



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA FACULDADE
DE
MEDICINA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

JOÃO PEDRO GOUVEIA DA FONSECA

Hepatite E em Doentes Imunossuprimidos

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE INFECCIOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:
PROFESSOR DOUTOR JOSÉ GABRIEL SARAIVA DA CUNHA

ABRIL/2019

HEPATITE E EM DOENTES IMUNOSSUPRIMIDOS

Aluno: João Pedro Gouveia da Fonseca

Afiliação: Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

Endereço de Correio Eletrónico: joaopgfonseca@gmail.com

Autor Correspondente: José Gabriel Saraiva da Cunha

Morada Institucional: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Endereço de Correio Eletrónico: jscunha@fmed.uc.pt

Índice

1. Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos.....	3
2. Resumo	4
3. Abstract.....	5
4. Introdução	6
5. Materiais e Métodos.....	8
6. Descrição.....	8
6.1 Biologia molecular do VHE	8
6.2 Genótipos 1 e 2.....	9
6.3 Genótipos 3 e 4.....	10
6.4 A infeção por VHE em doentes imunossuprimidos	12
6.5 Aspetos clínicos da Infeção Crónica.....	13
6.6 Manifestações extra-hepáticas	15
6.7 Métodos de Diagnóstico	17
6.8 Tratamento	21
6.9 Prevenção	26
7. Discussão.....	29
8. Conclusão	31
9. Agradecimentos.....	32
10. Referências bibliográficas	33

1. Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

ARN – Ácido ribonucleico

CHUC - Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

CPP – Cisteína Protease tipo Papaína

EASL – *European Association for the Study of the Liver*

EFSA - Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

FLA – Fase de Leitura Aberta

PNE – Proteína não Estrutural

RBV - Ribavirina

RHV – Região Hipervariável

RNC – Região Não Codificante

RVS – Resposta Viral Sustentada

SGB – Síndrome de Guillan-Barré

TGP - Transaminase glutâmico-pirúvica

TGO - Transaminase glutâmico-oxaloacética

VHA – Vírus da Hepatite A

VHC – Vírus da Hepatite C

VHE – Vírus da Hepatite E

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

2. Resumo

O objetivo deste artigo de revisão visa estudar a clínica, os métodos de diagnóstico e o tratamento da infeção crónica por Vírus da Hepatite E em doentes imunossuprimidos. Também visa fazer um apanhado geral da realidade portuguesa em relação ao vírus, tanto a nível epidemiológico como a nível clínico.

De acordo com os estudos revistos neste artigo, a infeção por Vírus da Hepatite E é relativamente comum, mas, no entanto, muitas vezes acaba por ser subdiagnosticada devido à sua clínica inespecífica. Na população imunocompetente a infeção é breve e resolve-se sem necessidade de terapêutica. Em doentes imunossuprimidos esta infeção pode tornar-se crónica, quando causada pelos genótipos 3 e 4 do Vírus da Hepatite E.

Os estudos referidos neste trabalho indicam também que, na maioria dos casos, a infeção crónica é assintomática, sendo o sintoma mais comum a fadiga. Analiticamente a alteração mais comum é a elevação das transaminases hepáticas. Quando surge uma infeção crónica esta vai induzir o aparecimento de fibrose hepática e, conseqüentemente, pode ocorrer descompensação hepática e morte. A infeção crónica pode estar associada a manifestações extra-hepáticas, as mais importantes das quais surgem a nível neurológico, mas também podem ocorrer a nível renal, hematológico e outros. O diagnóstico de infeção crónica faz-se por pesquisa de ácido ribonucleico do vírus, e considera-se crónica quando está presente há mais de 3-6 meses.

Conclui-se também que, atualmente não existe uma terapia com indicação para o Vírus da Hepatite E. Nos casos de infeção aguda, dado que esta se resolve espontaneamente, não é realizada terapia, exceto em doentes imunossuprimidos, ou em alguns casos específicos. Nas infeções crónicas em doentes imunossuprimidos, a terapia consiste inicialmente em reduzir a intensidade da imunossupressão, quando esta está a ser realizada. Caso esta estratégia não seja bem-sucedida inicia-se terapia com ribavirina durante 3 meses.

No caso concreto de Portugal verifica-se que não existem estratégias de prevenção nem rastreio para a infeção por Vírus da Hepatite E para a população imunossuprimida. Alguns países europeus já adotaram medidas de prevenção através da pesquisa de vírus em doações de sangue. Na China desenvolveu-se uma vacina para o Vírus da Hepatite E, no entanto, esta é dirigida para o genótipo 1 do vírus, que é pouco prevalente em Portugal.

Palavras-chave

Vírus da Hepatite E; Imunossuprimidos; Infeção crónica;

3. Abstract

The goal of this review is to study the clinic, diagnostic methods and treatment of chronic infection by Hepatitis E Virus in immunosuppressed patients. It also aims to show the Portuguese reality about the virus, such as epidemiology and medical knowledge.

According to studies reviewed in this article, the infection by Hepatitis E Virus is common, however, it is often underdiagnosed due to its unspecific clinic. In immunocompetent population it is characterized by a brief infection which resolves without the need of therapeutics. In immunosuppressed patients the infection can become chronic when it is caused by the genotypes 3 and 4 of the Hepatitis E Virus.

Studies cited in this work show that in most cases the chronic infection is asymptomatic, being fatigue the most common symptom. Laboratory analysis most frequent change is an elevation of the hepatic transaminases. When there is a chronic infection this will induce hepatic fibroses and, consequently, there can be an hepatic decompensation and death. The chronic infection can be associated to extra-hepatic manifestations, being neurologic the most important ones. There can be also renal, hematologic and other extra-hepatic manifestations. The diagnosis of chronic infection is done by searching ribonucleic acid of the virus, and it is defined as chronic when it lasts for at least 3-6 months.

It was also concluded that there is no therapy with indication for the Hepatitis E Virus. In the cases of acute infection there is no need for therapy since it resolves spontaneously, except in immunosuppressed patients, or in some specific cases. In chronic infection in immunosuppressed patients, the initial therapy is lowering the immunosuppressive therapy. In case of failure of this strategy it is indicated to start therapy with ribavirin for at least 3 months. In Portugal there are no prevention or screening strategies for the infection by Hepatitis E Virus in the immunosuppressed population. Some European countries have started prevention measures with the screening of blood components. In China, there is a vaccine against the genotype 1 of the virus, which has a low prevalence in Portugal.

Key Words

Hepatitis E Virus; Immunosuppressed; Chronic Infection;

4. Introdução

A Hepatite E é uma causa significativa de morbidade e mortalidade a nível mundial. O Vírus da Hepatite E (VHE) foi descoberto nos anos 80 durante uma campanha militar soviética no Afeganistão. Ao longo da última década a sua incidência e prevalência aumentou em bastantes países desenvolvidos o que levou à realização de estudos que permitiram conhecer melhor a história da infeção por VHE.¹⁻⁴ De acordo com a Organização Mundial de Saúde a infeção por VHE é uma das causas mais comuns de hepatite; estima-se que cerca de 2,3 mil milhões de pessoas já foram infetadas e morrem anualmente 70 mil pessoas devido à infeção por VHE.⁵ A infeção por VHE muitas vezes não é diagnosticada, ou por ser uma infeção assintomática, ou quando perante um quadro clínico de hepatite não são realizados testes diagnósticos para VHE, e esta doença acaba por resolver sem necessidade de terapia dirigida.² Há quatro genótipos *major* de VHE que infetam humanos, genótipos 1 a 4, que se podem separar em dois grupos conforme as condições socioeconómicas dos países, considerando tratar-se de países em vias de desenvolvimento ou de países desenvolvidos.⁴ Em países em vias de desenvolvimento o VHE é epidémico, normalmente em épocas de cheias, e nestes países os genótipos predominantes são o 1 e 2, sendo estes genótipos exclusivos dos humanos.³ Nos países desenvolvidos é uma infeção autóctone e zoonótica, transmitida aos humanos principalmente por via alimentar, sobretudo através do consumo de produtos derivados dos suínos e de mariscos. O genótipo 3 do VHE é o mais comum nos países desenvolvidos, sendo o genótipo 4 mais raro. Nos países desenvolvidos a maioria das infeções é assintomática, mas pode originar hepatites autolimitadas, comumente em homens com mais de 50 anos.^{3,6} A seroprevalência do VHE em países desenvolvidos varia entre 1 a 50%.⁴

Em doentes imunocomprometidos a infeção por VHE pode levar a uma infeção crónica. Estes casos ocorrem em doentes transplantados, patologias oncológicas ou hematológicas a realizar quimioterapia, doentes infetados por Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) e doentes reumatológicos com elevada imunossupressão.^{4,7}

A infeção por VHE, tanto a aguda como a crónica pode levar a manifestações extra-hepáticas, a nível neurológico, renal, hematológico e outros com menor expressão.^{1,7}

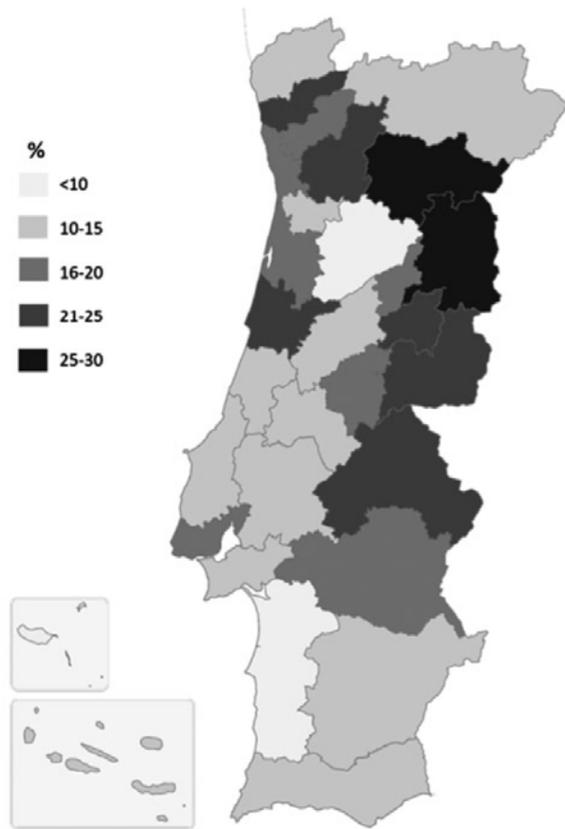
Em estudos realizados em Portugal calcularam-se taxas médias de seroprevalência para o VHE que variaram entre 9 e 16,3%, sendo estes resultados substancialmente superiores ao esperado face ao número de casos clínicos de VHE reportados.^{8,9}; a discrepância entre os resultados dos estudos deve-se, entre outros fatores, à metodologia utilizada, tendo sido usadas diferentes técnicas de imunoensaio, respetivamente o *recomWell HEV IgG Mokrogen 2012* e o *recomWell HEV IgG 2015*.^{8,9} A seroprevalência do VHE em Portugal difere

significativamente consoante a região geográfica, com aparente predomínio nas zonas rurais (Figura 1).

Um estudo realizado no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC) com o objetivo de avaliar a prevalência de infeção por VHE em recetores de transplante hepático determinou uma prevalência de 8,7% para infeção por VHE. Concluiu também que apesar de um valor relativamente baixo existe um risco significativo para esta população por estar infetada por VHE, recomendando o rastreio desta infeção.¹⁰

Ao longo deste trabalho pretendo realçar a importância de ter em conta o diagnóstico de VHE nos casos de hepatites, que até há pouco tempo era uma causa desvalorizada. Dadas as consequências graves que esta infeção pode ter em doentes imunossuprimidos, vou abordar especialmente as manifestações clínicas, os métodos de diagnóstico e os tratamentos disponíveis. É também importante avaliar a necessidade de realizar testes serológicos para a deteção de VHE em doações de sangue ou transplantes de órgãos, e ainda quais as medidas de prevenção disponíveis para evitar a infeção por VHE. Por fim, farei uma comparação do panorama português com outros países Europeus.

Figura 1 – Seroprevalência de IgG anti-VHE em Portugal por região (retirado de)⁸



5. Materiais e Métodos

A pesquisa da literatura científica foi realizada a partir da base de dados PubMed. A seleção da pesquisa foi feita com base na língua, neste caso o Inglês, e o ano da publicação do artigo, apenas tendo sido selecionados artigos publicados a partir do ano de 2013. As palavras-chaves (*MeSH terms*) utilizadas na pesquisa foram “*Hepatitis E*”, “*Hepatitis E Virus*” e “*Immunocompromised Host*”.

6. Descrição

6.1 Biologia molecular do VHE

VHE é um pequeno vírus não-encapsulado com 27-34nm que pertence ao gênero *Orthohepevirus A* da família *Hepeviridae*. É constituído por uma cadeia única de Ácido Ribonucleico (ARN) de sentido positivo. A região de codificação é precedida por uma Região Não Codificante (RNC) de 25 nucleótidos, seguida por outra RNC de 65-74 nucleótidos e uma cadeia de poly A. A região de codificação consiste em três Fases de Leitura Aberta (FLAs) (em inglês, *Open Reading Frames*): FLA1, FLA2 e FLA3.^{1,11,12}

A FLA1 que se inicia imediatamente após a extremidade 5', codifica uma Proteína Não Estrutural (PNE) responsável pela replicação do vírus e o processamento de proteínas. A PNE contém vários domínios funcionais, incluindo uma metiltransferase, um domínio Y, uma Cisteína Protease Tipo Papaína (CPP), uma helicase e uma ARN-polimerase dependente de ARN. Contém também uma Região Hipervariável (RHV) cuja sequência e comprimento varia nas diferentes estirpes do VHE, que parece interagir com as proteínas celulares do hospedeiro, ajudando à persistência viral. A função da helicase, da ARN-polimerase e da metiltransferase já foi estudada, no entanto, ainda não é bem conhecida a função da CPP, do domínio Y e da RHV. Estudos levam a crer que o domínio CPP pode prevenir a degradação pelo proteossoma de proteínas selecionadas, especialmente as necessárias para a replicação do ARN.¹¹

A FLA2 codifica uma cápside que contém 3 locais (designados S, P1 e P2) que são importantes para a infecção viral. A cápside encontra-se no citoplasma e retículo endoplasmático, interage com várias proteínas do hospedeiro, havendo algumas que facilitam a entrada do vírus na célula.¹¹

A FLA3 codifica uma fosfoproteína multifuncional, que ajuda à replicação e síntese do citoesqueleto e frações membranares, importantes para a libertação viral. Adicionalmente, a proteína codificada, tem um papel regulador do hospedeiro durante a infecção interagindo com múltiplas moléculas de sinalização celular, afetando a sobrevivência celular e as funções

imunomoduladoras. Este elevado número de interações da FLA3 significa que há várias possibilidades para o desenvolvimento de fármacos antivíricos para a infeção por VHE.¹¹

6.2 Genótipos 1 e 2

Estes genótipos, restritos aos humanos, são endémicos em países em vias de desenvolvimento, com fracas condições sanitárias, surgindo surtos do vírus nas épocas de cheias. Nestes genótipos é comum surgirem surtos esporádicos intercalados por epidemias que afetam dezenas a milhares de pessoas. A sua principal forma de transmissão é a via fecal-oral e a sua apresentação é indistinguível das outras causas de hepatite vírica aguda. O genótipo 1 é uma causa comum de hepatite aguda em países da Ásia central e do sul, particularmente na Índia, e também no norte de África, enquanto que o genótipo 2 é mais prevalente na América central e na região oeste de África. O seu padrão de propagação é endémico e esporádico, sendo mais comum surgir em adolescentes e jovens adultos. A maior mortalidade ocorre em mulheres grávidas.^{1,13,14}

As manifestações clínicas podem variar desde uma hepatite assintomática ou subclínica a uma hepatite fulminante, que surgem 2 a 6 semanas após a infeção; normalmente é uma doença autolimitada, sem evolução para cirrose.¹⁵ A maioria das infeções é assintomática, sendo os sintomas inespecíficos, como anorexia, náuseas, fadiga, mialgia e icterícia, desaparecendo espontaneamente após 4-6 semanas. As análises revelam elevação dos níveis de bilirrubina e das enzimas hepáticas.¹⁴ Estes genótipos não evoluem para infeções crónicas, no entanto, foi reportado um caso em *New Delhi*, na Índia, de uma criança de 13 anos curada de uma leucemia aguda cuja infeção pelo genótipo 1 evoluiu para uma infeção crónica.¹⁶

Os achados histológicos no caso de uma hepatite aguda causada por VHE genótipo 1 ou 2 são semelhantes aos de uma hepatite causada por Vírus da Hepatite A (VHA), podendo assumir dois padrões diferentes: padrão inflamatório e o padrão colestático.¹⁵ Em viajantes que regressem de áreas endémicas com quadro de hepatite é recomendado despistar a infeção pelos genótipos 1 e 2 de VHE.¹

A sua mortalidade é mais elevada em crianças com menos de 2 anos e em mulheres grávidas, população em que pode atingir valores entre 10-25%, sendo causada por hepatite fulminante ou complicações obstétricas, particularmente no terceiro trimestre.¹⁵ A *European Association for the Study of the Liver* (EASL) recomenda que grávidas com infeção por VHE genótipo 1 ou 2 sejam cuidadas em unidades de cuidados diferenciados e em caso de insuficiência hepática sejam transferidas para uma unidade de transplantação.¹

6.3 Genótipos 3 e 4

Os genótipos 3 e 4 de VHE afetam tanto humanos como animais, sendo consideradas estirpes zoonóticas. Alguns dos reservatórios animais conhecidos são os porcos, veados e javalis. Foi provado através de estudos que o consumo destas carnes cruas são um fator de risco para a infecção por VHE. Alguns dos alimentos através dos quais há transmissão da infecção incluem o fígado e salsichas de porco.¹⁴ O genótipo 4 do VHE ocorre majoritariamente no sudeste asiático, particularmente na China, enquanto que o genótipo 3 é o principalmente encontrado nos países mais desenvolvidos, como os Estados Unidos da América e os países Europeus. Nos países desenvolvidos a infecção por VHE é mais comum em homens de média idade e idosos.^{13,14,17} Na Inglaterra os genótipos 3 e 4 atingem 3 homens por cada mulher e a idade média é 63 anos. Isto leva a crer que a infecção depende mais de fatores do hospedeiro do que da exposição, uma vez que indivíduos de todas as idades são expostos ao VHE.¹ A existência de reservatórios animais tem elevada importância na prática clínica, uma vez que perante doentes com hepatites agudas deve ser questionado se houve ingestão de carnes cruas ou contacto com suínos.

As transfusões sanguíneas também são uma potencial via de transmissão.¹⁷ Um estudo realizado na Suécia e Alemanha para avaliar a presença de VHE em doações de plasma revelou uma prevalência de 1:7986 na Suécia e de 1:4525 na Alemanha, estando sempre implicado o genótipo 3 de VHE, o que representa um valor a ter em conta. Outro estudo realizado no sudeste de Inglaterra revelou uma prevalência de 1:2848, também para o genótipo 3.¹⁸ Uma meta-análise com base em 73 estudos de 11 diferentes países europeus revelou uma seroprevalência para o genótipo 3 a nível europeu entre 0,6-52,5%.¹⁹ Estudos realizados nos Estados Unidos da América para determinar a seroprevalência de VHE mostraram resultados bastante divergentes, com resultados que evidenciavam uma seroprevalência entre 1-2% enquanto que outros resultados estimavam valores entre 21-25%; esta divergência será devido à sensibilidade dos testes usados. No sudoeste de França o genótipo 3 de VHE tem elevada prevalência, e com um teste de alta sensibilidade verificou-se um seropositividade em 52% dos doadores de sangue. Outro estudo realizado na Holanda estimou uma seropositividade em doadores de sangue de 26,7%.²⁰ Em 2014/2015 verificou-se um aumento do número de casos de infecção por VHE em países Europeus como França, Alemanha, Inglaterra, País de Gales, Holanda, Finlândia, Hungria e Itália, ultrapassando o número de casos de hepatite A, sendo predominantemente associados ao genótipo 3, exceto para um pequeno número de casos em França e Itália associados ao genótipo 4.²¹ A elevada seroprevalência para VHE sugere que a infecção assintomática por VHE seja bastante comum.²⁰ Em virtude deste crescimento do número de casos por VHE a EASL recomenda, com nível de evidência A1, testar para VHE todos os doentes com sintomas de hepatite aguda.¹

O transplante de órgãos também é uma via de transmissão para os genótipos 3 e 4 do VHE, tendo já sido reportados casos de transmissão por transplante hepático e transplante renal.¹⁴

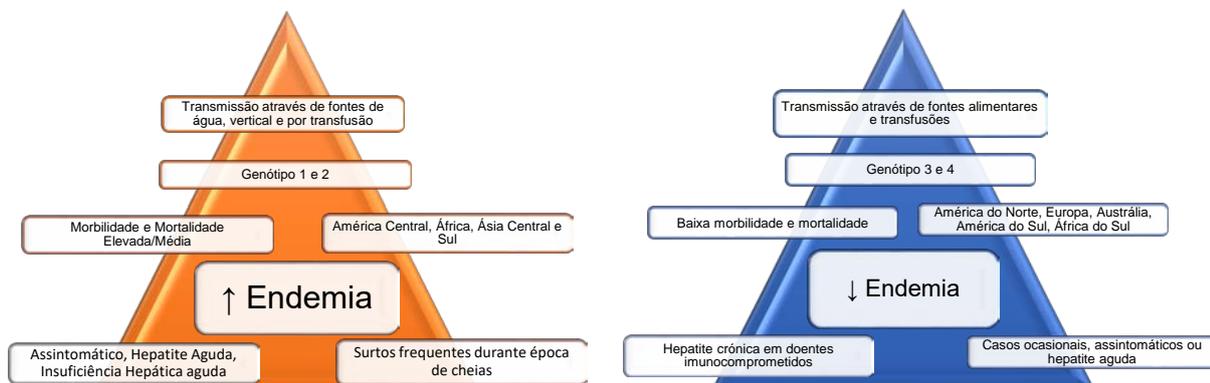
Não foram demonstrados casos de infecção por VHE através do uso de produtos médicos com origem suína, como a heparina, a insulina e os fatores de coagulação.¹⁷

A transmissão dos genótipos 3 e 4 de VHE ocorre de forma autóctone, e a infecção tem um período de incubação de aproximadamente 40 dias, variando entre 2 a 10 semanas. Em doentes imunossuprimidos que receberam transfusões de sangue com VHE o período de incubação para o genótipo três é 50 a 60 dias. A virémia é transitória, sendo positiva maioritariamente durante a fase pré-ictérica e desaparece no início dos sintomas, o seu pico é atingido entre a fase de incubação e o início da fase aguda da doença. O vírus é excretado por via fecal antes de surgir a icterícia, e continua a ser excretado durante 2 a 3 semanas, podendo ser detetado o ARN de VHE nas fezes e sangue antes de surgirem os sintomas. O ARN de VHE desaparece inicialmente do sangue, continuando a estar presente nas fezes até duas semanas após. Os sintomas da fase aguda são autolimitados, indistinguíveis de outras hepatites virais e muitas vezes mal interpretados como lesão hepática induzida por drogas. O sintoma mais comum é a icterícia, que pode durar 2 a 4 semanas. Outros sintomas incluem a febre, astenia, náuseas e vômitos, dor abdominal e articular.^{13,14}

A infecção por genótipo 3 é na maioria das vezes silenciosa, dado que apenas cerca de 5% apresenta sintomas de hepatite aguda com elevação das enzimas hepáticas, icterícia e outros sintomas não específicos. A monitorização da função hepáticas é suficiente para controlar uma hepatite aguda causada por VHE. Nos casos de hepatite sintomática causada por VHE há evidências sugestivas de que existe uma correlação com fibrose ou esteatose hepática subclínica. Em doentes com doença hepática crónica, a hepatite aguda causada por VHE é uma preocupação, uma vez que pode levar a uma descompensação com insuficiência aguda hepática, principalmente em doentes idosos, nos quais pode ser mais severa.¹ No entanto um estudo realizado no Hospital Universitário de Essen, na Alemanha, concluiu que aproximadamente 10 a 15% dos doentes que sofreram insuficiência hepática aguda tinham evidência de infecção por VHE.²² Após curada a infecção os indivíduos desenvolvem uma imunidade incompleta. Nestes casos a probabilidade de uma reinfeção por VHE originar uma hepatite sintomática é menor.¹

A distintas características epidemiológicas dos 4 genótipos de VHE estão graficamente resumidas na Figura 2.

Figura 2 – Características dos dois padrões epidemiológicos da infecção por VHE (adaptado de)⁵



6.4 A infecção por VHE em doentes imunossuprimidos

Dos doentes imunossuprimidos que contraem uma infecção aguda por VHE, cerca de 47-83% irão desenvolver uma infecção crónica. A reinfeção por VHE em doentes imunocomprometidos também pode culminar em infecção crónica.²³ A cronicidade da infecção em doentes imunossuprimidos pode ser explicada pela fraca reconstituição imune, nomeadamente por a recuperação de linfócitos ser insuficiente.²³

Um estudo realizado num hospital em Barcelona concluiu que há maior prevalência de VHE em indivíduos que realizaram transplante, sendo os resultados obtidos neste estudo para a prevalência de VHE de 3,5% na população de controlo, 3,7% nos que realizaram transplante renal e 7,4% nos transplantados hepáticos.²⁴

Estudos realizados para avaliar a prevalência de VHE em indivíduos infetados por VIH obtiveram diferentes resultados; apesar de na maioria dos estudos não haver comparação direta, verifica-se que há uma maior prevalência de VHE nos indivíduos infetados por VIH.. Estudos que utilizaram a seroprevalência de IgG anti-VHE obtiveram resultados entre 1-45%, mas nos países europeus a prevalência não excede os 26%.²⁵ Os estudos realizados para avaliar a presença de VHE nesta populações têm várias limitações tais como populações pequenas e diferentes métodos de diagnóstico, o que pode levar a discrepância de resultados.²⁵ Na Argentina verificou-se uma prevalência de 6,6% de infetados por VHE em doentes infetados por VIH, que é um valor superior ao observado em doações de sangue (1,8%). Outros estudos para determinar a prevalência de VHE em doentes infetados por VIH obtiveram os seguintes resultados: nos EUA 3%, na Holanda 3,8%, na Alemanha 4,9%, no Reino Unido 9,4% e na Rússia 11%.²⁰ Um estudo realizado na Polónia verificou que não havia

diferença neste grupo para a população em geral.²⁶ Um estudo em Barcelona obteve uma seroprevalência de 9,2%, bastante superior ao da população controle que foi de 3,5%.²⁴ Os indivíduos infetados por VIH e com uma contagem baixa de linfócitos T CD4+ podem ser considerados um grupo de risco para infeção por VHE.²⁵

Um estudo realizado na Holanda para avaliar se há maior risco de contrair uma infeção por VHE em grupos sexuais de risco concluiu que a seroprevalência era significativamente superior em indivíduos com candidíase e/ou blenorragia, e também verificou que há maior prevalência em indivíduos que praticam sexo anal, em homens que praticam sexo com homens, nos que tiveram três ou mais parceiros nos últimos seis meses e naqueles com sífilis. Neste mesmo estudo a seroprevalência para VHE em indivíduos infetados por VIH era de 16,2% enquanto que em VIH negativos era de 11,7%.²⁷

Uma meta-análise com base em 15 estudos diferentes para avaliar a prevalência de VHE em indivíduos que realizam hemodiálise concluiu que neste grupo a prevalência de VHE é superior 6% em relação à população em geral.²⁸ Um estudo realizado num hospital de Córdoba, Argentina, entre novembro de 2014 e novembro de 2017, para avaliar a prevalência de VHE em indivíduos que realizaram hemodiálise incluiu 76 indivíduos que eram negativos para IgG e IgM anti-VHE e VHE ARN negativos. Durante o estudo 9,6% dos indivíduos tiveram seroconversão da IgG anti-VHE, 3 dos quais durante o estudo voltaram a ser IgG negativos. Nenhum destes indivíduos demonstrou IgM anti-VHE positivo nem ARN VHE positivo. Estas variações da serologia podem ser devido à incapacidade do sistema imune destes indivíduos em manter uma memória imune ou não serem capazes de produzir títulos de IgG suficientes.²⁹ Os indivíduos que realizam hemodiálise são mais suscetíveis para contrair VHE devido à sua imunodeficiência, e também por receberem múltiplas transfusões.²⁸

6.5 Aspetos clínicos da Infeção Crónica

As infeções crónicas apenas são causadas pelos genótipos 3 e 4 e, na grande maioria são devidas ao genótipo 3. Foi registado um caso, anteriormente referido, causado pelo genótipo 1.^{1,30} A infeção crónica por VHE define-se como a persistência da replicação do vírus por mais de 3-6 meses.¹ Apesar de haver estudos que concluem que em doentes que realizaram transplante de órgãos sólidos e foram infetados por VHE, a partir dos 3 meses de infeção não há erradicação espontânea do vírus, há outros estudos que demonstram que neste mesmo grupo de doentes pode haver uma *clearance* espontânea do vírus após os 3 meses de infeção, não se podendo por isso considerar sempre como uma infeção crónica logo partir dos 3 meses.^{31,32}

São considerados fatores de risco para a evolução crónica de uma infeção por VHE o uso de potentes imunossuppressores, como o tacrolimus, em vez de ciclosporina A, uma

contagem de linfócitos T CD4⁺ inferior a 200/mm³ e uma resposta específica de linfócitos T anti-VHE menos marcada.^{1,30}

A apresentação clínica da infecção crônica por VHE é maioritariamente descrita em doentes transplantados, de órgãos sólidos ou células estaminais, surgindo com menor frequência noutros grupos de doentes imunossuprimidos, como infetados por VIH, portadores de doenças hematológicas ou oncológicas, e doentes com elevada imunossupressão como os que têm doenças reumáticas graves.^{1,7} A maioria dos doentes é assintomática, e apenas 5-33% dos doentes são sintomáticos. O sintoma mais comum é a fadiga, e os casos assintomáticos apresentam apenas alterações das provas de função hepática, nomeadamente das transaminases. Um estudo estimou os seguintes valores medianos para as seguintes análises hepáticas: Transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) 260±38 IU/L, Transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO) 155±25 IU/L e Gama-GT 308±56 IU/L. Nesse mesmo estudo verificou-se que nos doentes com valores mais elevados há maior probabilidade de auto-resolução da infecção.^{1,7,30} Nestes doentes as IgG e IgM anti-VHE podem ser negativas, apesar de haver replicação do vírus, dado o estado imunossuprimido dos doentes.¹ A infecção pelo genótipo 3 do VHE pode levar a rápida progressão de fibrose hepática que evolui para cirrose e pode culminar em descompensação hepática e morte. No entanto, a fibrose pode regredir com o tratamento bem sucedido para a infecção viral.^{1,30} A EASL recomenda que se teste a presença de VHE em todos os doentes imunossuprimidos com alterações das provas de função hepáticas não explicadas.¹

Em doentes que realizaram transplantes de órgãos ou de células estaminais a via de transmissão é a mesma que na população geral. Estima-se que a prevalência de doentes que realizaram transplante de órgãos com positividade para o ARN do VHE seja entre 0,9-3,2%. Nos doentes que realizaram transplante de células estaminais a incidência está entre 0-2,4%. Como estes doentes recebem com elevada frequência transfusões sanguíneas este pode ser um meio de transmissão do VHE.⁷ A cronicidade da infecção por VHE ocorre em cerca de dois terços dos doentes transplantados e infetados com este vírus, havendo, no entanto, estudos que obtiveram resultados inferiores a 50%.¹ Cerca de 10% dos doentes que realizaram transplante de órgão desenvolvem cirrose num período de 3 a 5 anos após a infecção primária.⁷ Em doentes transplantados com infecção crônica de VHE há risco de perda do órgão transplantado.¹⁵ Há maior risco de desenvolver hepatite crônica e infecção por VHE em doentes que receberam um transplante hepático quando comparado com outros órgãos.³³

A prevalência de IgG anti-VHE em doentes infetados por VIH varia entre 1,5-11,2%, enquanto que para a presença de ARN de VHE varia entre 0-1,3%. Os sintomas são semelhantes aos encontrados em transplantados, podendo também conduzir à cirrose. A hipótese da transmissão sexual do VHE é controversa.⁷

6.6 Manifestações extra-hepáticas

As manifestações extra-hepáticas do VHE são cada vez mais reconhecidas, e as mais importantes surgem a nível neurológico, mas também podem ocorrer a nível renal, hematológico e outros. Segundo os critérios de Hill há uma forte associação de causalidade entre a infeção por VHE e a amiotrofia neurálgica, a Síndrome de Guillain-Barré (SGB), a glomerulonefrite e algumas doenças hematológicas.^{1,34}

Os mecanismos patogénicos capazes de induzir as manifestações extra-hepáticas ainda são desconhecidos, e tanto podem ter origem numa ação direta do VHE, por lesão tecidular devido à replicação do vírus, como podem ocorrer por mecanismos imunológicos, como sucede noutras infeções. É mais provável que a principal causa das manifestações extra-hepáticas seja através de mecanismos imunomediados. No humano já foi detetada a presença de VHE em células neuronais, líquido cefalorraquidiano, urina, leite e na placenta. Em porcos detetou-se VHE no intestino, gânglios linfáticos, amígdalas, baço e rins.³⁴

A maioria dos casos documentados de manifestações neurológicas ocorreram em doentes imunocompetentes, mas também podem surgir em doentes com infeção crónica. A maior parte das vezes estas manifestações estão associadas ao genótipo 1 ou 3 do VHE.^{1,7} Um estudo retrospectivo com doentes imunocompetentes e doentes transplantados com infeção por VHE identificou uma incidência de sintomas neurológicos de 5,5%.⁷ Nos doentes com amiotrofia neurálgica associada a VHE existe um fenótipo clínico distinto dos restantes, no qual há uma maior probabilidade do envolvimento ser bilateral, e a lesão causada a nível do plexo braquial ser mais extensa. Há também com maior frequência lesões fora do plexo braquial, particularmente a envolver o nervo frénico.¹ A tríade de omalgia bilateral com alterações das provas de função hepática num homem de meia idade é altamente preditiva de amiotrofia neurálgica devido a infeção por VHE.^{1,35} A SGB é uma alteração tipicamente pós-infecciosa, havendo lesão das raízes nervosas e dos nervos periféricos com perda de sensibilidade e da força. Estudos realizados no Japão, Bangladesh e Holanda concluíram que nos casos de SGB, em 5-11% dos doentes havia evidência de infeção por VHE na fase inicial dos sintomas neurológicos; nestes doentes o prognóstico é semelhante aos casos não associados a infeção por VHE.^{1,34} Em doentes com infeção crónica por VHE registaram-se casos de encefalites ou mielites, com mau prognóstico e sequelas neurológicas a longo prazo. Nos casos de infeção por VHE associados a lesões neurológicas, a maioria dos doentes não se encontrava icterico, e apenas apresentavam alterações moderadas das funções hepáticas. É importante realizar estudos que comprovem o benefício em testar para a infeção por VHE em doentes com amiotrofia neurálgica e SGB, sendo que a EASL já recomendada fortemente realizar estes testes.¹

A nível renal a infeção por VHE pode originar uma glomerulonefrite, tanto em doentes imunocompetentes como em imunossuprimidos. Nos doentes imunocomprometidos uma

infecção aguda por VHE pode levar a uma insuficiência renal. Casos de glomerulonefrites membranoproliferativas ou membranosas surgem maioritariamente em doentes com infecção crónica por VHE genótipo 3. Quando há alterações da função renal associada ao VHE, os valores da função renal e a proteinúria tendem a normalizar com a *clearance* do vírus, o que sugere a existência de uma relação causal entre o vírus e a patologia renal.¹ Um estudo retrospectivo verificou que em doentes transplantados, na fase aguda da infecção por VHE genótipo 3, há uma diminuição da taxa de filtração glomerular.⁷ Em doentes imunossuprimidos que desenvolvem glomerulonefrite deve ser considerada a possibilidade de infecção por VHE, especialmente se houver elevação das transaminases.³⁴

A crioglobulinémia é uma condição que pode originar múltiplos sintomas devido a imunoglobulinas que se tornam insolúveis a baixas temperaturas, lesando vasos em vários tecidos. Está frequentemente associada a doença renal, e também surge noutras patologias, como por exemplo na infecção por Vírus da Hepatite C (VHC), que é reconhecida como uma causa principal de crioglobulinémia mista.³⁴ Nos doentes com infecção crónica por VHE surgiram casos de crioglobulinemia, que resolveram com terapia antiviral. A crioglobulinemia pode estar associada a mialgia, artralgia e *rash*.¹

No sudeste asiático verificaram-se casos de pancreatite aguda associada ao genótipo 1 do VHE, não havendo casos documentados relacionados com o genótipo 3 e 4.¹ Os casos de pancreatite aguda associados a hepatites virais são um fenómeno descrito em infeções por vírus das Hepatites A, B e C. Caracteristicamente a pancreatite aguda após infecção por VHE surge em adultos-jovens, indianos, com dor abdominal, que se manifesta até duas semanas após o aparecimento de icterícia. O tempo de internamento hospitalar médio destes casos é de 9 dias e resolve na maioria das vezes com tratamento de suporte. A pancreatite aguda deve ser considerada em doentes com hepatite aguda por VHE que desenvolvem quadro de dor abdominal aguda, assim como a infecção por VHE deve ser considerada como uma etiologia possível para a pancreatite aguda em regiões onde o genótipo 1 é endémico.³⁴ As manifestações hematológicas incluem trombocitopenia, gamapatia monoclonal de significado indeterminado e anemia hemolítica.³⁴ Casos de trombocitopenia severa foram associados a infeções por VHE genótipo 1 e 3.¹

Outras manifestações extra-hepáticas descritas incluem miocardite, tiroidite, púrpura de Henoch-Schönlein e miastenia grave. No entanto, ainda não foi estabelecida uma relação causal definitiva entre a infecção por VHE e estas manifestações.¹

6.7 Métodos de Diagnóstico

O diagnóstico de infeção por VHE pode ser feito de forma direta, através de análise molecular com pesquisa de ARN de VHE ou da pesquisa de antígenos, ou de forma indireta através da pesquisa de anticorpos.^{1,15}

A análise molecular baseia-se na pesquisa de ARN de VHE nas fezes, sangue, bÍlis, plasma, ou biÓpsia hepática e, quando presente, é sinal de infeção, sendo que este teste é o *gold-standard* para a confirmação de diagnóstico^{1,20}. No CHUC a pesquisa é feita através de amostras de sangue. A deteção de ARN é possível antes de surgirem os sintomas, e mantém-se detetável por 4 a 6 semanas, desaparecendo primeiro no sangue e só posteriormente nas fezes.¹ A sensibilidade dos testes depende da apresentação inicial do doente e da data da recolha da amostra, podendo assim haver falsos-negativos.²⁰ Em doentes imunocomprometidos a pesquisa de ARN de VHE é feita para diagnosticar a infeção e também para avaliar a resposta ao tratamento antiviral, avaliando a carga viral; nestes doentes também se justifica o recurso ao diagnóstico molecular porque os testes serológicos muitas vezes apresentam resultados falsos negativos.^{1,36} A maioria dos testes para detetar ARN são desenhados para detetar uma região do ARN do VHE altamente conservada entre os diferentes genÓtipos, permitindo assim detetar VHE dos 4 diferentes genÓtipos que afetam o humano. No entanto, por vezes, existem polimorfismos desta região que podem dar origem a falsos-negativos.¹ O ARN é um importante marcador de infeção aguda por VHE, especialmente em estadios iniciais, uma vez que a resposta por anticorpos ainda não se tornou evidente, podendo nestes casos os testes serológicos apresentar falsos-negativos.³⁶ Para determinar o genÓtipo do VHE é feita uma sequenciação do genoma.¹ A pesquisa de ARN é particularmente importante para definir os casos de infeção crónica e em doentes imunocomprometidos, uma vez que nestes casos a avaliação da resposta imune do hospedeiro não é suficiente.¹⁵

Os testes para determinação de anticorpos baseiam-se na deteção de IgG e IgM anti-VHE. O diagnóstico serológico de uma infeção aguda depende da deteção de IgM e títulos crescentes de IgG. Para detetar infeções prévias é pesquisada apenas a IgG anti-VHE.¹

A pesquisa de antígenos pode ser utilizada para diagnosticar infeções agudas ou crónicas. Os níveis de antígeno VHE em doentes com infeção crónica são mais elevados que na infeção aguda. Estes testes não são bons para avaliar a resposta à terapêutica uma vez que os níveis de antígenos podem persistir por vários meses mesmo após uma *clearance* do ARN de VHE numa hepatite crónica.¹ Um estudo realizado no Reino Unido, para comparar a utilidade diagnóstica entre um teste ELISA que pesquisa o antígeno específico do VHE e os testes moleculares, para confirmar o diagnóstico de VHE numa população de transplantados hepáticos, concluiu que o ELISA é um teste com elevada especificidade (98.2%), e que esta

é uma alternativa mais barata para o rastreio de infeção por VHE, a usar nomeadamente em locais onde o recurso às técnicas moleculares é proibitivo.

A imunohistoquímica é usada para o diagnóstico histopatológico de hepatite por VHE, através da pesquisa da proteína codificada pelo FLA2.¹

É recomendado pela EASL o uso concomitante de testes moleculares e testes serológicos para o diagnóstico de hepatite por VHE, aguda ou crónica.¹

A histopatologia da infeção aguda por genótipo 3 do VHE é igual à de uma hepatite clássica, com inflamação lobular e portal, no entanto há algumas diferenças conforme o contexto clínico. Em doentes imunocompetentes observa-se uma desorganização lobular significativa, com degeneração de hepatócitos em balão e ocasionalmente formações em roseta e necrose irregular, podendo, por vezes, esta necrose ser central e portal. Os ductos portais encontram-se expandidos por proliferação dos ductos biliares e pela presença de um infiltrado inflamatório composto por linfócitos, células plasmáticas, histiócitos e polimorfonucleares com eosinófilos e neutrófilos. Não há presença de fibrose. Em doentes imunocomprometidos que receberam órgãos transplantados observa-se uma inflamação moderada dos lóbulos e portal. A inflamação lobular apresenta necrose irregular, corpos acidófilos, a dilatação dos ductos portais é moderada e o infiltrado inflamatório é maioritariamente constituído por linfócitos. Nestes doentes não há hepatócitos em balão, nem desorganização ou colestase lobular, o que é indicador de menor extensão da lesão.¹⁵

Em doentes com cirrose pré-existente os achados histopatológicos por infeção aguda de VHE não são específicos, podendo ser confundidos com os de uma hepatite alcoólica.¹⁵

O padrão histológico da infeção crónica por VHE sobrepõe-se aos padrões observados nas infeções crónicas por vírus da Hepatite B e C. Observa-se inflamação portal com presença de infiltrados linfocíticos, há um grau de necrose de interface (*piecemeal necrosis*) variável, que consiste maioritariamente em apoptose de células isoladas, sem inflamação significativa e eventualmente alguma fibrose.¹⁵ No caso da insuficiência hepática induzida por drogas, o aspeto histológico desta é semelhante ao da hepatite, podendo ter que ser realizado um teste para deteção de ARN de VHE para fazer o diagnóstico diferencial.³⁷

O diagnóstico da infeção por VHE em doentes imunossuprimidos não é claro, uma vez que há uma ausência de sinais e sintomas típicos, tais como, mal-estar, icterícia e alterações marcadas das enzimas hepáticas. Uma vez que há elevada probabilidade de um doente imunossuprimido infetado por VHE desenvolver uma infeção crónica é importante testar esta população.³³

Um estudo realizado recentemente em Espanha com o objetivo de comparar a deteção de ARN de VHE na saliva ou no soro e a presença de IgM anti-VHE conclui que a carga vírica de VHE pode ser avaliada através da saliva, sendo um meio de diagnóstico que pode ser usado com maior amplitude para detetar a presença de infeção por VHE.³⁸

Em Toulouse, França, realizou-se um estudo para avaliar a viabilidade de um teste rápido IgM anti-VHE no sangue para detetar a infeção por VHE em doentes imunocompetentes e imunocomprometidos. Este estudo englobou 30 doentes imunocompetentes e 30 doentes imunossuprimidos e teste designa-se *Wantai Rapid*, que se baseia numa técnica imunocromatográfica. Os resultados obtidos mostraram uma especificidade de 100%, sensibilidade de 90% em doentes imunocompetentes e 73.3% em doentes imunossuprimidos. Apesar da sensibilidade do teste não ser a melhor, estes testes não requerem laboratórios especializados, o que é uma vantagem, podendo também ser útil para avaliar as doações de sangue para a presença de vírus.³⁹

Resume-se na Figura 3 e nas Tabelas I e II os principais aspetos anteriormente discutidos que se reportam ao diagnóstico da infeção por VHE.

Figura 3 – algoritmo diagnóstico para infeção por VHE (retirado de)¹

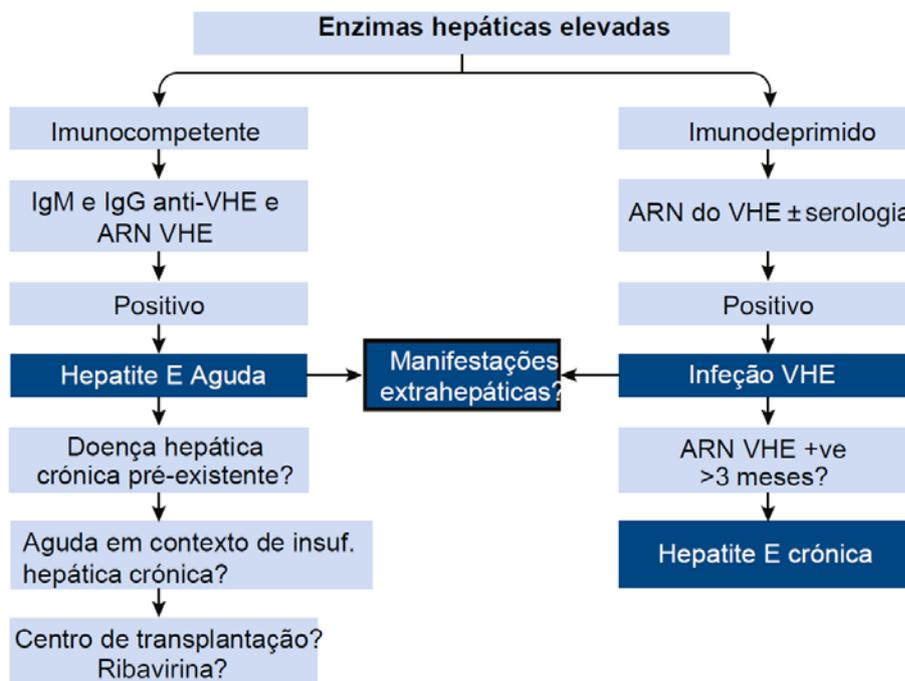


Tabela I – Principais características histológicas da infecção por VHE e diagnósticos diferenciais mais relevantes com base nas características histológicas (adaptado de)¹⁵

	Características Histológicas	Diagnóstico Diferencial
Insuficiência Hepática Fulminante	<ul style="list-style-type: none"> - Necrose panlobular; - Colapso do parênquima - Colestase 	<ul style="list-style-type: none"> - Lesão hepática induzida por drogas, toxinas; - Infecção por vírus hepatotrópicos não E (e.g. VHB) ou por vírus não-hepatotrópicos (e.g. Adenovírus); - Hepatite Auto-imune; - Alterações metabólicas (e.g. Doença de Wilson).
Hepatite E Aguda	<ul style="list-style-type: none"> - Inflamação mista portal e lobular, com atividade de interface (linfócitos, plasmócitos, histiócitos, neutrófilos e granulócitos eosinófilos); - Desarranjo lobular e maior número de Células de <i>Kupffer</i>; - Hepatócitos em balão e formações de pseudo-rosetas; - Grau variável de necrose de hepatócitos; - Colangite e proliferação ductal; - Colestase hepatocítica e intracanalicular; 	<ul style="list-style-type: none"> - Infecção por vírus hepatotrópicos não E (e.g. VHB) ou por vírus não-hepatotrópicos (e.g. Adenovírus); - Hepatite Auto-imune - Lesão hepática induzida por drogas, toxinas;
Hepatite E Crônica	<ul style="list-style-type: none"> - Inflamação mononuclear portal, predominantemente linfócitos, com baixa/nenhuma necrose de interface; - Apoptose de hepatócitos isolados e dispersa; - Desenvolvimento de fibrose. 	<ul style="list-style-type: none"> - Infecção por vírus hepatotrópicos não E (e.g. VHB); - Em doentes que realizaram transplante hepático: rejeição, recorrência da infecção viral primária;

Tabela II – Diagnóstico laboratorial de infecção por VHE (retirado de)¹.

Estado da infecção	Marcadores Positivos
Infeção corrente – aguda	ARN de VHE ARN de VHE + IgM anti-VHE ARN de VHE + IgG anti-VHE ARN de VHE + IgM anti-VHE + IgG anti-VHE IgM anti-VHE + IgG anti-VHE (a subir) Ag VHE
Infeção corrente – crónica	ARN de VHE (± anti-VHE) ≥ 3 meses Ag VHE
Infeção prévia	IgG anti-VHE

Nota: Doentes com re-infecção são tipicamente IgM anti-VHE negativo, mas IgG e ARN positivos.

Ag - Antígeno;

6.8 Tratamento

A infecção aguda na maioria dos casos resolve-se espontaneamente sem necessidade de tratamento. No entanto, nalguns casos pode evoluir para insuficiência hepática, o que levanta a questão da necessidade de se iniciar tratamento nestes casos. O tratamento numa fase inicial diminui o curso da doença e das morbilidades associadas. O tratamento com ribavirina (RBV) na hepatite aguda está associado a uma rápida normalização das enzimas hepáticas e o ARN de VHE torna-se indetetável após poucos dias.¹ Em casos de insuficiência hepática aguda que mais tarde se veio a descobrir terem sido causados por VHE e cujo tratamento foi feito com corticosteroides, verificou-se uma melhoria dos parâmetros hepáticos. No entanto, não há evidência suficiente para suportar o tratamento com corticosteroides.¹ A *guideline* britânica recomenda que doentes cirróticos em lista de espera para transplante e que desenvolvam infecção por VHE, sejam tratados com RBV. Nestes casos a infecção por VHE pode precipitar uma insuficiência hepática aguda com uma mortalidade de cerca de 50% a 3 meses.⁴

Atualmente não existe nenhum tratamento antiviral específico nem licenciado para a infecção crónica por VHE. Apesar disso existem 3 opções terapêuticas possíveis: redução da imunossupressão nos doentes transplantados, administração de interferão peguilhado e a RBV.⁴⁰

Nos doentes que realizaram transplante de órgãos e têm infecção crónica por VHE verificou-se que nos que realizam imunossupressão com doses inferiores de tacrolimus e corticosteroides pode haver uma resolução espontânea da infecção. Esta constatação permitiu inferir que uma diminuição da terapia imunossupressora, nomeadamente dos fármacos cujo alvo são os linfócitos, pode ser uma abordagem inicial para o tratamento da infecção crónica por VHE nestes doentes. Esta abordagem tem sucesso em aproximadamente um terço dos doentes transplantados.¹ É importante ter em conta que a modificação da terapia de imunossupressão pode precipitar uma rejeição de órgão em indivíduos mais imunogénicos,

por isso o risco de rejeição versus benefício potencial deve ser bem avaliado.⁴ Para a Sociedade Britânica de Transplantes Hepáticos nos casos em que a infecção por VHE está associada a hepatite aguda, com icterícia ou coagulopatia, ou manifestações extra-hepáticas, a abordagem inicial passa por tratar imediatamente com RBV.⁴

Estudos *in vitro* demonstraram que o uso de inibidores da mTOR, uma classe de imunossuppressores, estimulam a replicação do VHE, enquanto que o micofenolato tem efeitos supressivos no VHE, havendo estudos que mostram que o uso deste imunossupressor está associado a menor risco de desenvolver infecção crônica por VHE.¹ Também foi demonstrado *in vitro* que os inibidores da calcineurina são potenciadores da replicação de VHE. No entanto *in vivo* não está esclarecido o seu efeito, podendo o Tacrolimus estar associado à persistência do vírus e a ciclosporina estar associada a um aumento da replicação de VHE dose-dependente. Um estudo concluiu que os doentes tratados com ciclosporina têm maior probabilidade de ter uma *clearance* viral espontânea do que os tratados com Tacrolimus.⁴ Sumariando, há evidência de que inibidores da calcineurina e inibidores mTOR contribuem para a replicação de VHE nos hepatócitos e para o desenvolvimento de cronicidade por VHE, enquanto que os corticosteroides não têm efeito sobre o vírus.⁴

A utilização de interferão- α peguilhado teve sucesso na erradicação do vírus em casos de doentes que realizaram transplante hepático ou hemodiálise, após tratamento com duração de três meses.¹ Um estudo de revisão sistemática com base em 8 doentes tratados com interferão em monoterapia concluiu que apenas dois obtiveram uma *clearance* viral superior a 6 meses, o que não é um resultado muito favorável; neste mesmo estudo dois doentes tiveram rejeição aguda de órgão e outros dois leucopenia ou trombocitopenia.⁴¹ Este tratamento está contraindicado em transplantados cardíacos, renais e pulmonares, por estimular o sistema imune e aumentar o risco de rejeição.¹ Esta terapêutica deve ser considerada em casos refratários à RBV, nomeadamente nos casos de mutações que induzem resistência. Quando aplicada deve ser feita uma vigilância apertada para monitorizar a possibilidade de rejeição de órgão.⁴

Para os casos de infecção crônica por VHE em doentes transplantados a terapia mais estudada e mais utilizada é a monoterapia com RBV, sendo esta a terapia de escolha. Vários estudos de pequenas séries demonstram que há uma Resposta Viral Sustentada (RVS) após 3 meses de tratamento, com dose média de 600mg/dia, variando a dose entre 200-1200mg/dia.^{1,4} Em doentes que não têm resposta ou em que há uma recaída, pode ser prolongado o tratamento. Os efeitos secundários da RBV incluem anemia hemolítica dose-dependente, tosse seca e reações cutâneas. Os fatores de risco para o desenvolvimento de anemia são idade avançada, sexo feminino, baixa contagem plaquetar e baixo peso. A anemia pode ser tratada com epoiatina ou transfusões. Nos doentes que iniciam RBV a hemoglobina deve ser monitorizada inicialmente de 2 em 2 semanas, até ser atingido um nadir e depois

avaliar mensalmente; quando há declínio da hemoglobina este é observado nos primeiros dias, estabilizando após 4 semanas de tratamento. Quando os valores de hemoglobina descem para menos que 10g/dL deve ser reduzida a dose de RBV, e este ajuste é necessário em 28% dos doentes.^{1,4,30} Em doentes com insuficiência renal deve ter-se em conta o ajuste de dose. Muitos destes doentes já têm uma anemia associada, pelo que o ajuste da dose de RBV deve ser feito de acordo com a *clearance* de creatinina e com a hemoglobina.^{1,4} Outros efeitos adversos da RBV incluem alterações de humor, perturbações do sono, neuropatia e diminuição da *clearance* da creatinina.³⁰ Em mulheres em idade fértil não deve ser iniciado o tratamento com RBV até se excluir gravidez, e também não deve ser iniciado o tratamento em homens cuja parceira pretende engravidar.³⁰ Apesar da infeção crónica por VHE só ser certa após 6 meses de infeção, há estudos que demonstram que após 3 meses de infeção raramente há *clearance* espontânea do vírus, e por isso o tratamento deve ser iniciado quando há infeção por mais de 3 meses.⁴

Os mecanismos de ação da RBV não são totalmente conhecidos, mas é sugestivo que a RBV inibe a replicação de VHE esgotando os *pools* de guanosina trifosfato.^{1,30} O tratamento com RBV aplica uma pressão mutagénica no vírus, o que pode levar a um aumento da sua diversidade.³⁰ A sua farmacocinética varia dentro da população transplantada, e a sua *clearance* depende da *clearance* de creatinina.⁴ A RBV é um pro-fármaco, cuja absorção é rápida e cuja biodisponibilidade é de aproximadamente 50% em doses relativamente baixas e que pode ser aumentada com a ingestão concomitante de alimentos. Com o aumento da dose a sua biodisponibilidade diminui devido à saturação dos transportadores. Após absorvida é distribuída para os diferentes compartimentos celulares através de transportadores de nucleosídeos, tendo um elevado volume de distribuição. O seu tempo de semi-vida é de aproximadamente 300 horas, sendo que a sua concentração alvo apenas é atingida após 8 semanas do início do tratamento. A *clearance* total de RBV é 25L/h, 30% da qual é feita por via renal. Apenas quando dentro da célula é que a RBV é fosforilada, tornando-se farmacologicamente ativa. Os metabolitos resultantes não são capazes de passar a membrana, mas podem ser desfosforilados na maioria das células nucleadas por ação da fosfatase alcalina e de nucleotidasas. Nos eritrócitos os metabolitos acumulam-se por não haver enzimas desfosforiladoras.³⁰ Quando usada a RBV para tratar a infeção por VHC verificou-se que fatores como a função renal, ingestão alimentar, idade, peso, IMC, sexo, etnia, resistência à insulina, função renal, co-medicação e modalidade de tratamento têm influencia na farmacocinética e no efeito da RBV.³⁰

Estudos *in vitro* mostraram que o uso concomitante de RBV e micofenolato tem um efeito sinérgico anti-VHE. No entanto, estudos *in vivo* em transplantados não mostraram diferenças no tratamento com RBV com ou sem micofenolato.¹

Em doentes transplantados uma contagem linfocitária elevada é um preditor independente a favor de uma RVS quando tratados com RBV, enquanto que a presença de VHE nas fezes, mesmo não havendo no sangue, após tratamento com RBV, é indicador de maior risco de recaída.¹ A avaliação 7 dias após o início do tratamento ajuda a prever se este vai resultar; uma descida da concentração de ARN de VHE superior ou igual a 0,5 log₁₀ IU/ml neste período inicial está associada a uma RVS.^{1,4}

Atualmente não existem outros tratamentos para além da RBV para a infeção crónica por VHE.¹

O tratamento inicial falha em cerca de 40% dos casos. Há várias razões pelas quais o tratamento pode falhar: a) necessidade de reduzir a dose durante o tratamento o que pode tornar as concentrações de RBV insuficientes para alcançar todos os locais onde o vírus se replica; b) duração de tratamento insuficiente para haver *clearance* do vírus no sangue e nas fezes; c) mutação do VHE que pode conferir alguma resistência à RBV, como a mutação G1634R na polimerase viral que aumenta a replicação de VHE (apesar disso algumas destas mutações podem aumentar a suscetibilidade à RBV).^{4,30} A maioria destes doentes vai responder a um novo tratamento, com uma duração superior, normalmente de seis meses. No entanto, deve ser mantido até que seja obtido um resultado negativo para ARN de VHE no sangue e fezes em dois exames com intervalo de pelo menos um mês.⁴

O sofosbuvir, um nucleótido análogo licenciado para o tratamento do VHC mostrou num estudo recente ter capacidade de inibição de replicação do VHE num modelo experimental. Este efeito era aditivo quando combinado com RBV, no entanto, quando usado na dose *standard* para tratar uma infeção por VHC a sua atividade contra o VHE era insuficiente.⁴

O tratamento da infeção crónica por VHE em doentes imunossuprimidos que não tenham sido transplantados baseia-se no uso de RBV que pode ser associada ao interferão- α peguilhado.¹

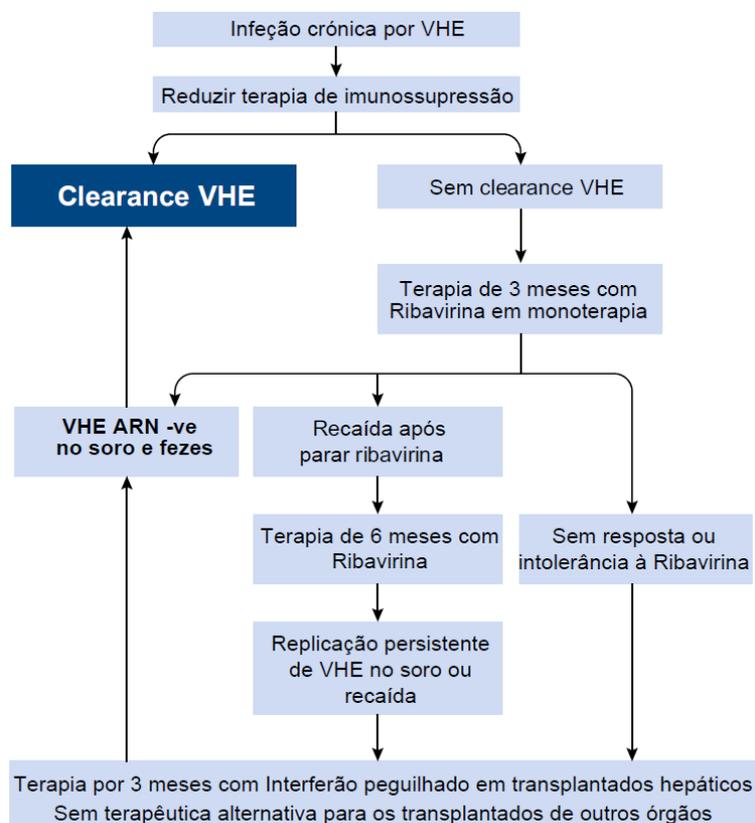
Em suma (Figura 4), a EASL recomenda que no caso de infeção crónica em doentes transplantados seja inicialmente reduzida a dose de imunossupressão; se a carga viral persistir após 3 meses iniciar tratamento com RBV por 12 semanas. No final deste período deve ser pesquisado ARN de VHE nas fezes e sangue, e caso seja indetetável em ambos o tratamento deve ser terminado.¹ A *guideline* britânica recomenda que quando o primeiro tratamento falha seja realizado um novo tratamento com RBV por 6 meses e com doses superiores, se tolerado.⁴

Potenciais novas estratégias para o tratamento da infeção por VHE estão a ser estudadas. Estas estratégias incluem fármacos que interfiram com o ciclo de vida do VHE. Uma barreira a esta estratégia é que o conhecimento sobre o ciclo de vida deste vírus é limitado devido à dificuldade de criar um modelo de replicação *in vitro*. Fármacos como a

clorpromazina e derivados desta podem ser estudados como potenciais agentes para alterar o ciclo de vida do vírus. Outros tratamentos a serem estudados incluem a terapia *antisense*, na qual uma cadeia de ácido nucleico complementar a uma sequência específica do vírus se liga a este inativando-o. Estudos feitos usando *small interfering RNA* (ou siRNA) mostraram eficácia, reduzindo a replicação em cerca de 60-90%. O ponto negativo destes estudos é a curta janela temporal utilizada, não revelando resultados a longo prazo, essenciais para os casos de infecção crónica por VHE, uma vez que esta é a principal população a necessitar de terapia.¹¹

O VHE tem a capacidade de se diversificar dentro do hospedeiro, ou seja, no mesmo hospedeiro a população de vírus é heterogénea com genomas não-idênticos. Esta heterogeneidade permite que este se adapte rapidamente a mudanças tais como a administração de antivirais e ataques do sistema imune do hospedeiro. Quanto maior a heterogeneidade do vírus maior a probabilidade da infecção se tornar crónica.⁴⁰ Verificou-se que a mutação G1634R na polimerase do vírus é prevalente em casos em que a terapia com RBV falhou, associada também a pior prognóstico.⁴² O VHE replica-se no limiar do erro genómico, e por isso estratégias que permitam que este limiar seja ultrapassado permitem tornar o vírus inviável. A RBV tem a capacidade de aumentar o número de erros durante a replicação levando a uma mutação letal para o vírus.⁴⁰

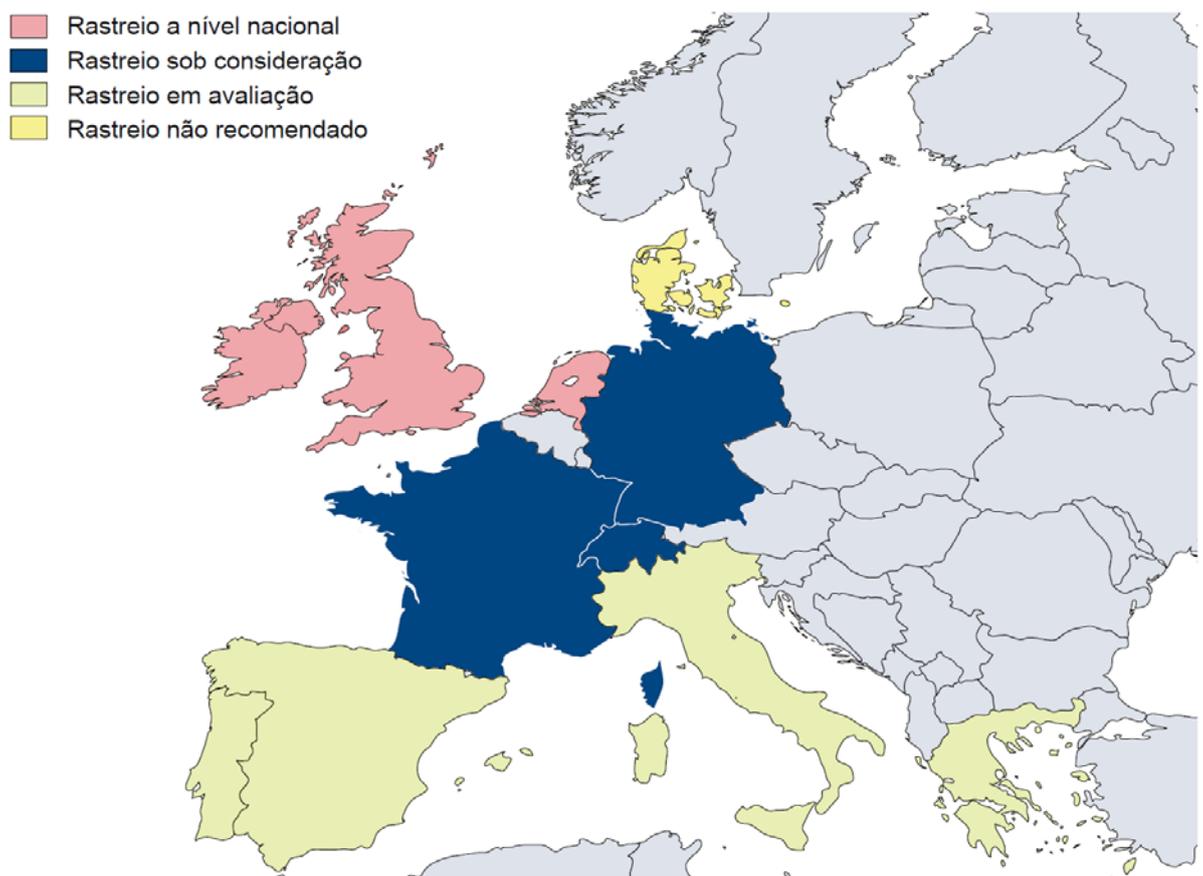
Figura 4 – Algoritmo de tratamento da infecção crónica por VHE (adaptado de)¹



6.9 Prevenção

As infeções por VHE são uma ameaça emergente para a segurança das transfusões sanguíneas, tendo importantes implicações de saúde pública em doentes imunossuprimidos. As populações imunossuprimidas serão as principais beneficiárias com o *screening* de VHE em doações sanguíneas. Não se verifica imunidade completa ao vírus em doentes que tenham anticorpos anti-VHE. Certos países Europeus (Figura 5) como a Irlanda, Holanda, Reino Unido e França já iniciaram o *screening* para a presença de ARN de VHE em doações de sangue, outros países estão a avaliar a introdução deste sistema, enquanto que a Dinamarca optou por não realizar o *screening*.^{43,44} O rastreio sanguíneo para a presença de VHE é uma opção para aumentar a segurança dos produtos sanguíneos. No entanto não elimina o risco de a infeção ser adquirida por outros meios, nomeadamente consumo de alimentos contaminados.⁴⁴

Figura 5 – Situação europeia atual em relação ao rastreio de VHE em doações sanguíneas, (retirado de)⁴⁴



Em 2014 Jean-Michel Pawlotksy considerou urgente criar um sistema de detecção de ARN de VHE em doações de sangue uma vez que esta é uma via de transmissão do vírus que pode afetar os doentes imunocomprometidos levando a uma infecção crónica para a qual falta uma terapêutica eficiente.⁴⁵

O risco de transmissão através de produtos sanguíneos é relevante, tendo sido verificado que a transmissão ocorre em 1 por cada 5000 transfusões e, quando o componente transfundido é portador do VHE, o risco de transmissão é de 42%. Este risco é significativo, nomeadamente para doentes imunossuprimidos que recebem múltiplas transfusões. Apesar do número de casos reportados ser pequeno, o potencial iatrogénico de transmissão de vírus através de transfusões deve ser tido em conta.⁴ Um estudo realizado na Alemanha concluiu que é benéfico rastrear para o VHE produtos sanguíneos cujos recetores são doentes imunossuprimidos.⁴³

A nível hospitalar é recomendado que os doentes infetados por VHE fiquem isolados, com instalações sanitárias apenas para eles. Os trabalhadores do hospital devem ter cuidados, especialmente a lavar as mãos para evitar que sejam infetados.⁴⁶

Apenas na China existem vacinas validadas para a prevenção da infeção por VHE. A vacina existente na China, a HEV239, é uma vacina recombinante baseada na proteína da cápside expressa na bactéria *E. coli*, derivada do genótipo 1 do VHE. A vacina é bem tolerada e tem uma eficácia de proteção de 100%, mas apesar disso não há estudos relativos à persistência desta proteção.⁷ Outra vacina constituída por uma proteína recombinante de VHE também demonstrou boa eficácia, 96% a 12 meses e 87,5% a 4,5 anos.³³ A vacina preveniu infeções sintomáticas por genótipo 4 do VHE, o que é sugestivo de uma eficácia abrangente para os vários genótipos do vírus. A vacina HEV239 não oferece uma imunidade completa, isto é, pode existir uma infeção subclínica. A vacina demonstrou ser eficaz e segura nas grávidas. Em relação à população imunossuprimida ou doentes com doença hepática crónica a sua eficácia a longo-prazo e segurança ainda tem que ser avaliada.¹ Um estudo conduzido na China para avaliar os custos efetivos da vacina contra o VHE na população idosa concluiu que o acompanhamento e a vacinação são a melhor estratégia em termos de custo efetividade para intervir nesta população.⁴⁷

Também deve ser realizada uma prevenção a nível alimentar, nomeadamente nos países europeus onde os alimentos são a principal via de transmissão, principalmente o consumo de carne de porco, javali e veado malcozinhada ou crua, visto que estes alimentos são uma fonte importante de infeção. O risco anual de adquirir uma infeção por VHE através do consumo de alimentos é 1:500 a 1:1000, o que é um valor significativo para os doentes imunossuprimidos. O VHE tem uma grande capacidade de sobrevivência nos alimentos, sendo capaz de manter a sua capacidade infecciosa durante períodos superiores a um mês. Estudos realizados em culturas celulares sugerem que expor o vírus a temperaturas de 70°C

durante mais de 2 minutos ou 80°C durante 1 minuto eliminam a sua capacidade de infetar. No entanto, não está esclarecido se estes dados são aplicáveis à confeção de alimentos, pois mesmo em carne de porco cozinhada durante uma hora a temperaturas a rondar os 56-60°C o vírus é capaz de manter a sua capacidade infecciosa. É recomendado que indivíduos em maior risco evitem o consumo de alimentos que possam ser fonte do vírus.^{1,4}

É também recomendado que doentes imunossuprimidos ou transplantados que viagem para países onde o VHE é endémico tenham cuidados de higiene das mãos, bebam só água engarrafada ou fervida e evitem alimentos crus ou malcozinhados. Apesar de nestes países os genótipos predominantes serem o 1 e 2, que não estão associados a infeções crónicas, a sua mortalidade é significativa, cerca de 0,5-4%.⁴ Para a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) é uma prioridade identificar os riscos de transmissão do vírus na cadeia alimentar. Os alimentos podem ser contaminados nos vários passos da cadeia alimentar, desde a sua produção até ao local de venda, e os métodos de controlo irão variar dependendo do risco de contaminação dos diferentes produtos. A principal via de transmissão do VHE é feita através do consumo dos reservatórios animais, especialmente quando crus ou inadequadamente cozinhados. Para a EFSA uma possível medida de controlo para prevenir que os animais sejam contaminados por VHE é mantê-los em locais livres de infeção. Caso esta não seja possível, outra medida será prevenir que estes cheguem aos matadouros para posteriormente não serem consumidos. A EFSA conclui que as atuais medidas de prevenção na cadeia de produção de porcos não são suficientes. A inspeção que é feita aos animais não permite detetar a presença de VHE, que devia ser feita no fígado ou carne no momento do abate. Recomendam também estudar a possibilidade de vacinar os porcos de modo a prevenir que estes sejam contaminados por VHE, e comprovar se esta vacina terá benefícios para o consumidor.⁴⁸

Tabela III – Resumo das medidas de prevenção da infeção por VHE (adaptado de)⁵

Ação preventiva	Procedimentos
Inativação do vírus	Alimentos e água: ferver ou fritar a temperaturas superiores a 90°C, lavar a fruta e vegetais com soluções de cloro; Fontes de água: desinfeção com cloro.
Sanitária, higiene e vigilância	Comunidade: tratar esgotos e fontes de água; Pessoal: lavar as mãos, usar luvas para preparar os alimentos; Profissionais de Saúde: usar proteções durante surtos e na manipulação de sangue, realizar rastreios nos bancos de sangue;
Vacinação	Realizar uma vacinação em massa em pessoas e animais suscetíveis.

7. Discussão

Estarão os médicos portugueses familiarizados com a prevalência do VHE em Portugal? Os estudos realizados sobre a prevalência do vírus em Portugal são suficientes? Qual a prevalência do VHE em Portugal? Realizaram-se dois estudos em Portugal para estimar a seroprevalência de VHE na população em geral. Estes estudos basearam-se na mesma base de dados de doentes, apenas mudando o método de pesquisa do vírus, sendo que em ambos a pesquisa foi limitada à procura de anticorpos IgG anti-VHE. Os resultados obtidos nestes estudos demonstraram uma prevalência de 9% num deles e 16,3% no outro.^{8,9} Existe também um estudo preliminar realizado por J. Pereira-Vaz para estimar a prevalência de infeção por VHE em doentes que receberam um transplante hepático. A amostra consistiu em 23 indivíduos, da qual 2 (8,7%) indivíduos eram portadores. Concluiu o autor que apesar de o número de indivíduos infetados ser baixo, há um risco significativo de infeção para os doentes transplantados em Portugal.¹⁰ O pequeno número de estudos e a falta de informação relativos ao VHE em Portugal, sugerem que esta patologia necessita de ser melhor conhecida, nomeadamente através de estudos que se baseiem na deteção de ARN de VHE nos *pools* de doações de sangue, como foi feito noutros países, e deve também ser dada informação aos médicos sobre o vírus, o seu impacto na saúde dos doentes e na saúde pública, e as medidas de prevenção.

Ainda não existe um modelo animal com as características ideais para serem testadas novas terapêuticas para o VHE. As pesquisas atualmente a ser realizadas focam-se em encontrar e criar cadeias de VHE para recriar a doença em modelos animais. A recente descoberta de cadeias do genótipo 3 de VHE em coelhos deram alguma esperança. O conhecimento da biologia molecular do VHE está a progredir rapidamente. Apesar dos modelos adaptados a cultura celular ainda não serem totalmente robustos, estes permitiram perceber aspetos do ciclo de vida do vírus. O uso destes modelos irá permitir verificar a utilidade de certos fármacos contra o vírus e descobrir potenciais terapias alvo.¹¹

Dadas as características clínicas da infeção por VHE, esta muitas vezes acaba por passar despercebida, uma vez que na maioria das infeções a clínica e a bioquímica é inespecífica, ligeira, e por falta de conhecimento do vírus muitos dos casos não são diagnosticados. Daí a prevalência do vírus ser elevada e o seu conhecimento por parte dos médicos não ser significativo.

Apesar da evidência existente entre a infeção por VHE e as manifestações extra-hepáticas, ainda não foi provada uma ligação causal entre estas. É necessário realizar estudos para demonstrar esta ligação, já que estes iriam permitir a deteção das manifestações extra-hepáticas e identificar os potenciais fatores do hospedeiro associados ao desenvolvimento destas manifestações. Adicionalmente deve ser clarificado o efeito do uso

de RBV nestas patologias. A melhor maneira de prevenir estas manifestações é prevenir a infecção por VHE.³⁴

Será que a atual definição de infecção crónica por VHE é a correta? Atualmente define-se infecção crónica como a replicação persistente do vírus durante um período de 3-6 meses. Alguns estudos verificam que a partir dos 3 meses de infecção não existe erradicação espontânea do vírus, enquanto noutros ela aconteceu até aos 6 meses. Outra limitação desta definição é saber quando se deu a infecção pelo vírus, uma vez que a análise para detetar o VHE não é feita por rotina. Esta questão levanta uma outra sobre a necessidade de monitorizar doentes imunossuprimidos para a presença de VHE. Será necessário implementar um método de rastreio para esta população? Se sim, deverá ser o rastreio feito através da pesquisa de ARN do VHE ou através de anticorpos anti-VHE? Tendo em conta o estado imunossuprimido do doente, a pesquisa de anticorpos poderá dar resultados falsos-negativos, enquanto que a pesquisa do ARN não dependerá do estado do sistema imunológico do doente. Tem este método o contra de apresentar um custo acrescido relativamente ao outro. Para além do rastreio de infecção por VHE em doentes imunossuprimidos também devem ser tomadas outras medidas para a prevenir que estes doentes sejam infetados. Uma medida importante é certificar que caso estes doentes necessitem de uma transfusão sanguínea esta não contenha VHE, para tal podem ser criadas reservas de sangue cujos dadores tenham sido testados para VHE.

Atualmente não existe uma terapêutica específica para o vírus, e em caso de falência da terapêutica, as soluções alternativas são limitadas. Tendo em conta a população cuja infecção tem maior risco de se tornar crónica é necessária a pesquisa de novas terapias farmacológicas para o vírus. Para além de novas terapias é necessário alertar esta população para os fatores de risco de infecção e as medidas de prevenção que se mostraram eficazes.

O surgimento de novos antivíricos de ação direta para tratar a infecção por VHC, e a utilização preferencial de esquemas terapêuticos que não incluem a RBV e o interferão em doentes transplantados em consequência de hepatite C crónica, leva a que haja um maior risco de infecção crónica por VHE nestes doentes.⁴⁹ É necessário criar novas terapêuticas dirigidas para o VHE, pois existem resistências associadas à falência da terapêutica com RBV; será também relevante realizar estudos que possam elucidar se as variantes do vírus podem contribuir para uma fisiologia, patogénese e clínica distintas.¹² Mesmo havendo uma elevada prevalência de VHE a nível mundial e esta infecção ser associada a patologias severas, ainda há falta de terapêuticas antivirais eficazes. As potenciais terapias alvo contra o vírus são abundantes, mas ainda não é possível saber quais serão as mais eficientes e com menos efeitos secundários. Avanços recentes com replicões virais (*viral replicons*) e sistemas de cultura celular para VHE levaram a perceber vários aspetos do ciclo de vida do vírus, nomeadamente a dependência deste no sistema ubiquitina-proteassoma para ser replicar. Os

conhecimentos que se adquiriram recentemente aliados ao conhecimento baseado noutros vírus abrem a porta a múltiplas terapêuticas futuras que precisam de mais estudos para poderem ser utilizadas.¹¹

Dada a prevalência de infeção por VHE em porcos, o elevado consumo de carne de porco e, por outro lado, a baixa incidência da infeção em dadores de sangue na Europa, leva a concluir que a principal via de transmissão é o consumo de carne de suínos. Numa perspetiva de saúde pública é prioritário eliminar o risco de transmissão do vírus através dos alimentos. A transmissão de vírus através de transfusões administradas aos doentes imunossuprimidos representa outra causa de infeção que pode ser prevenida, já que esta infeção acarreta séria morbilidade e mortalidade para estes doentes. As abordagens para aumentar a segurança das transfusões são limitadas, sendo que a mais acessível é realizar um rastreio sistemático para VHE, que já é prática nalguns países Europeus e que está a ser ponderada noutros.⁵⁰

Com a realização deste trabalho conclui-se que o VHE é bastante comum; apesar disso não há ainda um bom conhecimento geral do vírus por parte da comunidade médica. Para além de todos os estudos a realizar em torno do VHE, deve também ser realizada uma ação de alerta para este vírus. Apesar de a maior parte dos estudos serem realizados em doentes transplantados, onde os médicos que seguem estes doentes têm um conhecimento razoável sobre VHE, o vírus também atinge outras populações imunossuprimidas em que os médicos destes doentes podem não ter conhecimento suficiente sobre o vírus.

8. Conclusão

Este trabalho conclui, com base na literatura revista, que o VHE é uma das principais causas de hepatite a nível mundial. Apesar disso é um vírus que ainda foi pouco estudado, o que leva a que as infeções por VHE sejam de difícil diagnóstico, principalmente devido à sua clínica inespecífica. A infeção por VHE é uma situação particularmente preocupante em doentes imunossuprimidos, por nestes casos poder tornar-se crónica e evoluir para cirrose.

Conclui-se também que a oferta de tratamentos disponíveis para a infeção crónica por VHE é muito limitada, e a exploração de novas terapêuticas é um percurso a percorrer, apesar de difícil dada a complexidade do vírus.

Devemos finalmente salientar que nos países europeus surgiu um alerta em relação a este vírus nos últimos anos, levando a que fossem gradualmente instituídas medidas de prevenção da infeção.

9. Agradecimentos

Agradeço ao Professor Doutor Saraiva da Cunha pela disponibilidade, apoio e acompanhamento durante a realização deste trabalho.

Agradeço à minha família.

Agradeço aos meus amigos.

10. Referências bibliográficas

1. Dalton HR, Kamar N, Baylis SA, Moradpour D, Wedemeyer H, Negro F. EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. *J Hepatol*. 2018;68(6):1256–71.
2. Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(1):116–38.
3. Petrik J, Lozano M, Seed CR, Faddy HM, Keller AJ, Prado Scuracchio PS, et al. Hepatitis E. *Vox Sang*. 2016;110(1):93–103.
4. British Transplantation Society. Guidelines for Hepatitis E & Solid Organ Transplantation. 1st ed. Macclesfield: British Transplantation Society; 2017. 86 p.
5. Melgaço JG, Gardinali NR, Mello VDM De, Leal M, Lewis-Ximenez LL, Pinto MA. Hepatitis E: Update on Prevention and Control [Internet]. *BioMed Research International*. 2018 [cited 2018 Sep 9]. p. 9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5818934/pdf/BMRI2018-5769201.pdf>
6. Aspinall EJ, Couturier E, Faber M, Said B, Ijaz S, Tavoschi L, et al. Hepatitis E virus infection in Europe: Surveillance and descriptive epidemiology of confirmed cases, 2005 to 2015. *Eurosurveillance*. 2017;22(26):10.
7. Kamar N, Abravanel F, Lhomme S, Rostaing L, Izopet J. Hepatitis E virus: Chronic infection, extra-hepatic manifestations, and treatment. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2015;39(1):20–7.
8. Nascimento MSJ, Pereira SS, Teixeira J, Abreu-Silva J, Oliveira RMS, Myrmel M, et al. A nationwide serosurvey of hepatitis E virus antibodies in the general population of Portugal. *Eur J Public Health*. 2017;28(4):720–4.
9. Pereira SS, Teixeira J, Abreu-Silva J, Oliveira RMS, Mesquita JR, Nascimento MSJ. A Nationwide Serosurvey of Hepatitis E Virus in the General Population of Portugal. *J Hepatol*. 2016;64(2):S206.
10. Pereira-Vaz J, Correia L, Ferreira S, Goncalves C, Vaz A, Mendes A, et al. Preliminary study of the prevalence of hepatitis e virus infection in liver transplant recipients in Portugal. *J Clin Virol*. 2016;82(2016):S78–9.
11. Kenney SP, Meng X-J. Therapeutic Targets for the Treatment of Hepatitis E Virus Infection. 2016;19(9):460–73.
12. van Tong H, Hoan NX, Wang B, Wedemeyer H, Bock CT, Velavan TP. Hepatitis E Virus Mutations: Functional and Clinical Relevance. *EBioMedicine*. 2016;11:31–42.
13. Pérez-Gracia MT, Suay B, Mateos-Lindemann ML. Hepatitis E: An emerging disease. *Infect Genet Evol*. 2014;22:40–59.
14. Donnelly MC, Scobie L, Crossan CL, Dalton H, Hayes PC, Simpson KJ. Review article:

- hepatitis E: A concise review of virology, epidemiology, clinical presentation and therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;46(2):126–41.
15. Lenggenger D, Weber A. Hepatitis E Virus and the Liver: Clinical Settings and Liver Pathology. *Gastroenterol Clin North Am.* 2017;46(2):393–407.
 16. Singh A, Seth R, Gupta A, Shalimar, Nayak B, Acharya SK, et al. Chronic hepatitis E: An emerging disease in an immunocompromised host. *Gastroenterol Rep.* 2016;6(2):152–5.
 17. Sridhar S, Lau SKP, Woo PCY. Hepatitis E: A disease of reemerging importance. *J Formos Med Assoc.* 2015;114(8):681–90.
 18. Hewitt PE, Ijaz S, Brailsford SR, Brett R, Dicks S, Haywood B, et al. Hepatitis e virus in blood components: A prevalence and transmission study in southeast England. *Lancet.* 2014;384(9956):1766–73.
 19. Hartl J, Otto B, Madden RG, Webb G, Woolson KL, Kriston L, et al. Hepatitis E seroprevalence in Europe: A meta-analysis. *Viruses.* 2016;8(8):211.
 20. Arends JE, Ghisetti V, Irving W, Dalton HR, Izopet J, Hoepelman AIMM, et al. Hepatitis E: An emerging infection in high income countries. *J Clin Virol.* 2014;59(2):81–8.
 21. Adlhoch C, Avellon A, Baylis SA, Ciccaglione AR, Couturier E, de Sousa R, et al. Hepatitis E virus: Assessment of the epidemiological situation in humans in Europe, 2014/15. *J Clin Virol.* 2016;82:9–16.
 22. Manka P, Bechmann LP, Coombes JD, Thodou V, Schlattjan M, Kahraman A, et al. Hepatitis E Virus Infection as a Possible Cause of Acute Liver Failure in Europe. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(10):1836–42.
 23. van der Eijk AA, Pas SD, de Man RA. Hepatitis E virus: A potential threat for patients with liver disease and liver transplantation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2017;31(2):143–50.
 24. Riveiro-Barciela M, Buti M, Homs M, Campos-Varela I, Cantarell C, Crespo M, et al. Cirrhosis, liver transplantation and HIV infection are risk factors associated with hepatitis E virus infection. *PLoS One.* 2014;9(7):5–10.
 25. Debes JD, Pisano MB, Lotto M, Re V. Hepatitis E virus infection in the HIV-positive patient. *J Clin Virol.* 2016;80:102–6.
 26. Bura M, Łagiedo M, Michalak M, Sikora J, Mozer-Lisewska I. Hepatitis E virus IgG seroprevalence in HIV patients and blood donors, west-central Poland. *Int J Infect Dis.* 2017;61:20–2.
 27. Heil J, Hoebe CJPA, Van Loo IHM, Cals JWL, Van Liere GAFS, Dukers-Muijrs NHTM. Hepatitis E prevalence in a sexual high-risk population compared to the general population. *PLoS One.* 2018;13(1):1–9.
 28. Haffar S, Bazerbachi F, Leise MD, Dillon JJ, Albright RC, Murad MH, et al. Systematic

- review with meta-analysis: the association between hepatitis E seroprevalence and haemodialysis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;46(9):790–9.
29. Pisano MB, Leathers J, Balderramo DC, Diehl F, Bolomo A, Fernández P, et al. Hepatitis E virus infection in hemodialysis patients: A prospective analysis. *Semin Dial.* 2018;31(5):528–9.
 30. De Winter BCM, Hesselink DA, Kamar N. Dosing ribavirin in hepatitis E-infected solid organ transplant recipients. *Pharmacol Res.* 2018;130:308–15.
 31. Meisner S, Polywka S, Memmler M, Nashan B, Lohse AW, Sterneck M, et al. Definition of chronic hepatitis e after liver transplant conforms to convention. *Am J Transplant.* 2015;15(11):3011–2.
 32. Kamar N, Rostaing L, Legrand-Abravanel F, Izopet J. Letter to the Editor How Should Hepatitis E Virus Infection Be Defined in Organ-Transplant Recipients? *Am J Transplant.* 2013;13:1935–6.
 33. Fang SY, Han H. Hepatitis e viral infection in solid organ transplant patients. *Curr Opin Organ Transplant.* 2017;22(4):351–5.
 34. Pischke S, Hartl J, Pas SD, Lohse AW, Jacobs BC, Van der Eijk AA. Hepatitis E virus: Infection beyond the liver? *J Hepatol.* 2017;66(5):1082–95.
 35. Dalton HR, van Eijk JJJ, Cintas P, Madden RG, Jones C, Webb GW, et al. Hepatitis E virus infection and acute non-traumatic neurological injury: A prospective multicentre study. *J Hepatol.* 2017;67(5):925–32.
 36. La Rosa G, Fratini M, Muscillo M, Iaconelli M, Taffon S, Equestre M, et al. Molecular characterisation of human hepatitis e virus from Italy: Comparative analysis of five reverse transcription-PCR assays. *Viol J.* 2014;11(1):1–8.
 37. Chijioke O, Bawohl M, Springer E, Weber A. Hepatitis E Virus Detection in Liver Tissue from Patients with Suspected Drug-Induced Liver Injury. *Front Med.* 2015;2:1–5.
 38. Martinez-peinado MFPLA, Brieva MÁRT, Camacho IMÁ, Rivero JCGA. Detection of hepatitis E virus RNA in saliva for diagnosis of acute infection. 2018;65(5):584–8.
 39. Abravanel F, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Peron JM, Alric L, Rostaing L, et al. Performance of a new rapid test for detecting anti-hepatitis E virus immunoglobulin M in immunocompetent and immunocompromised patients. *J Clin Virol.* 2015;70:101–4.
 40. Todt D, Meister TL, Steinmann E. Hepatitis E virus treatment and ribavirin therapy: viral mechanisms of nonresponse. *Curr Opin Virol.* 2018;32:80–7.
 41. Peters Van Ton AM, Gevers TJG, Drenth JPH. Antiviral therapy in chronic hepatitis E: A systematic review. *J Viral Hepat.* 2015;22(12):965–73.
 42. Todt D, Gisa A, Radonic A, Nitsche A, Behrendt P, Suneetha PV, et al. In vivo evidence for ribavirin-induced mutagenesis of the hepatitis E virus genome. *Gut.* 2016;65(10):1733–43.

43. Westhölter D, Hiller J, Denzer U, Polywka S, Ayuk F, Rybczynski M, et al. HEV-positive blood donations represent a relevant infection risk for immunosuppressed recipients. *J Hepatol.* 2018;69(1):36–42.
44. Müllhaupt B, Niederhauser C. Hepatitis E blood donor screening – More than a mere drop in the ocean? *J Hepatol.* 2018;69(1):8–10.
45. Pawlotsky JM. Hepatitis e screening for blood donations: An urgent need? *Lancet.* 2014;384(9956):1729–30.
46. O’Gorman J, Burke Á, O’Flaherty N. Hepatitis E virus – key points for the clinical haematologist. *Br J Haematol.* 2018;181(5):579–89.
47. Cheng X, Zhao Y, Zhang X, Jin H, Min J. Health economic evaluation of immunization strategies of hepatitis E vaccine for elderly population. *Hum Vaccines Immunother.* 2017;13(8):1873–8.
48. Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, Salvador P, et al. Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. *EFSA J.* 2017;15(7):4886.
49. Koning L, Charlton MR, Pas SD, Heimbach JK, Osterhaus ADME, Watt KD, et al. Prevalence and clinical consequences of Hepatitis E in patients who underwent liver transplantation for chronic Hepatitis C in the United States. *BMC Infect Dis.* 2015;15(1):4–9.
50. Domanović D, Tedder R, Blumel J, Zaaijer H, Gallian P, Niederhauser C, et al. Hepatitis E and blood donation safety in selected European countries: A shift to screening? *Eurosurveillance.* 2017;22(16):1–8.