como “Amostra indetectável para HBV-DNA”.

O laudo deverá ser emitido com a seguinte ressalva: Em caso de suspeita de infecção pelo HBV, uma nova amostra deverá ser coletada 30 dias após a data da coleta desta amostra para a realização de um novo teste.”

# Hepatite B

RDC 75/2016 decorre da inclusão da obrigatoriedade de realização de testes de biologia molecular para detecção dos vírus da Hepatite B - HBV, na triagem de doadores de sangue.

Artigo 89

III-

Hepatite B (HBV): 3 (três) testes em paralelo: 1 (um) teste para detecção do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (**HBsAg**), 1 (um) teste para detecção de anticorpo contra o capsídeo do vírus da hepatite B (**anti-HBc**), com pesquisa de IgG ou IgG + IgM e 1(um) teste para detecção de **ácido nucléico do vírus HBV** por técnica de biologia molecular;”



# Tratamento

- Negativação sustentada dos marcadores de replicação viral ativa, HBeAg e carga viral, pois estes traduzem remissão clínica, bioquímica e histológica.
- Os resultados a serem obtidos nos pacientes HBsAg e HBeAg reagentes são:
  - Normalização da ALT
  - Negativação do HBeAg,
  - Soroconversão para anti-HBe,
  - Negativação ou redução do HBV-DNA
  - Negativação do HBsAg com ou sem soroconversão para o anti-HBs

# Tratamento

- Interferon-alfa:
  - efeitos antivirais, antiproliferativos e imunomoduladores
- Tenofovir:
  - bloqueia a ação da enzima transcriptase reversa viral
- Entecavir:
  - bloqueia as três funções da DNA polimerase do VHB

# Hepatite C

- Principal agente etiológico da hepatite crônica
- Transmissão ocorre principalmente por via parenteral
  - Atualmente a epidemia continua se espalhando, principalmente, entre aqueles que compartilham seringas, agulhas e outros instrumentos para uso de drogas
- A transmissão sexual é pouco frequente – menos de 1% em parceiros estáveis
- A transmissão vertical é rara quando comparada à hepatite B
- **O HCV é a maior responsável por cirrose e transplante hepático no mundo ocidental**

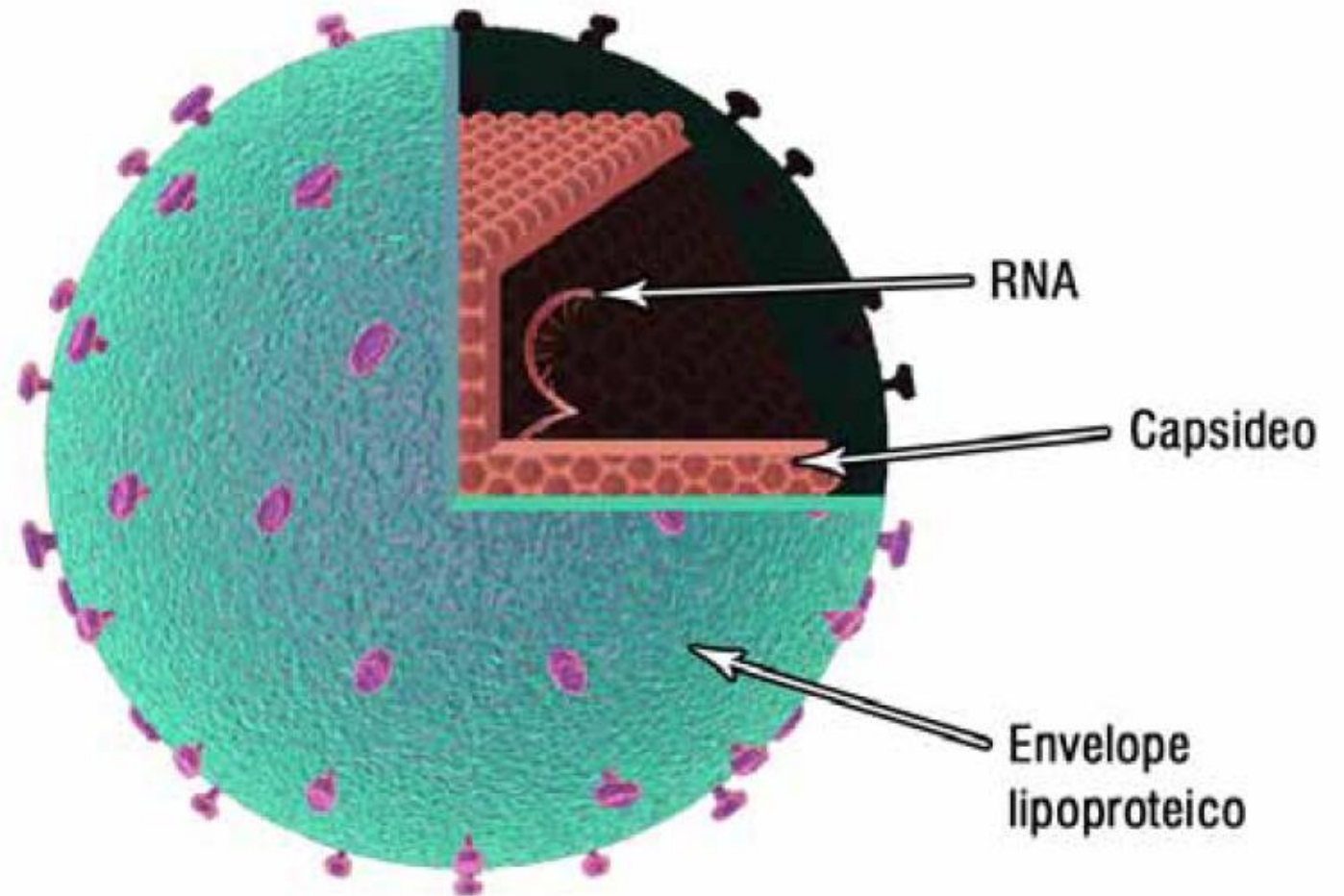
# Hepatite C

- A hepatite C aguda apresenta evolução subclínica, com cerca de 80% dos casos assintomáticos e anictéricos, dificultando o diagnóstico.
- Aproximadamente, 20% a 30% dos casos podem apresentar icterícia e 10% a 20% apresentam sintomas inespecíficos, como anorexia, astenia, mal estar e dor abdominal.
- Diagnóstico diferencial somente é possível com a realização de testes para detecção de anticorpos específicos, antígenos virais ou material genético viral.

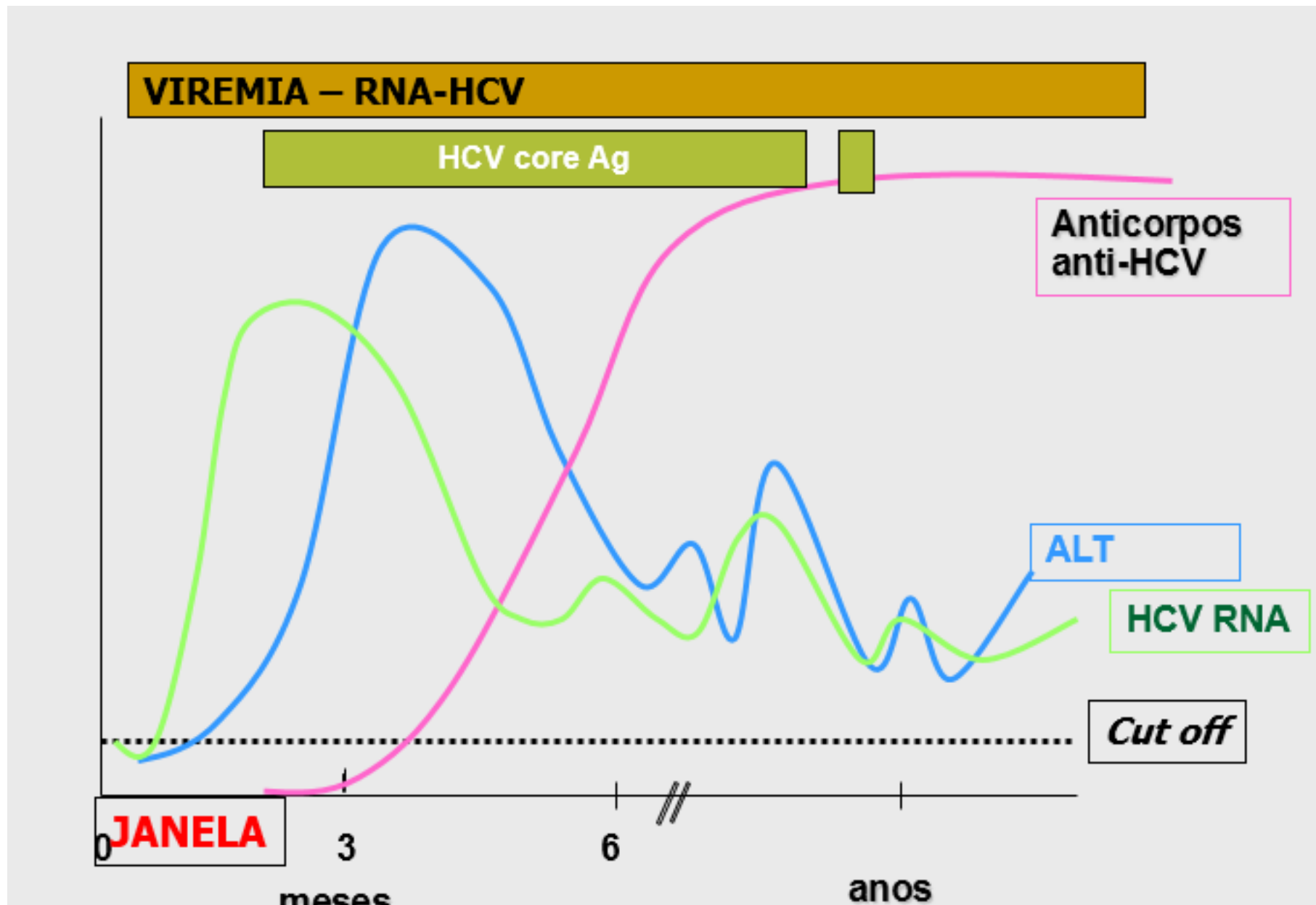
# Hepatite C

- A infecção crônica se desenvolve em anos ou décadas.
- Acredita-se que a evolução para cirrose e carcinoma hepatocelular dependa de fatores como carga viral e genótipo
- O dano celular causado pelo HCV é pequeno; por isso, acredita-se que o dano hepático ocorre, primariamente, por ação de mecanismos imunológicos.
  - HCV não é citopático
- Lesão dos hepatócitos coincide com início da resposta imune e não com replicação viral
- Imunossupressão com normalização transitória da ALT – a retirada do imunossupressor ocasiona a exacerbação aguda da hepatite.

A partícula viral é dotada de um envelope lipoproteico, contendo as duas glicoproteínas de envelope (**E1** e **E2**), e um capsídeo proteico, composto pela proteína de capsídeo (**C**), que envolve o genoma viral



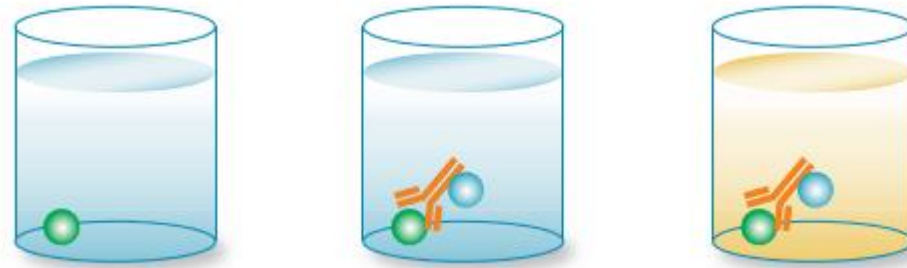
Evolução dos marcadores do vírus da hepatite C (HCV) nas infecções agudas e crônicas



**Triagem** a partir de amostras de sangue total, soro, plasma ou FO.

Amostras com resultados reagentes nessa etapa têm seu resultado confirmado por imunoenaios que detectam o anticorpo **anti-HCV**

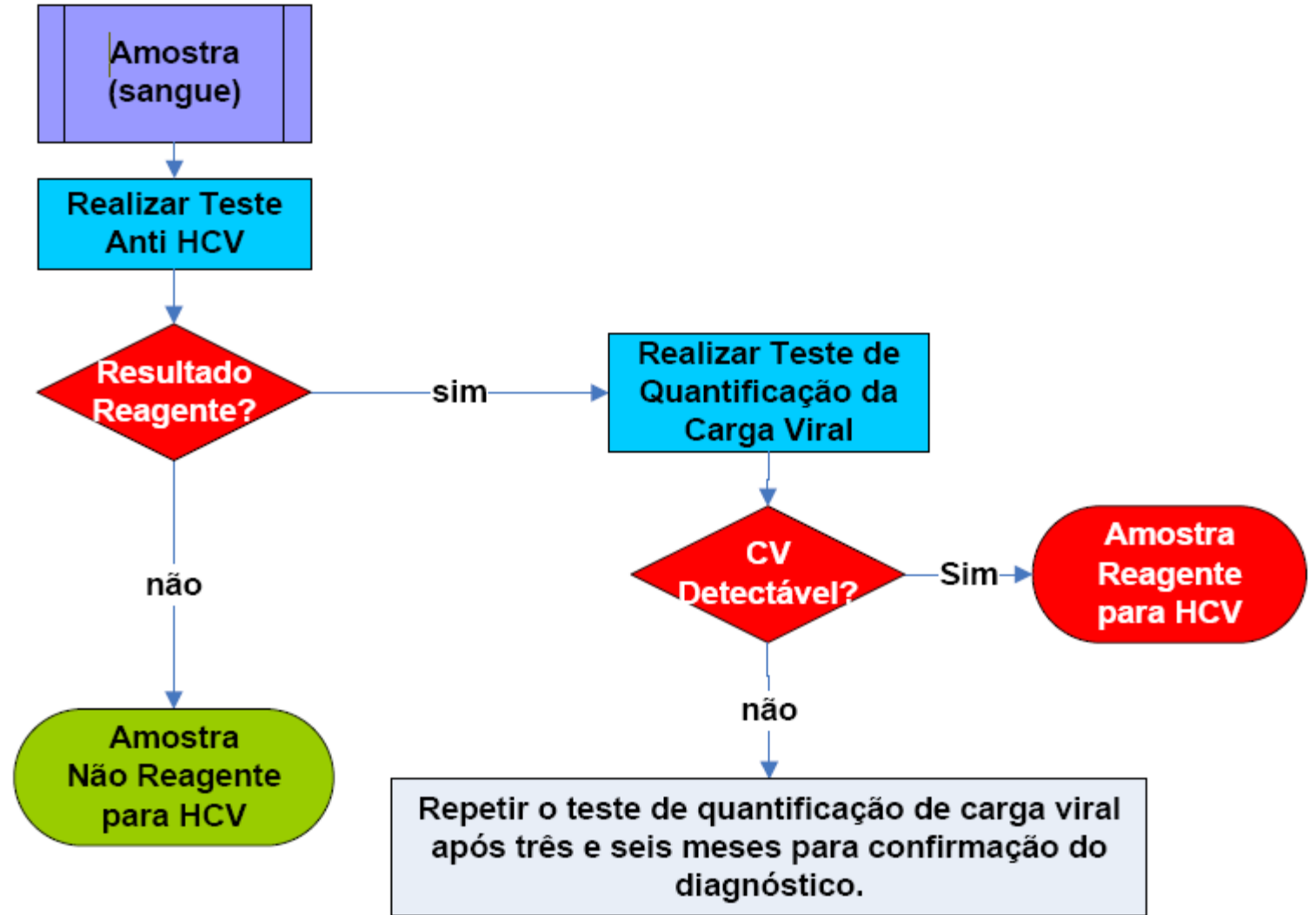
O **antígeno core do HCV** pode ser detectado com uso de imunoensaio e é um indicador da presença de infecção ativa.



O teste molecular para **RNA do HCV** é o primeiro marcador a aparecer entre uma a duas semanas após a infecção.

É utilizado para confirmar a infecção em casos crônicos, monitorar a resposta ao tratamento e confirmar resultados sorológicos indeterminados, em especial em pacientes imunossuprimidos

Fluxograma para o diagnóstico para a infecção pelo vírus da hepatite C (HCV)



<https://www.youtube.com/watch?v=w861xumP3Yc>

# Prognóstico

- Hepatite A
  - Geralmente após 3 meses o paciente já está recuperado.
  - Apesar de não haver forma crônica da doença, há a possibilidade de formas prolongadas e recorrentes, com manutenção das aminotransferases em níveis elevados por vários meses.
  - A forma fulminante, apesar de rara (menos que 1% dos casos), apresenta prognóstico ruim.
  - O quadro clínico é mais intenso à medida que aumenta a idade do paciente

# Prognóstico

- Hepatite B
  - Normalmente tem bom prognóstico: o indivíduo resolve a infecção e fica livre dos vírus em cerca de 90% a 95% dos casos.
  - As exceções ocorrem nos casos de hepatite B na criança (90% de chance de cronificação em menores de 1 ano e 20% a 50% para aquelas que se infectaram entre 1 e 5 anos de idade) e pacientes com algum tipo de imunodeficiência.

# Prognóstico

- Hepatite C
  - A cronificação ocorre em 60% a 90% dos casos, dos quais, em média, um quarto a um terço evolui para formas histológicas graves num período de 20 anos.
  - O quadro crônico pode ter evolução para cirrose e hepatocarcinoma.
  - O uso concomitante de bebida alcoólica, em pacientes portadores do HCV, determina maior propensão para desenvolver cirrose hepática