

**ACADEMIA DE CIENCIA E TECNOLOGIA**

**ROSEMEIRE IZABEL DE REZENDE**

**DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS HEPATITES B E C**

**Dezembro, 2012**

**ROSEMEIRE IZABEL DE REZENDE**

## **DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS HEPATITES B E C**

Artigo Científico apresentado ao curso de Pós Graduação em Biologia Molecular da Academia de Ciências e Tecnologia, como requisito para a conclusão do Curso e obtenção do título de Especialista em Biologia Molecular.

Orientador: Prof.Dr.Luiz Carlos de Mattos

**Ribeirão Preto, SP**

**Dezembro, 2012**

## RESUMO

A hepatite é uma inflamação do fígado a qual pode estar relacionada a diversas causas, como por exemplo, no uso de alguns medicamentos, intoxicação por defensivos agrícolas, bebidas alcoólicas e agentes infecciosos. Os vírus são os principais agentes infecciosos que causam hepatites. Estimam-se que no Brasil, exista cerca de 2 milhões de portadores da hepatite B e 3 milhões da hepatite C, sendo a maioria assintomática ou oligossintomática. O presente estudo consiste em uma revisão de literatura sobre os diagnósticos laboratoriais das hepatites causadas pelos vírus HCV e HBV. Eles se dividem em dois grupos de testes: um para confirmar se os sintomas são provenientes do processo inflamatório das células hepáticas; e outro para revelar o agente etiológico. O diagnóstico laboratorial é altamente sensível e específico e baseia-se em métodos sorológicos e imunológicos para pesquisa de anticorpos, testes por biologia molecular, que possibilita a detecção do RNA do vírus e ainda existe o método de PCR quantitativo (carga viral) e o de genotipagem, cujas informações são fundamentais para orientação da terapêutica a ser instituída. É extremamente fundamental que se faça o diagnóstico precoce de ambas as infecções. Individualmente, proporciona acompanhamento e tratamento mais adequado. Do ponto de vista de saúde pública, melhora a perspectiva de controle da epidemia. Este estudo proporcionou um conhecimento teórico sobre os diagnósticos laboratoriais existentes para hepatite B e C, servindo de fonte de informações para os profissionais da saúde.

**Palavras chaves:** Hepatites, Hepatite B, Hepatite C, Diagnóstico laboratorial, Biologia Molecular, Testes sorológicos.

## ABSTRACT

Hepatitis is an inflammation of the liver which may be related to various causes, for example, use of certain drugs, poisoning by pesticides, alcohol and infectious agents. Viruses are the main agents that cause infectious hepatitis. It is estimated that in Brazil, there is approximately 2 million carriers of hepatitis B and hepatitis C 3 million, mostly asymptomatic or oligosymptomatic. The present study consists of a literature review on the laboratory diagnosis of hepatitis caused by HCV and HBV. They are divided into two groups of tests: one to confirm whether the symptoms are from inflammation of liver cells, and another to reveal the etiologic agent. The laboratory diagnosis is highly sensitive and specific and is based on serological and immunological methods for antibodies, tests for molecular biology, allowing the detection of virus RNA and also there is the method of quantitative PCR (viral load) and genotyping whose information is essential to guide therapy to be instituted. It is extremely essential to make early diagnosis of both infections. Individually, provides monitoring and appropriate treatment. From the viewpoint of public health perspective improves control the epidemic. This study provides a theoretical knowledge about the existing laboratory diagnostics for hepatitis B and C, serving as a source of information for health professionals.

**Keywords:** Hepatitis, Hepatitis B, Hepatitis C, Laboratory diagnosis, Molecular, serological tests.

## SÚMÁRIO

RESUMO .....	3
ABSTRACT .....	4
<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	<b>6</b>
<b>2.MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>7</b>
<b>3.DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS HEPATITES B E C .....</b>	<b>7</b>
<b>3.1.Diagnóstico da hepatite B.....</b>	<b>8</b>
3.1.1 Exames Sorológicos .....	9
3.1.2. Exames por Biologia Molecular.....	11
<b>3.2.Diagnóstico da hepatite C .....</b>	<b>12</b>
3.2.1 Exames Sorológicos e imunológicos.....	12
3.2.2 Exames por Biologia Molecular.....	14
CONCLUSÃO.....	17
BIBLIOGRAFIA .....	18

## 1. INTRODUÇÃO

As hepatites virais representam um grave problema mundial de saúde pública com grande impacto econômico na sociedade e são causadas por agentes com tropismo pelo tecido hepático. Podem ser agudas (geralmente benigna) ou crônicas, com poder de evolução para cirrose e carcinoma hepatocelular. Atualmente os vírus conhecidos são A, B, C, D, E, G e mais recentemente TTV – Transfusion Transmissible Vírus descoberto no Japão em 1997 e SEN-V em 2000, na Itália, com ocorrência em vários países do mundo, sendo que o emprego dos testes para detecção ainda estão restritos a centros de pesquisa. Neste artigo será descrito apenas sobre os vírus da hepatite B (HBV) e hepatite C (HCV) (SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS, 2007).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) avalia que aproximadamente dois bilhões de pessoas já tiveram contato com o HBV. Essa infecção é endêmica em muitas partes do mundo, estimando-se que existam cerca de 325 milhões de portadores crônicos. Atualmente, a infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) é considerada a doença infecciosa crônica mais importante em todo o mundo, estimando-se cerca de 170 milhões de portadores. A hepatite C é a que mais tem indicação de transplante hepático. Além disso, a forma crônica tem alto poder evolutivo para cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (CHC) com alto custo diagnóstico. Os casos crônicos de hepatite B e C correspondem aproximadamente 1,0% e 1,5% da população brasileira. Grande parte das pessoas não conhecem seu estado de portador, piorando ainda mais a cadeia de transmissão do HBV e HCV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Os vírus VHB e VHC, epidemiologicamente possuem algumas semelhanças: são transmitidos por via parenteral, transmucosa e transcutânea. Porém também uma diferença: a hepatite B é considerada doença sexualmente transmissível, já a transmissão sexual da C é menos freqüente, embora ocorra. É extremamente fundamental que se faça o diagnóstico precoce de ambas as infecções. Individualmente, proporciona acompanhamento e tratamento mais adequado. Do ponto de vista de saúde pública, melhora a perspectiva de controle da epidemia (TRATAMENTO HOJE, 2003).

O diagnóstico da hepatite C é baseado em métodos sorológicos e em técnicas de biologia molecular. O diagnóstico da hepatite B é realizado através de técnicas sorológicas. Os médicos, hoje, têm acesso a modernas técnicas laboratoriais as quais permitem avaliar a carga viral, o índice de replicação do agente infeccioso e a eficácia das novas medicações

utilizadas. A disponibilidade de vários tipos de testes contribui para o diagnóstico precoce, diminuindo o potencial para propagação da infecção, sendo importante na discussão das indicações de cada teste, a partir de sua sensibilidade e especificidade (BRANDÃO *et al*, 2001; FERREIRA, 2000).

O diagnóstico é de extrema importância o qual inclui a realização de exames laboratoriais, a fim de caracterizar a doença e sua gravidade. Tendo isso como base, esse artigo traz como objetivo revisar a literatura a respeito dos testes laboratoriais para diagnósticos da infecção pelo VHC e VHB.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Para a realização desta pesquisa foram utilizados artigos publicados em diversas revistas científicas. Todos os artigos foram obtidos por meio de uma pesquisa eletrônica realizada nas bases de dados do GOOGLE ACADÊMICO, SCIELO, PUBMED, BIREME e outros. A pesquisa foi feita através de palavras chave como: Diagnósticos, hepatites, Vírus, Biologia Molecular, Testes Sorológicos e outros.

## **3. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS HEPATITES B E C**

O diagnóstico das hepatites virais é feito através de história epidemiológica, clínica e preferencialmente laboratorial. As dosagens de aminotransferases séricas (AST e ALT) são importantes no diagnóstico da doença, atingindo geralmente valores acima de 1000 UI/l, nas hepatites agudas e a persistência destas, por mais de 6 meses é sinal de uma provável cronificação. A biópsia hepática apresenta o perfil histopatológico, e o estadiamento da doença e comporta material para a pesquisa de imunorreatividade de antígenos no tecido. Os testes de detecção e quantificação do ADN do VHB podem contribuir no diagnóstico, contudo é mais útil na monitorização ao tratamento e controle da infecção e no futuro utilizado para triagens em doadores de sangue, já o diagnóstico etiológico é feito através de marcadores sorológicos (JUNIOR, 2005).

O diagnóstico das hepatites virais está dividido em dois grupos de testes: um para confirmar se os sintomas são consequentes do processo inflamatório das células hepáticas e outro para determinar o agente etiológico. Grande parte desses testes pode ser feito com amostra de soro do paciente colhida no momento em que se procura o serviço médico com

algum sintoma sugestivo de hepatite ou com história de contato com algum caso da doença. O primeiro grupo, envolve os exames empregados na determinação da atividade das seguintes enzimas séricas: bilirrubinas, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina e gama-glutamilttransferase. Em caso de lesão das células hepáticas, pode haver o aumento nos níveis de qualquer uma dessas enzimas. As aminotransferases ou transaminases são de maior uso no diagnóstico das hepatites virais, por serem marcadores sensíveis de lesões do fígado e por atingirem picos elevados no começo dos sintomas. A bilirrubina é um pigmento biliar que tem seu metabolismo alterado por uma lesão hepatocelular. A determinação da bilirrubina sérica é outro exame utilizado com frequência, o aumento dos seus níveis é visto na fase pré-ictérica das hepatites. Nas hepatites benignas geralmente se normaliza antes das transaminases, nas formas mais graves o inverso é mais comum. A determinação da etiologia das hepatites virais só pode ser realizada por técnicas sorológicas para detecção dos marcadores virais específicos (SARACENI, 2001).

Os testes de biologia molecular são empregados para detectar a presença do ácido nucléico do vírus (DNA para o vírus da hepatite B e RNA para os demais vírus da hepatite). Os testes podem ser qualitativos (revela a presença ou ausência do vírus na amostra pesquisada), quantitativos (indicam a carga viral presente na amostra) ou de genotipagem (revela o genótipo do vírus). Existem várias técnicas para realização dos testes de biologia molecular (Polimerase Chain Reaction ou PCR, hibridização, branched-DNA ou b-DNA, seqüenciamento, Transcription-Mediated Amplification ou TMA). A definição da técnica a ser feita depende da informação clínica a qual se quer obter – presença ou ausência do vírus, genótipo do vírus, replicação viral, pesquisa de mutações no genoma viral, etc. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

### **3.1. Diagnóstico da hepatite B**

O VHB circula no sangue em altas concentrações e nos outros fluidos orgânicos em títulos baixos, ele é aproximadamente cem vezes mais infectante do que o HIV e dez vezes mais do que o VHC. O sangue e os outros líquidos orgânicos de um portador VHB já podem ser infectantes de duas a três semanas antes de surgirem os primeiros sinais da doença, e se mantêm assim durante a fase aguda, já os portadores crônicos podem permanecer infectantes durante toda a vida. Geralmente, quando a hepatite B é adquirida no período perinatal, existe uma enorme possibilidade de cronificação, decorrente da tolerância imunológica própria dessa fase da vida (FERREIRA; SILVEIRA, 2004).



O diagnóstico de todas as formas clínicas da hepatite B é realizado através de técnicas sorológicas. Essas técnicas são fundamentais tanto no diagnóstico, como também são muito úteis no seguimento da infecção viral, na avaliação do estado clínico do paciente e na monitorização da terapêutica específica. Nos últimos anos, importantes descobertas foram realizadas nas áreas da virologia e da biologia molecular desses vírus, os quais foram progressivamente sendo incorporados à rotina diária dos laboratórios de patologia clínica, permitindo aos médicos acesso às modernas técnicas aptas para avaliar a carga viral presente no indivíduo, o índice de replicação do agente infeccioso e a eficácia de novas medicações utilizadas no tratamento dessa virose (FERREIRA, 2000).

O diagnóstico para o VHB inclui a história e exame físico cuidadosos, os exames laboratoriais que são as provas de função hepática (aminotransferases (ALT, AST), fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase, albumina sérica, provas de coagulação, bilirrubinas), as sorologias para o VHB (AgHbs, AgHbe/anti-Hbe, anti Hbc (total e IgM), anti-Hbs), VHC e HIV, estes últimos são para detectar possíveis co-infecções. Também, é fundamental, incluir-se nas provas laboratoriais, a quantificação do DNA-VHB sérico, feita por meio de técnicas de PCR. Vale lembrar que os testes de função hepática, citados acima especialmente os níveis séricos da ALT/TGP e AST/TGO, mesmo sendo indicadores sensíveis do dano do parênquima hepático, não são específicos para hepatites A biópsia hepática também é essencial na avaliação do doente e é o indicador mais fidedigno da presença de atividade necro-inflamatória e fibrose. Os exames específicos para o diagnóstico do tipo de infecção são os sorológicos e os de biologia molecular (FERREIRA; BORGES, 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

### 3.1.1 Exames Sorológicos

A confirmação diagnóstica da hepatite B pode ser feita através de testes sorológicos que procuram identificar os diferentes antígenos do VHB, os anticorpos correspondentes a esses antígenos e o DNA viral. A dinâmica de surgimento desses marcadores é resposta da replicação viral e da resposta imune do paciente (SARACENI, 2001).

O HBsAg, HBeAg, anti-HBs, anti-HBe e o anti-HBc (IgM e IgG) também podem ser testados através de técnicas imunoenzimáticas do tipo ELISA, e raramente, por radioimunoensaio (MIRANDA, 2008).

As tabelas a seguir apresentam a interpretação e significado dos marcadores sorológicos para hepatite B.

**Tabela 1.** Hepatite B Aguda: Interpretação dos marcadores sorológicos

<b>Marcador</b>	<b>Significado</b>
<b>HBsAg</b>	É o primeiro marcador que aparece no curso da infecção pelo HBV. Na hepatite aguda, ele declina a níveis indetectáveis em até 24 semanas.
<b>Anti-HBc IgM</b>	É marcador de infecção recente, encontrado no soro até 32 semanas após a infecção.
<b>Anti-HBc Total</b>	É marcador presente nas infecções agudas pela presença de IgM e crônicas pela presença de IgG. Representa contato prévio com o vírus.
<b>HBeAg</b>	É marcador de replicação viral. Sua positividade indica alta infecciosidade.
<b>Anti-HBe</b>	Surge após o desaparecimento do HBeAg, indica o fim da fase replicativa.
<b>Anti-HBs</b>	É o único anticorpo que confere imunidade ao HBV. Está presente no soro após o desaparecimento do HBsAg, sendo indicador de cura e imunidade. Está presente isoladamente em pessoas vacinadas.

Fonte: Ministério da Saúde, 2008

**Tabela 2.** Hepatite B crônica: Interpretação dos marcadores sorológicos

<b>Marcador</b>	<b>Significado</b>
<b>HBsAg</b>	Sua presença por mais de 24 semanas é indicativa de hepatite crônica.
<b>HBeAg</b>	Na infecção crônica está presente enquanto ocorrer alta replicação viral.
<b>Anti-HBe</b>	Sua presença sugere redução ou ausência de replicação viral, exceto nas cepas com mutação pré-core (não produtoras da proteína “e”).

Fonte: Ministério da Saúde, 2008

**Tabela 3.** O significado da presença dos diferentes marcadores sorológicos dos portadores com hepatite B

Interpretação	HBsAg	Anti-HBc	Anti-HBc IgM	Anti-HBs	Anti-HBe	HBeAg
Fase de incubação	+	-	-	-	-	-
Fase Aguda	+	+	+	-	-	+
Final da fase aguda ou Hepatite crônica	+	+	-	-	-	+
Fase convalescente	-	+	+	-	-	-
Infecção passada	-	+	-	-	+	-
Resposta vacinal	-	-	-	+	-	-

Fonte: SARACENI, 2001

### 3.1.2. Exames por Biologia Molecular

A detecção do DNA do VHB é útil na identificação de variantes genéticas do vírus e na avaliação da resposta ao tratamento da infecção crônica pelo VHB (SARACENI, 2001).

O HBV-DNA deve ser utilizado nos casos onde exista indicação de agressão hepatocelular e suspeitas de que os pacientes desenvolveram cepas mutantes do vírus por meio de pressão imunológica (pré-core) ou no curso de terapia anti-viral (YMDD). Nestes casos os marcadores sorológicos de replicação viral são negativos, sendo preciso realizar exames de biologia molecular, onde poderá ser detectado o DNA viral em grande circulação no soro, caracterizando replicação viral ativa (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

O DNA do VHB pode ser detectado através da técnica de PCR, essa detecção é de grande importância para a identificação de variantes genéticas do vírus e na avaliação da resposta ao tratamento da infecção, a PCR também permite detectar, clonagem e seqüenciamento dos genomas do VHB em indivíduos com baixo nível de viremia. Na hepatite crônica o VHB-DNA sérico não é detectável (MIRANDA, 2008).

Os testes de biologia molecular são utilizados na Hepatite B para:

- ✓ suspeita de cepas com mutações pré-core do HBV, mediante pressão imunológica;
- ✓ suspeita de cepas com mutações YMDD, no curso da terapia antiviral;
- ✓ monitoramento terapêutico.

### 3.2. Diagnóstico da hepatite C

O VHC circula no sangue em baixa concentração e a maneira mais empregada na identificação da infecção presente ou passada é a detecção de anticorpos contra antígenos específicos do VHC. Para isso, são utilizados testes de rastreamento, os quais possuem alta sensibilidade, e os testes suplementares, que são denominados confirmatórios, com maior especificidade (BRANDÃO, *et al.*, 2001).

O diagnóstico pela infecção do VHC é realizado por meio de exames imunológicos de rotina, normalmente de forma acidental, como por exemplo em rotinas de pré-natal, triagem de doadores de sangue ou na avaliação das alamina aminotransferases (ALT) alteradas e pela detecção da presença de anticorpos produzidos contra o vírus. O diagnóstico da infecção por esse vírus é baseado nos ensaios sorológicos que detectam anticorpos anti-VHC específicos através de técnicas imunoenzimáticas do tipo ELISA, porém a confirmação da persistência de infecção é feita por meio de métodos de biologia molecular, testes pelos quais detectam o RNA viral e que também podem ser importantes nas situações em que os testes sorológicos apresentam resultados indeterminados, confirmando então a infecção. Os testes de biologia molecular não são somente indispensáveis na confirmação da infecção persistente pelo VHC, como também na utilização do acompanhamento no tratamento para verificar o bom resultado terapêutico (MIRANDA, 2008; SCAVASSA, 2009).

Após a infecção, o único e melhor marcador disponível é o RNAVHC, o qual é identificado no soro depois da segunda semana de infecção e cuja determinação pode ser feita por ensaios baseados em reação em cadeia mediada pela polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR). A manutenção do RNA-VHC por mais de seis meses depois da infecção é característica de infecção crônica (MIRANDA, 2008).

#### 3.2.1 Exames Sorológicos e imunológicos

O diagnóstico da hepatite C requer um teste bastante sensível. Inicialmente, o diagnóstico sorológico pode ser feito através da pesquisa de anticorpos anti-VHC, utilizando

testes comerciais de EIE (ensaio imunoenzimático), que são os ELISA, os quais empregam antígenos virais recombinantes e tem vantagens como rapidez no processamento, facilidade de automação, grande confiabilidade e custo relativamente baixo. A metodologia utilizada no desenvolvimento desses ensaios está fundamentada na organização genômica do VHC (BRANDÃO, *et al.*, 2001; SARACENI, 2001).

Este método pode atingir uma sensibilidade de até 97%, mas serve somente na indicação da exposição prévia ao vírus, tendo a desvantagem de resultados falso-positivos, por haver ligações inespecíficas entre imunoglobulinas presentes no soro ou plasma e contaminantes das preparações antigênicas dos kits ou regiões não-específicas dos antígenos recombinantes. Também pode ocorrer resultados falso-negativos quando o diagnóstico é feito no período de janela imunológica ou em casos de imunossupressão e imunodeficiência. Para avaliar possíveis resultados falso-positivo do teste ELISA e complementar o diagnóstico sorológico, modificações da técnica de Western Blot, como o RIBA (Imuno-blot recombinante) também pode ser utilizada para a detecção de anticorpos. Neste caso, existe uma especificidade alta, mas a sensibilidade é mais baixa que no teste ELISA. Com o teste RIBA positivo, é confirmada a reatividade anti-VHC específica. Estes testes não estão sendo muito utilizados na prática clínica, pois se eles forem indeterminados ou negativos, com o teste ELISA inicialmente positivo, pode ocorrer que o paciente esteja em um período antes da soroconversão ou ainda, não possuir uma resposta suficiente de anticorpos, como por exemplo em pacientes transplantados. Com um resultado de anti-VHC positivo por ELISA, a avaliação custo benefício do fluxograma indica a realização da pesquisa do RNA-VHC qualitativa (PCR-HCV qualitativo), pois este comprova a existência de viremia atual, confirmando a infecção (SCAVASSA, 2009)

Os testes ELISA não detectam todas as pessoas infectadas com o VHC e, como não há padronização na produção de antígenos entre os vários fabricantes, os resultados podem variar, principalmente em grupos com baixo risco de infecção (BRANDÃO, *et al.* 2001).

A tabela a seguir apresenta os marcadores sorológicos em cada fase clínica das hepatites B e C.

**Tabela 4:** Diagnóstico Laboratorial das Hepatites B e C.

<b>DIAGNÓSTICO LABORATORIAL</b>		
<b>Fase Clínica</b>	<b>Hepatite B</b>	<b>Hepatite C</b>
<b>Infecção Aguda</b>	AgHBs (+) ou anti-HBc IGM (+)	Anti-VHC (+)*
<b>Infecção Crônica</b>	AgHBs (+) por pelo menos 6 meses	Anti-VHC (+) + VHC-RNA qualitativo (+)**
<b>Replicação Viral</b>	Anti-HBe (+) ou VHB-DNA >100.000 partículas/ml	VHC-RNA qualitativo (+)
<b>Infecção Anterior</b>	Anti-HBs (+) (marcador de imunidade) Anti-HBc IgG (+)***	Anti-VHC (+) + VHC-RNA qualitativo (-)

Fonte: Tratamento Hoje, 2003

\* O anti-VHC deve ser utilizado como exame de triagem, pois não existe exame específico para a fase aguda. Caso o anti-VHC seja positivo, é necessária a realização do VHC-RNA qualitativo para confirmação da infecção.

\*\* Não existe na literatura definição do período necessário para se considerar a infecção pelo VHC como crônica. Por analogia com a hepatite B, utiliza-se o período de 6 meses.

\*\*\* Pouco disponível comercialmente; pode-se utilizar o anti-HBc total.

### 3.2.2 Exames por Biologia Molecular

Os testes por Biologia Molecular são utilizados na Hepatite C para diagnóstico inicial, diagnóstico de transmissão vertical do vírus C, diagnóstico em casos de acidente ocupacional, monitoramento terapêutico, diagnóstico em imunossuprimidos e caracterização genotípica do HCV (SOARES, 2009).

Um dos primeiros vírus descobertos pelas técnicas de biologia molecular foi o VHC e a detecção do RNA viral é considerada o “padrão ouro” entre os métodos existentes de identificação do VHC, através da PCR, pois tem a capacidade de detectar pequenas quantidades de vírus no soro, durante as primeiras semanas após a exposição ao vírus. Além do teste qualitativo, o teste quantitativo (determinação da carga viral) e a determinação do genótipo, são instrumentos valiosos para o acompanhamento clínico do paciente (SCAVASSA, 2009; BRANDÃO, *et al.*, 2001; SARACENI, 2001).

As técnicas mais utilizadas para esta finalidade são: hibridização, reação em cadeia da polimerase (PCR), PCR em tempo real (RT-PCR), amplificação mediada por transcrição (TMA) e DNA ramificado (b-DNA). Além da detecção e da quantificação do genoma viral, é possível realizar ainda a sua caracterização, o que permite a classificação dos diferentes genótipos e subtipos do VHC (SCAVASSA, 2009).

Testes moleculares qualitativos informam a presença ou ausência do vírus na amostra pesquisada. A reação de PCR que detecta o RNA do vírus VHC possui alta

sensibilidade e especificidade, sendo possível a identificação do vírus em uma ou duas semanas após a infecção, porém diminui com o surgimento de anticorpos, podendo não ser detectado em até 15% das infecções agudas e a positividade deste teste indica habitualmente doença ativa. A PCR qualitativa tem limite de detecção menor que a PCR quantitativa. A PCR qualitativa também pode ser utilizada na avaliação de resposta virológica ao final de alguns tipos de tratamento. Os pacientes que tiver resultado negativo serão considerados respondedores, contudo o exame é repetido 24 semanas após o fim do tratamento para avaliar resposta virológica sustentada. Se o teste for positivo neste momento, os pacientes serão considerados recidivantes. A PCR qualitativa é indicada principalmente na diferenciação entre uma infecção crônica daquela com resolução espontânea em indivíduos soropositivos, acompanhamento de tratamento na avaliação da eficácia, nos casos de hepatite aguda antes de soroconversão, diagnóstico em imunodeprimidos, resultados imunológicos indeterminados, e investigação em recém-nascidos (transferência passiva da mãe) (SCAVASSA, 2009; SOARES, 2009).

Os testes moleculares quantitativos revela a carga viral presente na amostra. O nível de RNA do VHC no soro ou no plasma indica as taxas de replicação viral e de eliminação do vírus pelo hospedeiro. Basicamente duas técnicas de biologia molecular foram desenvolvidas para a quantificação do VHC: uma utiliza a tecnologia da PCR e a outra, a do DNA ramificado. Esses testes são empregados em algumas formas de tratamento na avaliação da resposta virológica precoce na 12ª semana, definida como: negatificação ou redução de 2 log (100 vezes) do HCV-RNA, em relação ao nível pré-tratamento. É imprescindível que seja sempre utilizado o mesmo método para acompanhamento de cada paciente, porque os resultados podem diferenciar de um para outro (SOARES, 2009; BRANDÃO, *et al.*, 2001).

As técnicas moleculares podem também ser aplicadas para definir o genótipo do vírus. A genotipagem é empregada na seleção do esquema terapêutico que mais se adéqua ao paciente e, por isso, tem que ser solicitada apenas em candidatos ao tratamento. A grande diversidade genética do VHC ocasiona uma série de implicações no diagnóstico, tratamento, patogênese e desenvolvimento de vacinas. As técnicas de genotipagem possibilitam reconhecer os variados tipos e subtipos do vírus. Haja vista que cada tipo do VHC responde de forma diferente ao tratamento, a genotipagem cumpri um importante papel na definição da terapia antiviral a ser utilizada no tratamento da hepatite C crônica e de sua duração (SOARES, 2009; SARACENI, 2001).

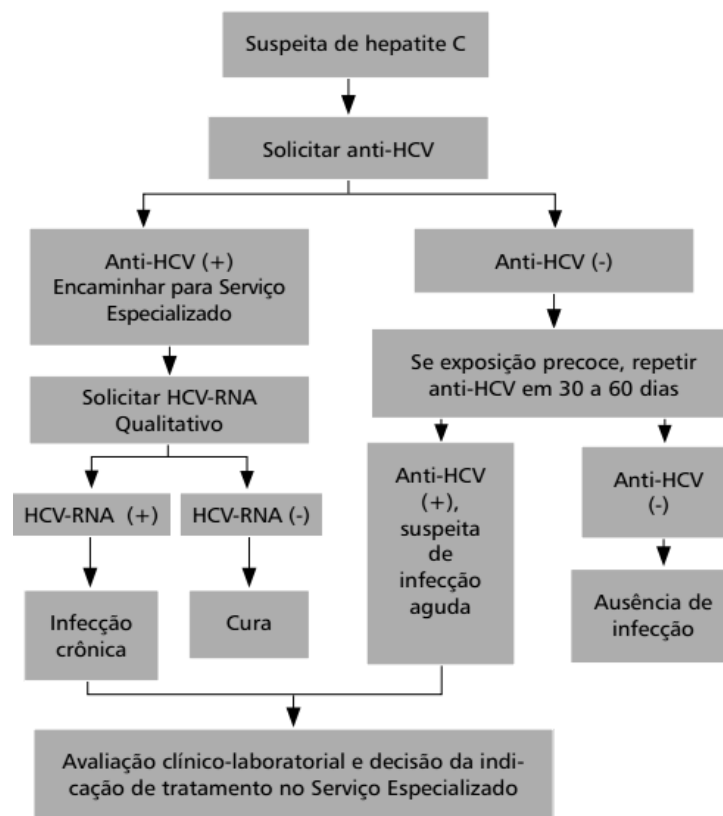
A tabela a seguir apresenta a interpretação de testes diagnósticos para hepatite C.

**Tabela 5:** Interpretação dos testes diagnósticos da hepatite C

Interpretação	EIE	RIBA	VHC - RNA	ALT
<b>Hepatite C Crônica</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Elevada
<b>Portador do VHC</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Normal
<b>Cura da infecção pelo VHC</b>	Positivo	Positivo	Negativo	Normal
<b>Anti-VHC falso-positivo</b>	Positivo	Negativo	Negativo	Normal

Fonte: SACARANI, 2001

Segue abaixo um fluxograma exemplificando a investigação laboratorial para hepatite C.

**Figura 1:** Fluxograma de investigação laboratorial da hepatite C

Fonte: Hepatites virais: o Brasil está atento/Ministério da Saúde, 2008



## CONCLUSÃO

Com base nesse presente estudo concluiu-se que o diagnóstico das hepatites B e C completa-se com a realização de exames laboratoriais, com a finalidade de confirmar, caracterizar a doença e a sua gravidade. Portanto, os testes são utilizados não apenas para determinar o diagnóstico da infecção mas, também, no manejo dos pacientes. A disponibilidade de diferentes testes viabiliza o diagnóstico precoce, diminuindo o potencial para disseminação da infecção. Os diagnósticos laboratoriais específicos para as hepatites descritas nesse artigo, são os sorológicos e os de Biologia Molecular.

O diagnóstico sorológico, são testes imunológicos que detectam antígenos virais e anticorpos específicos presentes na amostra de soro ou plasma do paciente, permitindo o diagnóstico etiológico das hepatites e o acompanhamento da evolução da infecção. Os métodos utilizados podem ser: hemaglutinação, radioimunoensaio, quimioluminescência e imunoenzimático.

Os testes de biologia molecular são empregados na detecção da presença do ácido nucléico do vírus (DNA para o vírus da hepatite B e RNA para os demais vírus da hepatite). Podem ser qualitativos (indicam a presença ou ausência do vírus na amostra pesquisada), quantitativos (indicam a carga viral presente na amostra) ou de genotipagem (indicam o genótipo do vírus). Algumas técnicas utilizadas para realização destes testes são, PCR, hibridização, b-DNA, etc.

É considerável que todos profissionais da saúde estejam atualizados quanto aos diagnósticos das hepatites, uma vez que de acordo com esse estudo é umas das doenças a qual representam grave problema mundial de saúde pública, por isso é importante que se faça o diagnóstico principalmente precocemente, pois permite o acompanhamento e o tratamento mais adequando.

## BIBLIOGRAFIA

- BRANDÃO, A. B. M., *et al.* Diagnóstico da hepatite C na prática médica: revisão da literatura. **Revista Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health**. v.9 n.3, 2001
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Hepatites virais: o Brasil está atento**. 3.ed. 60p. Série B. Brasília, DF, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. 816p. Série A. Brasília, DF, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Programa Nacional de Hepatites Virais. **Hepatites Virais: o Brasil está atento**. Série A. Brasília, DF, 2002.
- FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S. Avanços no tratamento da hepatite pelo vírus B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 40 n.4 p.451-462, jul-ago, 2007
- FERREIRA, C. T.; SILVEIRA, T.R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. **Revista Brasileira Epidemiologica**. v. 7. n. 4. p. 473-487, 2004.
- FERREIRA, M. S., Diagnóstico e tratamento da hepatite B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 33 n.4 p.389-400, Uberlândia, MG, jul-ago, 2000.
- JÚNIOR, G. M. B. **Hepatite Crônica B oculta: Estudo Clínico, epidemiológico, histopatológico e molecular em doentes com diagnóstico de Hepatite Crônica da demanda da fundação de medicina tropical do Amazonas**. 2005. 75p. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais e Infeciosas), Universidade do Estado do Amazonas em convênio com a Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, Amazonas, 2005.
- MIRANDA, N. G. P. **Soroprevalência da infecção pelo vírus da Hepatite B e vírus da Hepatite C em mulheres profissionais do sexo em Augusto Corrêa, Barcarena, Belém e Bragança - Pará, Brasil**. 2008. 98p. Dissertação (Mestrado em Biologia de Agentes Infeciosos e Parasitários), Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2008.
- SCAVASSA, C. R. F. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus da Hepatite C, **AC&T CIENTÍFICA**, vol 3 n. 1, Ribeirão Preto, 2009.
- SARACENI, C.P. **Vigilância das Hepatites Virais: a experiência de vargem grande paulista,1997-1999**. 2001, 120p. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia), Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS. Superintendência de Epidemiologia. **Guia estadual de orientações técnicas das hepatites virais**, 2ª Ed. Belo Horizonte, MG, 2007.

SOARES, L. M.; COLLARES, G, B. Diagnóstico Laboratorial da Hepatite C. **Lab.com. Informativo Digital**. v. 08, ago. 2009. Disponível em: <[www.labrede.com.br](http://www.labrede.com.br)> Acesso em 13 de out. de 2012.

TRATAMENTO HOJE. Boletim terapêutico de HIV/Aids, DST e hepatites virais. Hepatites virais crônicas: diagnóstico e tratamento atual. São Paulo, **Sociedade Brasileira de Infectologia**. 2002 - Ano 1, n. 04, dezembro, 2003.