



MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE

Módulo 9: Infecções Virais



**MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA
O CONTROLE DE INFECÇÃO
RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE**

Módulo 9: Infecções Virais

Copyright © 2013 Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial ou total dessa obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

A responsabilidade pelos direitos autorais de textos e imagens dessa obra é da área técnica.

A Anvisa, igualmente, não se responsabiliza pelas idéias contidas nessa publicação.

1ª edição – 2010

Elaboração, distribuição e informações:

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

SIA Trecho 5, Área Especial 57

CEP: 71205-050 Brasília – DF

Tel.: (61) 3462-6000

Home page: www.anvisa.gov.br

Diretoria

Dirceu Brás Aparecido Barbano – Diretor-Presidente

Jaime Cesar de Moura Oliveira

José Agenor Álvares da Silva

Adjuntos de Diretor

Luiz Roberto Klassmann

Luciana Shimizu Takara

Neilton Araujo de Oliveira

Doriane Patricia Ferraz de Souza

Redação:

Eurico de Arruda Neto – Universidade de São Paulo (USP-Ribeirão Preto)-SP

Hugo dos Reis Resque – Universidade de São Paulo (USP)-SP

José Luiz Proença Módena – Universidade de São Paulo (USP-Ribeirão Preto)-SP

Juliana Galera Castilho – Universidade de São Paulo(USP)-SP

Maria Lucia Rácz – Universidade de São Paulo(USP)-SP

Miriã Ferreira Criado – Universidade de São Paulo (USP-Ribeirão Preto)-SP

Thabata Alessandra Ramos Caruso – Universidade de São Paulo(USP)-SP

Veridiana Munford – Universidade de São Paulo(USP)-SP

Revisão técnica – Anvisa:

André Anderson Carvalho

Fabiana Cristina de Sousa

Heiko Thereza Santana

Magda Machado de Miranda

Suzie Marie Gomes

Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde – GGTES

Diana Carmem Almeida Nunes de Oliveira

Gerência de Vigilância e Monitoramento em Serviços de Saúde – GVIMS

Magda Machado de Miranda Costa

Cooperação técnica:

Termo de Cooperação nº 64

Organização Pan-Americana da Saúde

Organização Mundial da Saúde

Representação Brasil

Joaquin Molina – Representante

Enrique Vazquez – Coordenador da Unidade Técnica de Doenças Transmissíveis e

Não-Transmissíveis e Análise de Situação de Saúde

Rogério da Silva Lima – Consultor Nacional da Unidade Técnica de Doenças

Transmissíveis e Não-Transmissíveis e Análise de Situação de Saúde

Coordenação Técnica:

Ana Clara Ribeiro Bello dos Santos – Anvisa

Carlos Emílio Levy – Universidade de Campinas-SP

Projeto Gráfico e Diagramação:

All Type Assessoria Editorial Ltda

Capa:

Camila Contarato Burns – Anvisa

Ficha Catalográfica

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 9: Infecções Virais /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013.

150p.: il.9 volumes

ISBN

1. Infecção Relacionada à Assistência à Saúde – Controle. 2. Infecção em Serviços de Saúde. 3. Microbiologia Clínica. 4. Vigilância Sanitária em Serviços de Saúde. 5. Resistência microbiana. I. Título.

SUMÁRIO

Apresentação	7
Capítulo 1: Infecção por Vírus de Transmissão Respiratória	9
1.1	Introdução.....9
1.2	Vírus Sincicial Respiratório11
1.2.1	O agente11
1.2.2	Principais vias de transmissão14
1.3	Diagnóstico laboratorial.....14
1.3.1	Coleta14
1.3.2	Transporte e armazenamento15
1.3.3	Métodos de diagnóstico18
1.3.4	Principais Medidas de Controle.....19
1.4	Vírus Influenza20
1.4.1	O agente20
1.4.2	Principais vias de transmissão22
1.4.3	Diagnóstico laboratorial.....23
1.4.4	Principais Medidas de Controle.....24
1.5	Parainfluenza Humano25
1.5.1	O agente25
1.5.2	Principais vias de transmissão26
1.5.3	Diagnóstico laboratorial.....26
1.5.4	Principais Medidas de Controle.....27
1.6	Rinovirus.....28
1.6.1	O agente28
1.6.2	Principais vias de transmissão29
1.6.3	Diagnóstico laboratorial.....29
1.6.4	Principais Medidas de Controle.....30
1.7	Coronavírus humano30
1.7.1	O agente30
1.7.2	Principais vias de transmissão32
1.7.3	Diagnóstico laboratorial.....32
1.7.4	Principais Medidas de Controle.....33
1.8	Adenovírus Respiratório33
1.8.1	O agente33
1.8.2	Principais vias de transmissão35
1.8.3	Diagnóstico laboratorial.....35
1.8.4	Principais Medidas de Controle.....35
1.9	Metapneumovirus Humano36
1.9.1	O agente36
1.9.2	Principais vias de transmissão37

1.9.3	Diagnóstico laboratorial.....	37
1.9.4	Principais Medidas de Controle.....	38
1.10	Bocavirus Humano.....	38
1.10.1	O agente.....	38
1.10.2	Principais vias de transmissão.....	39
1.10.3	Diagnóstico laboratorial.....	39
1.10.4	Principais Medidas de Controle.....	40
1.11	Sarampo.....	40
1.11.1	O agente.....	40
1.11.2	Principais vias de transmissão.....	41
1.11.3	Diagnóstico laboratorial.....	42
1.11.4	Principais medidas de controle.....	42
1.12	Caxumba.....	43
1.12.1	O agente.....	43
1.12.2	Principais vias de transmissão.....	44
1.12.3	Diagnóstico laboratorial.....	45
1.12.4	Principais medidas de controle.....	45
1.13	Rubéola.....	46
1.13.1	O agente.....	46
1.13.2	Principais vias de transmissão.....	47
1.13.3	Diagnóstico laboratorial.....	47
1.13.4	Principais medidas de controle.....	48
1.14	Parvovírus B19.....	49
1.14.1	O agente.....	49
1.14.2	Principais vias de transmissão.....	50
1.14.3	Diagnóstico laboratorial.....	50
1.14.4	Principais medidas de controle.....	51
1.15	Referências Bibliográficas.....	52

Capítulo 2: Vírus de Transmissão Fecal-Oral 65

2.1	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde pelos vírus de transmissão fecal-oral.....	65
2.2	Rotavírus.....	66
2.2.1	Agente.....	66
2.2.2	Principais vias de transmissão e características clínicas.....	68
2.2.3	Diagnóstico laboratorial.....	70
2.2.4	Principais medidas de controle.....	71
2.3	Norovírus e Sapovírus.....	73
2.3.1	Agente.....	73
2.3.2	Principais vias de transmissão e características clínicas.....	76
2.3.3	Diagnóstico laboratorial.....	78
2.3.4	Principais medidas de controle.....	79

2.4	Astrovírus.....	80
2.4.1	Agente	80
2.4.2	Principais vias de transmissão e características clínicas	81
2.4.3	Diagnóstico laboratorial.....	81
2.4.4	Principais medidas de controle	83
2.5	Enterovírus	83
2.5.1	Agente	83
2.5.2	Principais vias de transmissão e características clínicas	84
2.5.3	Diagnóstico laboratorial.....	88
2.5.4	Principais medidas de controle	89
2.6	Hepatite A	90
2.6.1	Agente	90
2.6.2	Principais vias de transmissão e características clínicas	91
2.6.3	Diagnóstico laboratorial.....	92
2.6.4	Principais medidas de controle	92
2.7	Hepatite E.....	93
2.7.1	Agente	93
2.7.2	Principais vias de transmissão e características clínicas	93
2.7.3	Diagnóstico laboratorial.....	94
2.8	Referências Bibliográficas.....	95

Capítulo 3: Vírus de Transmissão Parenteral 97

3.1	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde pelos vírus de transmissão parenteral.....	97
3.2	Hepatite B	98
3.2.1	Agente	98
3.2.2	Principais vias de transmissão e características clínicas	99
3.2.3	Diagnóstico laboratorial.....	101
3.2.4	Principais medidas de controle	101
3.3	Hepatite C	103
3.3.1	Agente	103
3.3.2	Principais vias de transmissão e características clínicas	104
3.3.3	Diagnóstico laboratorial.....	105
3.3.4	Principais medidas de controle	106
3.4	Hepatite D	107
3.4.1	Agente	107
3.4.2	Principais vias de transmissão e características clínicas	108
3.4.3	Diagnóstico laboratorial.....	109
3.4.4	Principais medidas de controle	109
3.5	Outros vírus causadores de hepatites	109
3.6	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).....	110
3.6.1	Agente	110
3.6.2	Principais vias de transmissão e características clínicas	111

3.6.3	Diagnóstico laboratorial.....	115
3.6.4	Principais medidas de controle.....	116
3.7	Vírus T-linfotrópicos humanos (HTLV-1 e HTLV-2).....	118
3.7.1	Agente.....	118
3.7.2	Principais vias de transmissão e características clínicas.....	119
3.7.3	Diagnóstico laboratorial.....	121
3.7.4	Principais medidas de controle.....	121
3.8	Referências Bibliográficas.....	123

Capítulo 4: Herpesvírus 125

4.1	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde pelos herpesvírus.....	125
4.2	Características gerais dos herpesvírus.....	126
4.3	Herpesvírus humanos tipos 1 e 2 (HHV-1, HHV-2).....	127
4.3.1	Agente.....	127
4.3.2	Principais vias de transmissão e características clínicas.....	127
4.3.3	Diagnóstico laboratorial.....	130
4.3.4	Principais medidas de controle.....	130
4.4	Vírus da varicela-zoster (HHV-3).....	131
4.4.1	Agente.....	131
4.4.2	Principais vias de transmissão e características clínicas.....	131
4.4.3	Diagnóstico laboratorial.....	133
4.4.4	Principais medidas de controle.....	133
4.5	Vírus Epstein-Barr (HHV-4).....	135
4.5.1	Agente.....	135
4.5.2	Principais vias de transmissão e características clínicas.....	135
4.5.3	Diagnóstico laboratorial.....	136
4.5.4	Principais medidas de controle.....	137
4.6	Citomegalovírus (HHV-5).....	138
4.6.1	Agente.....	138
4.6.2	Principais vias de transmissão e características clínicas.....	138
4.6.3	Diagnóstico laboratorial.....	141
4.6.4	Principais medidas de controle.....	142
4.7	Herpesvírus humanos tipos 6 e 7 (HHV-6, HHV-7).....	143
4.7.1	Agente.....	143
4.7.2	Principais vias de transmissão e características clínicas.....	143
4.7.3	Diagnóstico laboratorial.....	145
4.7.4	Principais medidas de controle.....	146
4.8	Herpesvírus associado ao Sarcoma de Kaposi (HHV-8).....	146
4.8.1	Agente.....	146
4.8.2	Principais vias de transmissão e características clínicas.....	146
4.8.3	Diagnóstico laboratorial.....	148
4.8.4	Principais medidas de controle.....	148
4.9	Referências Bibliográficas.....	150

APRESENTAÇÃO

A resistência microbiana é um grave problema mundial, estando associada ao aumento do tempo de internação, dos custos do tratamento e das taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes. O uso indiscriminado e incorreto dos antimicrobianos na comunidade e no ambiente hospitalar é reconhecidamente um importante fator de risco para o aparecimento e a disseminação da resistência microbiana.

Nesse contexto, insere-se o Laboratório de Microbiologia, que tem como objetivo não apenas apontar o responsável por um determinado estado infeccioso, mas também indicar, através do monitoramento de populações microbianas, qual o perfil dos micro-organismos que estão interagindo com o organismo humano, possibilitando a indicação de tratamentos mais adequados. Para o desempenho satisfatório dessa função, é fundamental que os laboratórios de microbiologia possuam estrutura capaz de estabelecer informações sobre a melhor amostra biológica, reconhecer a microbiota e os contaminantes, identificar micro-organismos associados à infecção ou com propósitos epidemiológicos, obter resultados rápidos em casos de emergência, realizar o transporte rápido das amostras e manter uma educação contínua em relação aos aspectos da infecção relacionada à assistência à saúde.

Tendo em vista esses aspectos e considerando que a microbiologia é um campo muito dinâmico, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, em cooperação com a Organização Pan-Americana da Saúde – OPAS, propõe a terceira revisão do Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde, buscando atualizar informações nos temas considerados essenciais e contando com um seleto e conceituado corpo editorial. O manual é composto por nove módulos, a saber: Módulo 1 – Biossegurança e manutenção de equipamentos em laboratório de microbiologia clínica; Módulo 2 – Controle externo da qualidade; Módulo 3 – Principais Síndromes Infecciosas; Módulo 4 – Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final; Módulo 5 – Tecnologias em Serviços de Saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos; Módulo 6 – Detecção e identificação de bactérias de importância médica; Módulo 7 – Detecção e identificação de micobactérias de importância médica; Módulo 8 – Detecção e identificação de fungos de importância médica e Módulo 9 – Infecções virais.

A Anvisa e a OPAS esperam com essa publicação contribuir para que os laboratórios de microbiologia possam assimilar e alcançar novos níveis de complexidade laboratorial, atendendo às exigências e características próprias de cada unidade hospitalar, além de subsidiar a adoção de procedimentos básicos padronizados nesses serviços.



Capítulo 1:

Infecção por Vírus de Transmissão Respiratória

*Eurico Arruda
José Luiz Proença Módena
Miriã Ferreira Criado*

1.1 Introdução

Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde acontecem em todo o mundo e afetam tanto países desenvolvidos como países em desenvolvimento, constituindo sobrecarga importante para o sistema de saúde. Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) dão conta de que em média 8.7% de todos os pacientes hospitalizados têm alguma infecção nosocomial. Além disso, as infecções adquiridas em hospitais estão entre as principais causas de morte e de aumento do tempo de hospitalização. As infecções nosocomiais mais frequentes são aquelas associadas com o uso de cateteres urinários (infecções urinárias), seguidas pelas infecções oriundas de procedimentos cirúrgicos e do trato respiratório inferior.

As infecções nosocomiais adquiridas por via respiratória ocorrem em diferentes grupos de pacientes e são particularmente preocupantes entre os que estão utilizando suporte ventilatório em unidades de tratamento intensivo, onde a taxa de pneumonia nosocomial gira em torno de 3%, com alta letalidade.

Infecções nosocomiais podem ser causadas por bactérias, vírus, fungos e parasitas, sendo as bactérias os mais frequentes agentes, principalmente pela existência de muitas espécies comensais que podem causar infecção após processos hospitalares rotineiros de diagnóstico e tratamento.

A verdadeira proporção de infecções nosocomiais causada por agentes infecciosos não bacterianos não é totalmente conhecida. Isso é mais evidente em se tratando de vírus, especialmente pela falta de métodos de diagnóstico virológico de rotina na maioria dos hospitais.

Estudos recentes vêm mostrando a importância dos vírus como causadores de infecções relacionadas à assistência à saúde. Monitoramentos rotineiros de vírus demonstram que 5% a 32% de todas as infecções nosocomiais são causadas por esses agentes. As unidades pediátricas e as unidades para idosos são particularmente propensas à introdução sazonal e disseminação de infecções nosocomiais virais. Surto de infecção nosocomial causados por vírus tendem a ocorrer simultaneamente aos surtos desses agentes na comunidade. A aplicação de técnicas laboratoriais que possibilitem a caracterização genotípica e fenotípica dos vírus, em conjunto com o estudo dos dados dos pacientes possibilita estudos epidemiológicos acurados de surtos nosocomiais desses agentes, contribuindo com evidências definitivas das suas fontes e vias de transmissão.

A importância dos vírus transmitidos pela via respiratória como agentes causadores de infecção nosocomial foi durante muito tempo negligenciado pelos órgãos responsáveis. Entretanto, esse quadro está mudando e hoje, devido à facilidade de disseminação e ao curto período de incubação, esses agentes são considerados problemas sérios no âmbito do controle de infecções nosocomiais. A transmissão desses agentes ocorre, predominantemente, por pequenos ou grandes perdigotos. Os pequenos perdigotos contendo partículas virais infecciosas são gerados principalmente por tosse ou durante a fala e podem ser dispersos a distâncias consideráveis. Já os grandes perdigotos, gerados por espirros e tosse, estão mais envolvidos na transmissão dependente de contaminação de superfícies adjacentes ao paciente, podendo resultar em inoculação direta dos agentes nas vias respiratórias de hospedeiros suscetíveis. Na maioria das vezes, a transmissão por grandes perdigotos envolve a contaminação das mãos de pacientes, médicos, outros profissionais da saúde, visitantes e voluntários, e são reflexo da falha no processo de higienização das mãos entre o contato com diferentes pacientes.

A prevenção das infecções virais respiratórias geradas dentro de um hospital ou qualquer outra instituição de saúde pode ser maximizada pela adoção de algumas medidas gerais de controle. A mais importante é uma detalhada e continuada educação de todos os profissionais de saúde para adesão em massa às técnicas de controle de infecções nosocomiais, sob comando de pessoal dedicado, responsável das comissões de controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Devem ser enfatizados os métodos, de higienização das mãos depois do contato com cada paciente e a adoção de medidas de higiene, tais como não comer, beber, aplicar cosméticos, colocar lentes de contato em áreas hospitalares ou laboratoriais. O acesso imediato a laboratórios de virologia para um pronto diagnóstico do agente viral em questão é essencial para que medidas de controle possam ser adotadas, tais como o isolamento ou relocação de pacientes, investigações epidemiológicas acerca da fonte e disseminação da infecção. Isso pode minorar o impacto da disseminação descontrolada dessas infecções.

Sabe-se que um único paciente infectado com um vírus respiratório pode representar risco em potencial para muitos outros pacientes, devido à facilidade de transmissão desses agentes. Por isso, algumas medidas gerais de manejo desses pacientes devem ser consideradas. Em condições ideais, pacientes infectados deveriam ser agrupados e isolados dos demais, com a sua própria equipe de enfermagem. Os pacientes certamente não infectados deveriam ser separados dos enfermos que entraram em contato com os infectados, reduzindo chances de surtos secundários. Quando se trata de vírus respiratórios de alta patogenicidade, como por exemplo SARS-HCoV ou influenza aviária H5N1, o alojamento de enfermos em quartos com pressão negativa é aconselhado. Condições ideais não são alcançadas na maioria dos hospitais do mundo, principalmente em países em desenvolvimento. Além disso, as infecções nosocomiais causadas por vírus respiratórios tendem a ocorrer em surto, acometendo grande número de pacientes em curto intervalo de tempo, dificultando ainda mais esse tipo de manejo dos pacientes. Nesses casos, também é recomendado ao menos minimizar os contatos entre infectados e não infectados, ainda que tenham de ser redistribuídos no mesmo quarto ou enfermaria. Quando possível, funcionários de saúde não devem cuidar de ambos os grupos de pacientes. A higienização das mãos imediatamente após lidar com cada paciente e o acesso a luvas e jalecos descartáveis são medidas simples e eficazes. Além disso, durante surtos de vírus respiratórios na comunidade, o acesso de visitantes e pessoas possivelmente infectadas aos pacientes, especialmente os de maior risco para infecções graves, deveria ser restrito e, quando permitido, a higienização de mãos deve ser obrigatória.

Esse texto foi elaborado como uma fonte básica de informação sobre os principais vírus de transmissão respiratória, resumindo as características de cada um, principais vias de transmissão, métodos de diagnóstico laboratorial e as principais medidas de controle a serem consideradas.

1.2 Vírus Sincial Respiratório

1.2.1 O agente

O vírus sincial respiratório humano (HRSV) é um vírus de RNA de polaridade negativa, não segmentado, pertencente à família *Paramyxoviridae*, subfamília *Pneumovirinae*, gênero *Pneumovirus*. Microscopia eletrônica de transmissão revela que HRSV consiste em partículas semiesféricas irregulares, com diâmetro de 150 a 300 nm, com envelope lipídico, contendo nucleocapsídeos helicoidais com genoma em torno de 15,2 kb que codifica 10 mRNAs que são traduzidos em 11 proteínas distintas, denominadas G, F, SH, M, N, P, L, M2-1, M2-2, NS1 e NS2.

Variações antigênicas na glicoproteína G permitem a classificação de HRSV em dois grupos, A e B, os quais são subdivididos em diversos genótipos. A proteína G está envolvida com a aderência do vírus à superfície celular da célula hospedeira. Trabalhos mostraram que anticorpos dirigidos contra essa proteína bloqueiam a ligação do vírus a células Hela. Porém, um mutante de HSRV sem a proteína G tem habilidade de replicar-se eficientemente em culturas de células, indicando que o papel dessa proteína não é essencial à infecção por HRSV “in vitro”. Recentemente, foi descoberto que a proteína F também é responsável pela ligação do vírus à célula, via nucleolina como receptor. A principal função da proteína F do HRSV é mediar a penetração viral por promover a fusão entre o envelope viral e a membrana plasmática da célula hospedeira, permitindo a internalização do nucleocapsídeo no citoplasma. Além disso, a expressão da proteína F na superfície da célula infectada também medeia a fusão entre células adjacentes, o que dá origem a sincícios facilmente visíveis em culturas celulares, um efeito citopático característico que dá nome ao vírus.

Uma vez no citoplasma da célula hospedeira o RNA de polaridade negativa do HRSV é transcrito por uma polimerase viral (proteína L) em RNAs mensageiros (mRNA) que vão dirigir a síntese proteica viral. Essa transcrição do genoma se dá de modo sequencial tipo “stop-re-start”, no qual a polimerase é guiada por sinais em “cis” para a produção de mRNAs sub-genômicos, de tal modo que genes localizados mais próximos da extremidade 5’ são expressos em menor quantidade.

Além dos mRNAs durante o ciclo replicativo do HRSV são geradas moléculas de RNA de polaridade positiva do tamanho do genoma (RNA complementar ou cRNA), o qual serve de molde para a síntese de genomas de polaridade negativa, que formarão a progênie viral. Com a progênie viral formada, o brotamento ocorre através da membrana plasmática da célula hospedeira, onde os vírions adquirem o seu envelope e as suas glicoproteínas de superfície (G, F e SH).

HRSV é o mais importante vírus causador de doença respiratória pediátrica grave no mundo. Esse vírus infecta aproximadamente 50% das crianças durante o primeiro ano de vida e praticamente todas até os dois anos de idade. Estima-se que 30% de todas as crianças terão uma infecção por HRSV que requererá atenção médica e que 2% delas serão hospitalizadas. No Brasil, esse vírus é a principal causa de infecção do trato respiratório inferior em crianças menores de um ano e é responsável por 85% das hospitalizações nesse grupo de crianças durante os meses de grande circulação desse patógeno. Em países de clima temperado, HRSV tende a circular durante o inverno e início

da primavera, com apenas alguns casos esporádicos durante o resto do ano. Na maior parte do Brasil, HRSV ocorre sazonalmente de fevereiro até julho depois da temporada de chuvas e quando temperaturas tendem a ser mais baixas. Em regiões mais frias, como no sul do Brasil, o pico de atividade de HRSV tende a ocorrer nos meses de julho e agosto.

Quando bebês saudáveis tornam-se infectados com HRSV, a grande maioria exibe sintomas de resfriado comum, com coriza, tosse moderada, podendo acompanhar-se de febre baixa e chiado brônquico, e a recuperação ocorre normalmente dentro de algumas semanas. Entretanto, em alguns pacientes, o acometimento do trato respiratório inferior leva ao desenvolvimento de manifestações clínicas mais graves, como bronquiolite e/ou pneumonia. Esses casos são, geralmente, caracterizados pela presença de taquipnéia, dispnéia, chiado e falta de ar, e nos casos de maior gravidade pela presença de retrações de músculos intercostais e cianose. A radiografia do tórax pode mostrar alterações compatíveis com pneumonia com zonas de hiper-aeração.

Crianças que possuem anormalidades do trato respiratório, tais como fibrose cística, displasia broncopulmonar, crianças com doenças cardíacas congênitas e bebês prematuros, que possuem um pequeno diâmetro dos bronquíolos, são mais suscetíveis a desenvolver doença grave por HRSV. Além disso, a infecção por HRSV é uma importante causa de morbidade e mortalidade em pessoas idosas e imunodeprimidas. Somado a tudo isso, a infecção grave por HRSV é considerada importante na gênese da asma brônquica.

Apesar da grande importância clínica, os mecanismos associados à patogênese de doença grave por HRSV ainda são pouco conhecidos. Essa dificuldade deve-se à multiplicidade de fatores que afetam o curso da doença causada por esse vírus, tais como anatomia cardiopulmonar, resposta imune gerada contra o vírus e efeitos virais diretos na fisiologia da célula infectada.

A replicação do HRSV ocorre principalmente em células epiteliais do trato respiratório, com títulos virais que podem chegar a 10^6 TCID₅₀/mL em secreções nasais de crianças infectadas. A replicação desse vírus no epitélio bronquiolar provoca necrose das células ciliadas, formação de sincícios e inflamação peribronquiolar, resultando em dificuldade de drenagem da secreção e consequente obstrução de bronquíolos, característica da bronquiolite. Pneumonia pode coexistir frequentemente, e é evidenciada pela presença de infiltrados intersticiais mononucleares, inclusões eosinofílicas citoplasmáticas em células epiteliais e células gigantes multinucleadas.

A resposta imune gerada contra HRSV é particularmente importante na determinação do curso clínico. Pessoas com uma resposta imune predominante Th2 são mais suscetíveis a desenvolver sintomas graves, provavelmente pela participação de basófilos e eosinófilos na patogênese da infecção. A presença de altas concentrações da proteína catiônica eosinofílica e de histamina foram correlacionadas com gravidade da doença induzida por esse vírus. No entanto, a patogênese desse vírus ainda não é conhecida em detalhes.

HRSV é um importante agente de infecção relacionada à assistência à saúde, principalmente em unidades pediátricas, geriátricas e que lidam com pacientes imunodeprimidos. Além disso, o papel desse vírus em infecções nosocomiais vem sendo salientado nos últimos anos. Cerca de 30% das infecções nosocomiais dentro de uma unidade pediátrica são atribuídas ao HRSV e até 40% das crianças hospitalizadas por mais de 7 dias durante a temporada de HRSV podem tornar-se infectadas dentro do hospital.

1.2.2 Principais vias de transmissão

A transmissão do HRSV se dá pelo contato com o agente infeccioso presente nas secreções respiratórias que é inoculado nos olhos ou nariz via grandes perdigotos ou fômites. Crianças infectadas eliminam grande quantidade de vírus nas suas secreções respiratórias, geralmente por 7 dias (variando de 1-21 dias), as quais podem contaminar as mãos das pessoas próximas a elas e o ambiente ao redor.

A transmissão de HRSV dentro de hospitais se dá predominantemente através de mãos sem luvas ou sem troca frequente de luvas, principalmente por membros da equipe de saúde e parentes. Trabalhos demonstraram que esse vírus pode sobreviver por mais de 30 minutos na pele e em superfícies porosas (como jalecos e papel) e por mais de 6 horas em superfícies não porosa (como em luvas). A subsequente transferência do vírus para crianças não infectadas é a principal fonte de HRSV dentro do hospital e é peça-chave na transmissão nosocomial desse agente. Acredita-se, também, que portadores assintomáticos desse vírus também têm papel importante na transmissão nosocomial. Um estudo relatou que 8% dos funcionários de uma unidade pediátrica de transplante de medula óssea eram portadores de HRSV e, portanto, prováveis fontes de infecção.

1.3 Diagnóstico laboratorial

1.3.1 Coleta

O diagnóstico do HRSV pode ser feito a partir de aspirado ou *swab* nasofaríngeos, lavado nasal e amostras respiratórias do trato inferior. Secreções

nasofaringeas recuperadas por lavados ou aspirados são mais efetivas para o diagnóstico de HRSV do que espécimes obtidos por *swab*, pois esses métodos resultam numa maior obtenção de células epiteliais. Os lavados nasais podem ser obtidos pela introdução de 5 a 7 mL de solução salina ou lactato de Ringer na narina do paciente. O fluido recuperado na seringa deve, então, ser esvaziado em um frasco estéril contendo um meio de transporte adequado. Aspirados nasofaríngeos são mais facilmente obtidos através da utilização de uma cânula pediátrica número 5 a 8, ligada a um frasco de aspiração. A cânula deve ser introduzida na nasofaringe do paciente e uma força de sucção deve ser aplicada. Os melhores resultados são obtidos quando a sucção é realizada em ambas as narinas e a solução salina ou meio de transporte são usados para lavar o conteúdo que nela foi retido. Na impossibilidade da utilização de aspirado ou lavado de nasofaringe, a coleta com *swab* pode ser adotada para obter material para detecção de HRSV. Nesse caso, a fricção deve ser feita cuidadosamente e o *swab* deve ser mergulhado no frasco contendo o meio de transporte. *Swabs* com haste de madeira devem ser evitados pois resinas de tratamento da madeira podem prejudicar a detecção. Em geral, 1 a 2mL de amostra clínica rica em células epiteliais é suficiente para a realização de vários métodos de diagnóstico e costuma fornecer material para a detecção de vários vírus respiratórios.

1.3.2 Transporte e armazenamento

Uma vez coletada, a amostra clínica deve ser mantida em gelo e imediatamente encaminhada a um laboratório para o diagnóstico do agente infeccioso. Vários meios de transporte podem ser utilizados, incluindo um meio composto por uma solução de soro fisiológico acrescida de um estabilizante protéico, como 0,5% de albumina sérica bovina ou gelatina. Embora seja documentada uma perda de infectividade depois de um ciclo de congelamento e descongelamento, essas amostras clínicas podem ser congeladas em caso de necessidade premente, como na estocagem ou no envio a um local distante. Esse congelamento deve ser feito rapidamente, se possível em nitrogênio líquido ou em banho de álcool sobre gelo seco, e o armazenamento restrito a temperaturas iguais ou menores a -70°C . O acréscimo de glicerina ou sacarose ao meio pode aumentar a sobrevivência do vírus durante o congelamento. HRSV pode ser mantido por meses a -70°C sem perda substancial de viabilidade. Para transportes longos, recomenda-se o envio das amostras em gelo seco, tomando o cuidado para que esse seja suficiente para manter a amostra congelada por todo o transporte.

Como os procedimentos de coleta e transporte para os vírus respiratórios são muito semelhantes e serão abordados mais vezes no decorrer desse texto, eles estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 Guia para coleta e transporte de amostras para detecção de vírus respiratórios

Tipo de amostra	Procedimento	Material e meios*	Tempo e temperatura de transporte	Comentários
Aspirado e lavado nasofaríngeo	<ol style="list-style-type: none"> 1. Passe um tubo ou cateter de tamanho apropriado na nasofaringe. 2. Aspire o material com uma pequena seringa ou fonte hospitalar de vácuo. 3. Se o material não puder ser aspirado, incline a cabeça do paciente para trás aproximadamente 70° e insira de 3 a 7 mL de solução salina até ocluir a narina. 4. Reaspire e misture 1:1 com MT. 5. Coloque a amostra imediatamente a 4°C e encaminhe a um laboratório. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. MT: solução de soro fisiológico com 0,5% de BSA ou gelatina; ou meio mínimo essencial (MEM) de Eagle com BSA, ou solução balanceada de Hanks com BSA. 2. Frascos de coleta para vácuo. 3. Seringa para aspiração ou fonte de vácuo hospitalar. 4. Cânula pediátrica ou cateter de fino calibre (5-8). 5. Seringa para instilar salina na narina. 	<p>4°C – por algumas horas (até 1-2 dias) 70°C – para armazenamento prolongado</p>	<p>Esse tipo de amostra pode ser utilizado para detecção de praticamente todos os vírus respiratórios, dependendo apenas da qualidade da amostra (quantidade de células) e fase da doença. Por exemplo, para uma detecção acurada de influenza deve-se coletar a amostra em até 3 dias após o aparecimento dos sintomas. Essas amostras podem ser utilizadas para detecção por kits de detecção rápida no próprio ambulatório, caso disponíveis.</p>
Swab ^b nasofaríngeo	<ol style="list-style-type: none"> 1. Passe um swab fino e flexível na nasofaringe. 2. Deixe a secreção absorver por 5s e remova-o cuidadosamente colocando-o em MT. 3. Repita o procedimento na outra narina e se usar dois swabs colocar ambos no mesmo tubo em MT. 4. Coloque a 4°C. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. MT. 2. Swabs. 3. Frascos de coleta. 	<p>4°C – por algumas horas (até 1-2 dias)</p>	<p>Apesar de, em geral, fornecer menos células que o aspirado e o lavado nasofaríngeo, esse procedimento também pode ser adotado para todos os vírus respiratórios, exceto em algumas condições, como descrito acima. Essa limitação quanto à quantidade de células é menos importante em caso de métodos moleculares de detecção.</p>

Tipo de amostra	Procedimento	Material e meios*	Tempo e temperatura de transporte	Comentários
Swab ^b de garganta	<ol style="list-style-type: none"> Usando um abaixador de língua, comprima a língua para evitar impregnação do <i>swab</i> com saliva. Com um <i>swab</i> estéril, fricione a faringe, tonsilas e áreas inflamadas. Coloque no MT e mantenha a 4°C. 	<ol style="list-style-type: none"> MT <i>Swabs</i> Abaixador de língua Frascos de coleta 	4°C – por algumas horas (até 1-2 dias)	Muito utilizado para detecção de influenza e adenovírus.
Swab ^b da conjuntiva	<ol style="list-style-type: none"> Colete material da conjuntiva inferior com um <i>swab</i> fino e flexível umedecido com salina. Coloque em frasco com MT e encaminhe ao laboratório a 4°C. 	<ol style="list-style-type: none"> MT Salina <i>Swab</i> Frascos coleta 	4°C – por algumas horas (até 1-2 dias)	Pode ser útil na detecção de conjuntivite causada por adenovírus.
Soro	<ol style="list-style-type: none"> Limpe a região a ser perfurada com álcool a 70%. Limpe concentricamente a região com tintura de iodo a 2%. Deixe a tintura de iodo secar por aproximadamente 1 minuto. Perfure a veia e colete de 8 a 10 mL de sangue em um tubo sem anticoagulante. Depois de retirar a agulha, remova a tintura de iodo com álcool 70%. 	<ol style="list-style-type: none"> Álcool 70% Tintura de iodo Agulha, seringa Tubo de coleta 	Temperatura ambiente	<p>O soro pode ser utilizado para testes sorológicos destinados a detectar anticorpos contra diversos vírus respiratórios. Dentre esses ensaios destacam-se imunoensaio enzimático, western blot, fixação do complemento e hemaglutinação.</p> <p>A detecção de IgM no soro é útil para diagnosticar infecções agudas por vírus do sarampo, caxumba, rubéola e parvovírus B19.</p>

Fonte: Adaptado de Murray et al, 1999. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology.

^a Abreviações: MT, meio de transporte; BSA, albumina sérica bovina;* os meios e materiais utilizados devem ser estéreis.

^b *Swab*: *Swabs* de dacron, rayon ou algodão com hastes de plástico ou alumínio são aceitáveis. *Swabs* de alginato de cálcio com hastes de madeira não são aceitáveis.

1.3.3 Métodos de diagnóstico

O método de diagnóstico a ser adotado depende em grande parte das disponibilidades locais. A imunofluorescência (IF) direta ou indireta feita em células presentes na secreção respiratória há mais de duas décadas vem sendo usada com sucesso, tendo sido recomendada pela OMS como sendo rápido e eficaz. O método de EIA (imunoensaio enzimático) também pode ser utilizado para esse fim. Ambos os métodos se utilizam de anticorpos principalmente contra proteínas G e F do HRSV, embora anticorpos contra a proteína N também sejam usados. Diversos *kits* comerciais para IF são disponíveis no mercado e grande parte deles possibilita a detecção de vários vírus respiratórios na mesma amostra simultaneamente.

O isolamento de HRSV em cultura de células seguido de confirmação por métodos imunológicos é usado quando a obtenção de cepas virais viáveis é do interesse do laboratório. As linhagens celulares mais usadas são Hep-2, Hela, NCI e A549.

Imunoensaios cromatográficos para detecção de HRSV são disponíveis, permitindo o diagnóstico qualitativo desse vírus no ponto de atendimento, até pelo próprio médico. Trata-se de método com alta sensibilidade e especificidade, constituindo-se em ótima alternativa para a detecção rápida e clinicamente relevante de HRSV.

A detecção de RNA de HRSV por RT-PCR é considerada método sensível de diagnóstico. Além de alta sensibilidade, amplicons gerados por RT-PCR podem ser sequenciados, permitindo genotipagem do vírus, o que permite estudos de rastreamento epidemiológico. Os primers utilizados para a detecção e tipagem de HRSV são geralmente direcionados aos genes F e G. Recentemente, ensaios de RT-PCR em tempo real foram desenvolvidos para o diagnóstico de HRSV e têm-se mostrado mais sensíveis que os métodos convencionais, com a vantagem de serem métodos qualitativos ou quantitativos, permitindo quantificar a carga viral. Além disso, trata-se de um ensaio fechado, sem manipulação pós-PCR, o que reduz chances de contaminação.

A realização de RT-PCR é relativamente fácil, mas demanda um mínimo de preparação da amostra e manipulação por pessoal especializado, o que pode prolongar o tempo de obtenção de resultado. Métodos como a imunocromatografia são os mais rápidos, mas ainda têm custo limitante para aplicação em escala de saúde pública. IF é provavelmente o método de mais pronta aplicação em laboratórios não-especializados, mas requer microscópio de fluorescência e um examinador treinado.

1.3.4 Principais Medidas de Controle

O rápido diagnóstico laboratorial para detecção de casos, utilização de precauções adequadas para reduzir transmissão do agente entre pacientes e entre profissionais e pacientes, como uso de máscara, luvas, óculos e jaleco, separação de pacientes infectados, segregação de pessoal dedicado somente aos pacientes infectados são medidas de controle da disseminação nosocomial de HRSV. A higienização das mãos é um procedimento efetivo na redução da transmissão desse patógeno. Recomenda-se que a higienização das mãos seja efetuada antes e após o contato com cada paciente. A utilização de luvas é considerada a melhor alternativa no caso da lavagem das mãos ser difícil, embora elas sejam muitas vezes desconfortáveis. O uso de luvas não substitui a higienização das mãos. As luvas devem ser retiradas logo após contato com cada paciente. O isolamento dos pacientes infectados deve ser realizado quando possível, mas pode ser inviável durante os picos de circulação do HRSV. Nesses casos, recomenda-se pelo menos distanciar leitos de pacientes infectados dos não-infectados.

A utilização de máscaras e/ou óculos de olho e nariz não são recomendados na rotina, embora existam algumas evidências de que o uso desses aparatos em conjunto com outras medidas de controle possa reduzir a transmissão nosocomial entre pacientes de alto risco. A máscara é recomendada para os profissionais que atendem pacientes com HRSV, já que a principal forma de transmissão é por gotículas, e os óculos fazem parte das precauções de contato. Outras medidas recomendadas são: restringir presença no ambiente de profissionais e familiares com sintomas respiratórios.

Nenhuma vacina é aprovada para uso clínico. Algumas vacinas candidatas estão atualmente em diferentes fases de teste clínico. Uma vacina de subunidade utilizando uma proteína viral fusionada foi testada para imunogenicidade e segurança em crianças soropositivas maiores de 18 meses, e foi associada com uma diminuição dos sintomas de acometimento do trato respiratório baixo, mas não com uma diminuição da taxa de infecção em crianças com fibrose cística. Uma alternativa para o controle de HRSV consiste na imunização passiva de pacientes de alto risco para infecções graves com injeções mensais de imunoglobulina contra HRSV disponíveis comercialmente, durante a temporada de maior atividade do vírus. Essa abordagem reduz a incidência e a severidade das infecções por HRSV nesse grupo de pacientes. O anticorpo mais usado nos dias de hoje é chamado de Palivizumab, um anticorpo monoclonal humanizado que neutraliza os grupos A e B de HRSV.

O único antiviral em uso para o tratamento da infecção por HRSV é ribavirina, um nucleosídeo sintético análogo da uracila. Essa droga deve ser aerolizada,

requerendo assim aparato especial. A eficácia da utilização dessa droga no combate a surtos de infecções nosocomiais por HRSV não foi ainda analisada.

1.4 Vírus Influenza

1.4.1 O agente

Os vírus influenza são envelopados, com genoma de RNA de polaridade negativa, pertencentes à família *Orthomyxoviridae* que é composta por 5 gêneros: Influenzavirus A, B e C, Thogotovirus e Isavirus, distinguidos entre si por diferenças antigênicas nas proteínas N (nucleocapsídeo) e M (matriz). O genoma do vírus é composto por 8 fragmentos que codificam 10 proteínas, incluindo duas glicoproteínas principais de membrana, hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA).

A HA é responsável pela ligação do vírus à célula hospedeira, através de resíduos de ácido siálico presentes em glicoproteínas da superfície celular, o que resulta em fusão de envelopes e entrada viral. Para que isso ocorra, a HA é antes clivada por proteases presentes no tecido infectado para expor seu domínio hidrofóbico de fusão, o que medeia a fusão das membranas. Esse fator é um importante determinante do tropismo tecidual do vírus. Alguns tipos de influenza altamente patogênicos, como o vírus aviário H5N1 possuem HA suscetível a clivagem por proteases diferentes, presentes em tecidos não respiratórios, o que capacita esses vírus a se disseminar eficientemente.

A neuraminidase (NA) cliva ácido siálico terminal de glicoconjugados presentes em mucinas respiratórias, células e progênie viral, sendo assim essencial para a liberação dos vírus das células infectadas e, conseqüentemente, para a disseminação da infecção através do trato respiratório.

A diversidade antigênica de HA e NA permite a subtipagem dos vírus influenza A. Dezesete subtipos de HA e dez subtipos de NA são atualmente reconhecidos, com 30% ou mais de divergência entre si na sequência de aminoácidos. Seis tipos de HA (H1, H2, H3, H5, H7 e H9) e três de NA (N1, N2 e N7) foram identificados em linhagens de influenza causando infecção em humanos, mas apenas vírus com três subtipos de HA (H1, H2 e H3) e dois subtipos de NA (N1 e N2) mantiveram-se em circulação sustentada em humanos após serem introduzidos por ocasião de pandemias.

Depois da ligação da HA a resíduos de ácido siálico na membrana celular, o vírus entra na célula por endocitose via vesículas de clatrina e o genoma é liberado no citoplasma da célula hospedeira, de modo dependente de acidi-

ficação endossomal. O genoma é levado até o núcleo da célula hospedeira, onde ocorre a transcrição dos RNAs de polaridade negativa em mRNAs que guiam a síntese proteica viral, ou em cRNAs que servem como molde para a síntese de novos genomas virais (vRNA). A montagem dos vírus formados envolve diversos compartimentos celulares e a liberação ocorre por brotamento da membrana plasmática. Apenas vírus com os oito fragmentos de RNA são infecciosos.

Durante a replicação do vírus influenza, mudanças antigênicas podem ocorrer, resultando na circulação continuada desse agente nas populações humanas. Mudanças pequenas, causadas pela acumulação de mutações pontuais nos genes virais são chamadas de 'drift' antigênico. Alterações desse tipo, nos genes HA e NA geram novas linhagens do vírus influenza que se espalham e causam surtos sazonais anuais de influenza. Mudanças antigênicas maiores, chamadas de 'shift' antigênico, podem resultar da aquisição de segmentos gênicos inteiros através de recombinações entre dois vírus influenza co-infectando uma mesma célula. Esse fenômeno pode resultar na emergência de novos subtipos de influenza, que podem causar novas pandemias, como a da gripe espanhola em 1918. Surtos recentes de gripe no sudeste da Ásia, causados por um vírus aviário altamente patogênico (H5N1) emergido por 'shift' antigênico, têm causado preocupação quanto à possibilidade do surgimento de uma nova pandemia de influenza, com consequências possivelmente catastróficas para a saúde pública. Entretanto, enquanto a atenção da comunidade médica estava focada na possibilidade da emergência de um vírus influenza aviário vindo da Ásia, um novo vírus influenza de origem suína emergiu na América do Norte e se espalhou pelo mundo todo. Esse novo vírus foi detectado em abril de 2009 em casos de gripe na Califórnia-USA e foi subsequentemente reconhecido como causa de surtos de doença respiratória no México. Em 11 de junho de 2009 foi declarado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) que a infecção causada por esse novo influenza havia alcançado proporções pandêmicas. Esse novo vírus foi caracterizado como um subtipo de H1N1, com seus segmentos genômicos, tendo grande homologia com os de outros vírus influenza suínos. Na verdade, acredita-se que esse novo vírus seja um recombinante quádruplo, contendo genes de origens aviária, humana, de suínos das américas e da eurásia.

O vírus influenza ocorre no mundo todo, causando infecções respiratórias altamente contagiosas, com alta morbidade e mortalidade, principalmente em crianças e idosos. No sudeste do Brasil, na Argentina e no sul da África, surtos sazonais de influenza A ocorrem anualmente de maio a agosto, em associação com o frio. Influenza B tende a ocorrer em surtos sazonais junto

com Influenza A, mas menos frequentemente, enquanto o influenza C ocorre de maneira não sazonal.

A gripe clássica causada por influenza começa abruptamente depois de um período de incubação de 1 a 2 dias. Os sintomas característicos são: febre, constipação, mal estar, dor de cabeça, mialgia e prostração acompanhados frequentemente de tosse não produtiva, dor de garganta e rinorréia leve. Em pessoas idosas, letargia, confusão, febre baixa e distúrbios gastrointestinais podem, algumas vezes, serem os primeiros sintomas de gripe. Influenza B tende a causar uma infecção mais branda do que influenza A, enquanto influenza C tende a causar sintomas de resfriado. A infecção por influenza causa uma variedade de complicações, incluindo otite média, sinusite, traqueobronquite e pneumonia. Infecções bacterianas secundárias por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* são complicações frequentes e devem ser investigadas em todos os pacientes com febre, tosse e expectoração persistente. Pessoas muito idosas, mulheres grávidas, pacientes infectados com HIV e outras pessoas imunodeprimidas são pacientes de risco suscetíveis a doença grave e complicações em decorrência da infecção por influenza.

O vírus influenza é uma importante causa de hospitalização no mundo com grande impacto em populações idosas, crianças e pessoas imunodeprimidas. Além disso, devido a sua fácil disseminação, esse vírus tem causado surtos de infecções nosocomiais em hospitais do mundo todo. Em pacientes hospitalizados, submetidos a transplante de medula óssea, infecções nosocomiais causadas por influenza são frequentemente acompanhadas de infecções bacterianas e pneumonia, com mortalidade de até 50%.

1.4.2 Principais vias de transmissão

O vírus influenza é facilmente transmitido por grandes e pequenos perdigotos, além de fômites, com contaminação das mãos e subsequente inoculação em olhos e nariz. Esse vírus é notório por sua capacidade de infectar pessoas em um ambiente fechado. Em ambientes desse tipo, uma única pessoa pode infectar de dezenas a centenas de pessoas, com uma taxa de ataque de 70%. As crianças tendem a adquirir a infecção na escola e por isso estão no cerne de epidemias, principalmente pela propagação do vírus no seio da família.

Em ambiente hospitalar, a infecção por influenza durante os meses de maior circulação do agente pode ser um grave problema, com surtos de infecção nosocomial envolvendo instalações para idosos. Médicos, enfermeiros e funcionários de saúde são altamente suscetíveis a infecção por influenza, devido ao contato constante com pessoas infectadas, e possuem, assim, papel

central na disseminação hospitalar do patógeno. Um funcionário de saúde infectado pode infectar secundariamente inúmeros pacientes, incluindo pacientes de alto risco, idosos e imunodeprimidos.

1.4.3 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial de influenza pode ser feito a partir de secreções aspiradas ou *swabs* nasofaríngeos, lavado nasal, *swabs* de garganta e amostras obtidas do trato respiratório inferior, como através de lavados bronquio-alveolares e aspirados traqueais. Por serem menos invasivos e de mais fácil obtenção, os primeiros são mais utilizados. Para uma detecção acurada desse vírus, essas amostras clínicas devem ser obtidas preferencialmente nos três primeiros dias após o aparecimento dos sintomas, pois depois desse tempo o título viral no trato respiratório tende a cair. Os procedimentos de coleta e transporte são os mesmos descritos para HRSV, visto anteriormente nesse texto. No geral, o procedimento é muito semelhante para todos os vírus respiratórios.

O isolamento de influenza em linhagens celulares, tais como a MDCK (Madin-Darby canine kidney cells), seguido de confirmação por IF é o método clássico e deve ser o método de escolha, pois além de diagnosticar o vírus, ele permite obter isolados virais para caracterização, o que é essencial para escolher formulações de vacina. Entretanto, a necessidade de laboratório especializado limita o uso dessa abordagem. O acréscimo de 1 a 2µg de tripsina ao meio de cultura para promover a clivagem da HA é indispensável para o cultivo de influenza. A detecção de cepas não citopáticas de influenza em culturas de células também pode ser feita pela hemadsorção com eritrócitos de cobaia ou galinha, ou por ensaio de hemaglutinação.

A detecção de antígenos virais diretamente na amostra clínica pode ser realizada por diversas técnicas, incluindo imunofluorescência (IF), imunoenaios enzimáticos (ELISA), e imunoenaios cromatográficos. Existem *kits* disponíveis comercialmente que permitem a detecção do vírus em 15 a 30 min. Geralmente, a sensibilidade desses *kits* são mais altas em crianças do que em adultos e depende do tipo de amostra e da fase do doença.

Diversos formatos de RT-PCRs são usados para a detecção do vírus influenza em amostras clínicas. Geralmente, são utilizados primers que se anelam em regiões conservadas de um dos genes. Abordagens utilizando RT-PCR em tempo real vêm sendo desenvolvidas e permitem, além do diagnóstico, determinar a carga viral. Esse tipo de ensaio tende a substituir todos os outros para diagnosticar influenza, pois é extremamente sensível, específico e permite a detecção de todos os tipos de influenza num mesmo ensaio.

1.4.4 Principais Medidas de Controle

As medidas para controlar a disseminação hospitalar do vírus influenza são semelhantes às descritas para HRSV, com acréscimo de práticas que evitem a transmissão por pequenos aerossóis, no caso de novas cepas de influenza. Nesses casos, é recomendado o uso de máscaras PFF2 (ou N95) por médicos, funcionários de saúde e visitantes, além do isolamento dos pacientes infectados em quartos com pressão negativa, quando possível. Medidas adicionais, tais como restringir visitantes e excluir médicos e funcionários infectados (principalmente aqueles que lidam com pacientes de alto risco), também podem ser adotadas. Precauções para prevenir a transmissão nosocomial de influenza podem ser maximizadas por medidas profiláticas que incluem imunização e uso de drogas antivirais específicas. A imunização anual de influenza é recomendada para todos acima de 60 anos, pessoas que sofrem de doenças cardio-respiratórias crônicas, diabetes melitus, doença renal crônica e imunocomprometidos. A imunização é também recomendada para todos os profissionais de saúde.

A vacina de influenza atualmente usada consiste de vírus inativado e é formulada com uma linhagem de influenza B e duas linhagens de influenza A dos subtipos H3N2 e H1N1. Essa composição é determinada anualmente pela OMS de forma específica para diferentes hemisférios. No Brasil o monitoramento de influenza com finalidade de obter informações para composição vacinal é feito por uma rede de postos sentinela comandada pelo Ministério da Saúde, com participação de laboratórios de várias regiões do país. O vírus vacinal é propagado em embrião de galinha e por isso a vacina não deve ser aplicada em pessoas com hipersensibilidade a ovo. Há uma vacina trivalente de vírus vivos atenuados termossensíveis licenciada para uso intranasal nos Estados Unidos, que se tornou uma opção para pessoas saudáveis com idade entre 5 e 49 anos. Esses vírus termossensíveis podem se replicar nas vias aéreas superiores, mas não no trato respiratório baixo, onde a temperatura é maior. Obtenção de fenótipos atenuados de vírus influenza utilizando métodos de genética reversa tem-se tornado uma excelente alternativa para gerar novas vacinas candidatas, e inclusive de ser adotada como estratégia de produção de vacina contra vírus influenza emergente potencialmente pandêmicos, como é o aviário H5N1.

A utilização de drogas antivirais pode ajudar de forma significativa no combate a surtos de infecção nosocomial, reduzindo a carga viral e diminuindo sua disseminação. As primeiras drogas licenciadas para tratamento de influenza foram os adamantanos amantadina e rimantadina, que são bloqueadores dos canais iônicos na superfície viral (proteína M2), que são essenciais para a desmontagem e replicação viral. Entretanto, esses compostos,

que são eficazes apenas contra influenza A, tiveram sua efetividade reduzida pelo surgimento de cepas de influenza resistentes e pela ocorrência de complicações neurológicas em idosos, permanecendo porém como alternativas em casos em que sua combinação com inibidores de neuraminidase venha a ser necessária.

Os inibidores da neuraminidase (NA), tais como o zanamivir e o oseltamivir, bloqueiam o sítio ativo dessa enzima, inibindo a liberação do vírus das células infectadas e, portanto, sua disseminação no trato respiratório. Essa droga oferece proteção contra todos os tipos de influenza conhecidos, pois o sítio ativo da NA é altamente conservado. As doses recomendadas de oseltamivir (comercializado em cápsulas de 75mg) são de 75mg de duas vezes por dia para adultos e crianças acima de 40kg, 30mg para crianças com menos de 15Kg, 45mg para crianças entre 15 e 23 kilos e 60mg para crianças entre 23 e 40 kg. A dose do zanamivir (disponível em dispensadores para inalação) deve ser de 10mg para adultos e crianças maiores de 7 anos duas vezes por dia por 5 dias. O zanamivir não está disponível no Brasil.

1.5 Parainfluenza Humano

1.5.1 O agente

Os vírus parainfluenza humano (HPIVs) são vírus envelopados, pleomórficos que possuem genoma composto por um RNA de polaridade negativa não segmentado. Os HPIVs são pertencentes à família *Paramyxoviridae* e possuem muitas características em comum com HRSV. São distribuídos em dois gêneros, os HPIVs do tipos 1 e 3 estão contidos no gênero *Respirovirus*, enquanto os tipos 2 e 4 pertencem ao gênero *Rubulavirus*. Essa classificação em tipos de 1 a 4 é baseada na antigenicidade desses vírus. O tipo 4 de HPIV pode ainda ser classificado em A e B.

A proteína HN de HPIVs possui um domínio com atividade da hemaglutinina e outro com atividade de neuraminidase. Essa proteína medeia a ligação do vírus a células hospedeiras, ligando-se a moléculas de ácido siálico contidas em glicoproteínas e glicolipídios da membrana celular. A fusão das membranas viral e celular é mediada pela proteína F de HPIV, a qual precisa ser clivada por proteases celulares para exercer sua atividade catalítica. Uma vez dentro da célula, o ciclo replicativo do HPIV acontece de modo semelhante a HRSV.

Esse vírus infecta praticamente todas as crianças até os cinco anos de idade. Ele é o principal causador de laringotraqueobronquite (crupe) em crianças.

Estima-se que um terço de todas as infecções respiratórias baixas sejam causadas por HPIV nos Estados Unidos. Nos países de clima temperado, HPIV-1 e 2 causam epidemias em anos alternados durante o outono. Esse padrão bienal do HPIV-1 é observado no mundo todo. HPIV-1 causa a maioria das epidemias de crupe, enquanto o HPIV-2 está em geral associado com sintomas mais brandos. HPIV-3 ocorre durante o ano, com surtos esporádicos durante a primavera em países de clima temperado, enquanto que HPIV-4 ocorre esporadicamente através do ano em adultos e crianças. No Brasil, um estudo feito em crianças moradoras de um favela mostrou elevada frequência de HPIV em crianças de menos de cinco anos com IRA.

A infecção primária por HPIV pode associar-se com rinite, faringite, crupe, bronquiolite e pneumonia, principalmente em crianças menores de dois anos. O sintoma mais comum observado em crianças infectadas com HPIV é crupe, que é caracterizada por estridor inspiratório, tosse, rouquidão e pela presença de edema subglótico. Esses sintomas são, geralmente, precedidos por rinorréia, tosse leve e febre baixa. A maioria das crianças infectadas se recupera em 2 a 5 dias, mas algumas podem desenvolver bronquiolite, pneumonia ou broncopneumonia. Infecções por HPIV podem ser mais graves em imunodeprimidos e idosos.

HPIV 1 e 2 são em geral adquiridos na comunidade, mas podem causar surtos de infecção nosocomial, inclusive com manifestações graves especialmente em pacientes imunocomprometidos. Um estudo realizado em unidade de transplante de medula óssea relatou que 1/3 dos pacientes infectados com HPIV morreram de insuficiência respiratória. A transmissão nosocomial do tipo 3 de HPIV também foi documentada em unidades neonatais e em casas de repouso.

1.5.2 Principais vias de transmissão

A transmissão de HPIV ocorre na maioria das vezes no grupo familiar ou em grupos e comunidades fechados, tais como creches, escolas e hospitais. O HPIV persiste no ambiente por aproximadamente 10 horas em superfícies lisas e 4 horas em superfície porosas e a sua transmissão se dá principalmente pelo contato direto com secreções respiratórias, tais como grandes perdigotos e fômites.

1.5.3 Diagnóstico laboratorial

HPIV pode ser diagnosticado a partir de amostras respiratórias, tais como aspirados nasais, *swabs* nasofaríngeos e lavados nasais. Esse vírus pode ser detectado nessas secreções respiratórias por até oito dias após o início dos sintomas (para maiores detalhes de coleta e transporte – ver a seção de diag-

nóstico laboratorial do vírus sincicial respiratório humano descrita anteriormente nesse texto). O diagnóstico pode ser feito por isolamento em cultura de células (células primárias de rim de macaco ou linhagens celulares tais como HeLa e Hep-2, LLC-MK2, entre outras) seguido por confirmação por IF, imunoensaio enzimático (EIA), ou hemadsorção com eritrócitos de cobaia. Entretanto, isolamento de HPIV pode ser muito laborioso e possui baixa sensibilidade quando comparado com métodos que detectem o agente diretamente nas amostras clínicas.

A detecção de HPIV diretamente das amostras clínicas por IF ou EIA é em geral desapontadora, com sensibilidade variando de 50% a 75%. Kits comerciais de IF para detecção de vários vírus respiratórios, incluindo HPIV, têm sensibilidade menor do que métodos baseados na detecção do genoma do vírus.

A detecção do genoma viral por RT-PCR, incluindo ensaios tipo multiplex para detecção de diversos vírus respiratórios, é uma boa alternativa para detecção de HPIV em amostras clínicas. Ensaios para HPIV por RT-PCR em tempo real vêm sendo progressivamente adotados. A alta sensibilidade associada à conveniência do método fechado sem análise pós-PCR fazem desse método uma boa alternativa para diagnóstico de HPIV, embora o custo ainda seja proibitivo para a maioria dos laboratórios. A RT-PCR convencional torna-se então a opção que associa sensibilidade a custo relativamente baixo, mas sem a presteza de um método rápido de uso no ponto de atendimento.

1.5.4 Principais Medidas de Controle

Como para os outros vírus respiratórios, a prevenção da infecção nosocomial por HPIV depende de rápido diagnóstico e implantação de medidas para prevenção de surtos. As medidas usadas para interromper a transmissão hospitalar são as mesmas citadas para HRSV. A higienização de mãos é muito importante e deve ser sempre enfatizada. A limpeza do ambiente com sabão e desinfetantes de uso hospitalar e a desinfecção de superfícies com álcool 70% ou hipoclorito eliminam HPIV em superfícies e fômites.

Vacinas e antivirais específicos contra HPIV ainda não estão disponíveis para uso clínico. O uso da ribavirina pode ser uma alternativa, embora estudos detalhados sobre a eficácia dessa droga contra HPIV ainda não tenham sido realizados.

1.6 Rinovirus

1.6.1 O agente

Os rinovirus humanos (HRVs) são os patógenos respiratórios mais frequentes em humanos no mundo. Eles são responsáveis por 80% dos casos de resfriado de outono em países de clima temperado. No Brasil e em outros países de clima tropical muito poucos estudos com base na comunidade, que possibilitam determinar o real impacto de HRV como causador de infecção respiratória aguda (IRA), foram feitos. Entretanto, em um estudo longitudinal baseado em domicílios, Arruda e colaboradores mostraram que HRVs representam 46% dos vírus isolados de amostras respiratórias colhidas de crianças menores de cinco anos com IRA numa comunidade pobre de Fortaleza. Em uma creche para crianças carentes de Salvador resultados semelhantes foram encontrados, com HRV representando 52% dos vírus detectados por PCR. Dados sobre a frequência desse vírus em adultos em países de clima tropical são ainda escassos. Em Singapura, HRV foi detectado em 20% das amostras obtidas de adultos com sintomas de IRA atendidos em postos de saúde

HRVs são pequenos vírus não envelopados que possuem RNA de fita simples monocistrônico de polaridade positiva. Esses vírus são pertencentes à família *Picornaviridae*, gênero *Enterovirus*, espécies humano A, B e C. São hoje conhecidos mais de 150 tipos (sorotipos ou genótipos) de rinovírus. Após a ligação de HRV com o receptor (molécula de adesão intercelular-1, ICAM-1, para 91 sorotipos, o receptor de lipoproteína de baixa densidade para 10 sorotipos e sialoproteína para o sorotipo 87), o genoma é liberado no citoplasma e funciona como mRNA que dirige a síntese de uma poliproteína, cujo produto de clivagem inclui uma RNA polimerase. Essa enzima, utilizando como molde a molécula de RNA genômico, produz cópias de RNA de polaridade negativa, que por sua vez servem como molde para a produção de RNA genômico.

A replicação do HRV é restrita ao epitélio do trato respiratório superior, principalmente células ciliadas da nasofaringe e do nariz. A infecção de um pequeno número de células induz a liberação de citocinas, quimiocinas e mediadores anti-inflamatórios que, em conjunto com a estimulação local de nervos parassimpáticos, resultam nos sintomas característicos de resfriado.

O quadro clínico associado à infecção por HRV é o de um resfriado comum, com dor de garganta, obstrução nasal, coriza, espirros, tosse e rouquidão, sem febre. Esses sintomas duram em média sete dias, mas podem persistir por até duas semanas, como é observado em 25% dos casos. A maioria dos

pacientes apresenta obstrução e anormalidades no seio maxilar e na tuba de Eustáquio, resultando em alta frequência de sinusite e otite média aguda como complicações de infecções por HRV. Além disso, HRV é associado com exacerbação de doenças pulmonares obstrutivas e ataques de asma em crianças e adultos.

A importância desse vírus como causa de infecção nosocomial é ainda pouco estudada. Entretanto, sua alta prevalência e fácil transmissão fazem deles bons candidatos a causar surtos de infecção relacionada à assistência à saúde. Um estudo mostrou que a infecção nosocomial por HRV em pacientes submetidos a transplante de medula óssea pode cursar com pneumonia, com grande impacto nesse grupo de pacientes.

1.6.2 Principais vias de transmissão

A transmissão de HRV ocorre principalmente através de mãos contaminadas com secreções respiratórias, com subsequente autoinoculação nos olhos ou no nariz, mas a disseminação pelo ar através de perdigotos também pode ocorrer. Uma vez que o HRV alcance a cavidade nasal, a infecção ocorre em virtualmente 100% dos hospedeiros suscetíveis, com 75% apresentando sintomas depois de um período de um a dois dias de incubação. Crianças têm papel central na disseminação desse vírus na comunidade, sendo geralmente a porta de entrada do HRV na família.

Evidências sugerem que a aglomeração de suscetíveis em ambiente fechado no início do ano letivo nos EUA favorece a transmissão de HRV causando pico sazonal de incidência de resfriados no início do outono, época em que a umidade relativa do ar ainda está elevada. Em regiões tropicais como o nordeste do Brasil, onde a umidade relativa do ar é alta durante o ano todo, nenhuma sazonalidade óbvia de HRV foi encontrada.

1.6.3 Diagnóstico laboratorial

A coleta e o transporte e armazenamento do rinovírus humano devem ser performada conforme descrito anteriormente nesse texto, na seção de diagnóstico laboratorial do HRSV (sumarizado na Tabela 1).

HRV pode ser detectado por isolamento em cultura de células suscetíveis, tais como HeLa e fibroblastos, incubadas a temperaturas 33°C a 35°C. A excreção de HRV é mais intensa cerca de 48 horas após a infecção, mas pode ocorrer por mais de 3 semanas. Métodos de detecção direta como IF não são possíveis, devido ao grande número de sorotipos sem reação cruzada significativa entre eles. Métodos moleculares baseados na detecção do genoma de HRV são mais sensíveis e menos laboriosos que isolamento e a utilização

de RT-PCR é a melhor alternativa para o diagnóstico do HRV. Recentemente, estudos utilizando RT-PCR em tempo real têm demonstrado que esse ensaio é mais sensível que ensaios baseados no RT-PCR convencional, com a vantagem de ser quantitativo, possibilitando assim a determinação da carga viral no paciente infectado.

1.6.4 Principais Medidas de Controle

A disseminação de HRV ocorre principalmente através de mãos contaminadas, indicando que entre as medidas mais importantes para combater surtos de infecção desse agente em hospitais estão a higienização das mãos e o uso de luvas. Esses vírus são estáveis por dias à temperatura ambiente e são resistentes a etanol, clorofórmio e detergentes não iônicos. Entretanto, eles são sensíveis à luz ultravioleta, pH menor que 5 e maior que 9, a hipoclorito de sódio, iodo e desinfetantes fenólicos. Medidas de precaução utilizadas para evitar a transmissão de vírus respiratório (descrito anteriormente nesse capítulo) devem ser adotadas quando é detectado um surto por HRV dentro do hospital.

A imunidade gerada pela infecção por HRV é duradoura, entretanto, devido ao grande número de sorotipos, o desenvolvimento de uma vacina é improvável. O uso de antivirais antipicornavirus seria uma boa alternativa para tratamento em pacientes de risco, como asmáticos por exemplo. Apesar da eficácia obtida com pleconaril e mais recentemente com rupintrivir, um inibidor específico da protease 3C, não há drogas licenciadas para essa finalidade.

1.7 Coronavírus humano

1.7.1 O agente

Os coronavírus humanos (HCoV) são vírus envelopados pertencentes à família *Coronaviridae*. Esses vírus apresentam morfologia característica, com grandes projeções em forma de pétalas na superfície, sugerindo a forma de uma coroa. O genoma é de RNA de polaridade positiva e é o maior genoma de vírus de RNA conhecido. No envelope viral estão inseridas as proteínas S, M e E, e em algumas linhagens uma hemaglutinina (HN). A proteína S se liga ao receptor celular (aminopeptidase humana) e nos vírus que contêm HN (HCoV-OC43) essa proteína se liga ao ácido siálico de glicoproteínas e glicolipídios de superfície, facilitando a infecção. O genoma de HCoV é policistrônico e a síntese de mRNAs acontece devido a uma transcrição descontínua do RNA de polaridade negativo complementar ao genoma. A montagem dos

novos vírus ocorre ancorada às membranas intracelulares e a liberação se dá por brotamento através da via secretória.

Cinco linhagens de HCoV são conhecidas, os “tradicionais” HCoV-229-E e HCoV-OC43, o HCoV associado à síndrome respiratória aguda grave (SARS) e os mais recentemente descobertos HCoV-NL63 e HCoV-HKU1.

Os HCoV 229-E e OC43 ocupam a segunda posição entre as causas mais frequentes de resfriado no mundo. Em climas temperados acredita-se que aproximadamente 15% das IRAs em adultos sejam causadas por HCoV ocorrendo principalmente no inverno e na primavera. Em países de clima tropical os dados sobre HCoV são escassos. Um trabalho da década de 70 realizado no Brasil mostra que 26% de crianças não hospitalizadas com sintomas de infecção respiratória eram soropositivas para coronavírus.

O período de incubação é em geral um dia mais longo do que o de HRV e as manifestações clínicas de infecção por HCoV são de resfriado comum, indistinguível do causado por HRV. Febre baixa pode ocorrer em 20% dos casos. Envolvimento do trato respiratório inferior é raro, mas pode ocorrer esporadicamente em crianças e pacientes imunodeprimidos. HCoV foi encontrado em 33% de um grupo de soldados da marinha americana previamente saudáveis durante um surto de pneumonia. Além disso, a infecção por esse agente está associada a casos de exacerbação de asma, bronquite crônica e chiado em crianças. Um trabalho realizado no Brasil mostrou que 4% das crianças com chiado brônquico apresentavam HCoV em suas secreções respiratórias. De modo semelhante a HRV, infecções HCoV predispoem ao desenvolvimento de otite média e sinusite maxilar.

As informações sobre patogênese de infecção por HCoV são incompletas. Ultraestrutura do epitélio nasal de voluntários experimentalmente infectados com HCoV-229-E indica que há dano epitelial com perda da motilidade celular e citólise induzida pela replicação viral e resposta imune.

A importância dos HCoVs como causadores de infecção relacionada à assistência à saúde tem sido pouco estudada. Como em pacientes imunodeprimidos e recém-nascidos a infecção por HCoV pode estar associada com pneumonia, cuidados devem ser tomados para reduzir chances de surtos hospitalares desse vírus.

O coronavírus associado à SARS (SARS-HCoV) foi descoberto em 2003 pelo reconhecimento em micrografia eletrônica da morfologia característica de coronavírus em células Vero E6 infectadas com amostra de pacientes com

SARS. SARS-HCoV emergiu no sudeste da Ásia, provavelmente a partir de um vírus zoonótico, e não dos HCoVs já previamente conhecidos. Os sintomas da síndrome respiratória aguda grave são geralmente precedidos por sinais sistêmicos, tais como febre, mal-estar, mialgia e dor de cabeça. Os sintomas respiratórios são tosse improdutiva, dispnéia e dor de garganta. Aproximadamente metade dos pacientes tem quadros graves, com hipoxemia, muitos dos quais são admitidos em unidades de tratamento intensivo (UTI). Grande parte desses pacientes (principalmente os do sexo masculino com idade mais avançada) requer ventilação mecânica. A taxa de mortalidade em pacientes internados é de aproximadamente 13% entre os jovens e de 43% entre os maiores de 60 anos. A maioria dos casos de SARS-HCoV aconteceram na Ásia. Atualmente, esse agente parece não estar mais em circulação e apresenta risco reduzido para a saúde pública no Brasil.

1.7.2 Principais vias de transmissão

A transmissão dos HCoV dá-se pela deposição de perdigotos infectados ou aerossóis no epitélio respiratório de pessoas não infectadas. Voluntários infectados com HCoV 229-E e OC43 eliminaram o vírus por aproximadamente 5 dias, começando 48 horas depois da infecção, junto com o aparecimento dos primeiros sintomas.

A transmissão de SARS-HCoV chamou atenção pela infectividade elevada para pessoas que foram atendidas na mesma sala de pronto-socorro, o que indica transmissão eficiente por pequenos aerossóis.

1.7.3 Diagnóstico laboratorial

Os HCoV tradicionais (229-E e OC43) são difíceis de cultivar em linhagens celulares, o que torna o método laborioso e não recomendado para diagnóstico clínico de HCoV. O diagnóstico por imunofluorescência direta na amostra clínica tem baixa sensibilidade quando comparado a métodos moleculares que detectam o genoma desse vírus. As amostras clínicas devem ser coletadas e transportadas conforme descrito anteriormente na seção de diagnóstico laboratorial de HRSV. A RT-PCR é atualmente a melhor alternativa para o diagnóstico de HCoV 229-E e OC43. RT-PCR em tempo real é o método mais sensível para diagnóstico de SARS-HCoV. Qualquer manejo com amostras respiratórias suspeitas de conterem SARS-HCoV deve ser realizado em laboratórios de segurança BSL-3.

O CDC recomenda a realização de teste diagnóstico para SARS-HCoV para todos os pacientes hospitalizados com pneumonia aguda grave ou síndrome da angústia respiratória que tenham viajado para a China, Hong Kong

ou Tailândia ou contato íntimo com pessoas provenientes desses países, ou com pessoas suspeitas de SARS.

1.7.4 Principais Medidas de Controle

Não existe terapia antiviral específica e nem vacina contra os HCoV tradicionais (229E e OC43). Interferon administrado por via intranasal protege contra infecções experimentais com HCoV-229-E e poderia ser usado no controle de surtos hospitalares desses vírus em pacientes de alto risco, como imunodeprimidos. No caso de um surto nosocomial, as medidas de precaução aplicáveis a agentes de transmissão respiratória são indicadas para HCoV.

Atualmente, SARS-HCoV não representa um grande problema de saúde pública no Brasil, mas na eventualidade de uma re-emergência do agente, recomenda-se que severas medidas de controle sejam adotadas na presença de um caso confirmado de SARS-HCoV em um hospital. Isso inclui isolamento do paciente em quarto com pressão negativa, uso de máscara PFF2 (ou N95), óculos, luvas e jalecos exclusivos para o manejo dos pacientes infectados. Atividades como entubar pacientes infectados e aspirar secreções traqueais são consideradas de alto risco para o pessoal de saúde e devem ser realizadas com uso de equipamento de proteção individual (EPI) adequado.

Ainda não existem drogas antivirais específicas contra SARS-HCoV, mas, no surto de 2003, o tratamento com ribavirina, apesar de essa droga inibir SARS-HCoV apenas modestamente *in vitro*, foi associado com redução no dano pulmonar. A semelhança entre a principal protease de SARS-HCoV e a protease de HIV levou ao uso dos inibidores de proteases de HIV (lopinivir e ritonavir) em conjunto com a ribavirina no tratamento de SARS com redução significativa na letalidade quando comparado com pacientes que receberam apenas ribavirina.

1.8 Adenovírus Respiratório

1.8.1 O agente

Os adenovírus respiratórios humanos (HAdV) são vírus de DNA, não envelopados, icosaédricos pertencentes à família *Adenoviridae*, gênero Mastadenovírus. Esses vírus podem ser classificados antigenicamente em sete grupos específicos (A-G) e em 65 tipos diferentes (1-65). Tipagem molecular utilizando polimorfismo de genoma após digestão com enzimas de restrição também é um procedimento usado para classificar os adenovírus.

O capsídeo de HAdV é formado por três tipos distintos de capsômeros, os capsômeros hexaméricos, pentaméricos e fibrilares, que se projetam dos capsômeros de 5 bases. Os capsômeros hexaméricos e pentaméricos são formados por antígenos comuns a todos os adenovírus humanos, ao passo que os capsômeros fibrilares levam à produção de anticorpos tipo específicos neutralizantes e inibitórios da hemaglutinação.

A proteína do capsômero fibrilar de HAdV liga-se à célula hospedeira pela molécula chamada receptor de coxsackie e adenovírus (CAR). O complexo maior de histocompatibilidade de classe I (MHC-I) também serve como receptor para HAdV-5. A ligação com receptor acaba por permitir a entrada do vírus por endocitose, após o que o genoma de DNA de fita dupla linear é transportado para o núcleo, onde genes virais precoces e tardios são transcritos em mRNA, que codifica proteínas estruturais e não estruturais. A montagem do vírus ocorre no núcleo e o ciclo infeccioso termina com a liberação de mais de um milhão de vírus após a lise celular. HAdV pode se tornar latente e ser excretado por indivíduos assintomáticos, o que é importante para a manutenção do vírus na população.

Infecções respiratórias causadas por HAdV estão entre as doenças mais frequentes causadas por esses vírus, particularmente entre crianças de menos de cinco anos. HAdVs são frequentemente detectados em amostras de crianças com IRA em países tropicais. No cone Sul da América Latina, HAdV foi o segundo vírus mais frequente em crianças hospitalizadas com IRA. No Brasil, um estudo realizado em Salvador detectou HAdV em 11% das crianças menores de dois anos com IRA em uma creche. Há indícios de que esse vírus ocorre durante o ano todo em crianças e os tipos 1, 2, 3 e 5 são os mais detectados em crianças menores de 5 anos. Em adultos infecções por HAdV ocorrem esporadicamente e causam na maioria das vezes apenas sintomas de acometimento do trato respiratório superior. Entretanto, adenovírus dos tipos 4 e 7 podem também causar epidemias importantes em recrutas militares, com manifestações de resfriados ou de doença respiratória baixa mais grave, com 20 a 40% dos indivíduos necessitando de hospitalização.

Cerca de metade das infecções causadas por adenovírus são assintomáticas e as sintomáticas são geralmente resfriados febris. São também comuns quadros de faringite semelhante à causada por *Streptococcus*, febre faringoconjuntival, conjuntivite frequentemente unilateral, adenopatia pré-auricular, tosse, rinite e mal estar. A complicação mais frequente da infecção por HAdV é otite média aguda, detectada em 30% dos casos. As doenças do trato respiratório inferior causadas por HAdV são principalmente bronquite e pneumonia.

A importância hospitalar de HAdV é grande, pois ele é resistente no ambiente e portanto pode permanecer viável em superfícies dentro do hospital. Além disso, esse vírus pode causar infecção endógena, principalmente em pacientes imunodeprimidos hospitalizados, por reativação de vírus latente. Infecções nosocomiais por HAdV são bem documentadas e podem afetar tanto pacientes como médicos e funcionários. Casos fatais em pacientes imunodeprimidos resultantes da infecção nosocomial transmitida por funcionários de saúde já foram descritos.

1.8.2 Principais vias de transmissão

A transmissão de HAdV ocorre principalmente através de grandes perdigotos, envolvendo a contaminação das mãos e do ambiente, seguida por auto-inoculação nos olhos, nariz e boca. A transmissão ocular associada com uso de piscinas também foi documentada. A transmissão pela rota fecal oral também pode ocorrer e pode estar associada a casos de diarreia em crianças.

1.8.3 Diagnóstico laboratorial

HAdV pode ser detectado em secreções respiratórias, da garganta, oculares e do ouvido. Os métodos de coleta e transporte dessas secreções estão resumidos na seção sobre diagnóstico laboratorial de HRSV (Tabela 1). O vírus pode ser isolado em diversas linhagens celulares humanas, como HeLa, Hep-2 e A549.

A detecção de adenovírus por métodos moleculares que detectem o DNA viral, tais como PCR, é de difícil interpretação, pelo fato do DNA viral poder ser detectado mesmo quando o agente está em latência. Entretanto, esse é o método mais sensível disponível para diagnóstico.

1.8.4 Principais Medidas de Controle

Para minimizar transmissão hospitalar de surtos de HAdV, medidas de precaução que evitem a disseminação por perdigotos devem ser adotadas. Como esse vírus é resistente no ambiente, medidas de desinfecção relacionada à assistência à saúde, tanto de superfícies como de equipamentos, devem ser adotadas e rigorosamente monitoradas. Isso é particularmente relevante para equipamentos oftalmológicos, que merecem especial cuidado. A higienização das mãos e o uso de luvas, quando apropriado, são medidas indispensáveis e devem ser sempre re-enfatizadas. A transmissão em piscinas pode ser evitada pelo tratamento correto com cloro.

Até o momento, nenhuma vacina e nenhum antiviral tem sido empregado de rotina no combate a infecções respiratórias por HAdV. Uma vacina viva consistindo de HAdV tipos 4 e 7 selvagens montadas em cápsula de libera-

ção entérica é usada para vacinar militares nos EUA. Há relatos de sucesso com a utilização da ribavirina para tratar HAdV em pacientes imunodeprimidos com HIV.

1.9 Metapneumovirus Humano

1.9.1 O agente

O *metapneumovirus* humano (HMPV) é um vírus envelopado, pleomórfico, com diâmetro de aproximadamente 209nm, com genoma de RNA de polaridade negativa não segmentado. HMPV pertence à família *Paramyxoviridae*, subfamília *Pneumovirinae*, gênero *Metapneumovirus*. HMPV difere dos vírus do gênero *pneumovirus* pela posição dos genes e pelo fato de não possuir os genes NS1 e NS2. De modo similar a HRSV, HMPV tem dois subtipos principais, A e B, que podem ainda ser divididos em linhagens, A1, A2, B1 e B2.

HMPV foi descoberto em 2001 quando Van Den Hoogen e colaboradores detectaram por microscopia eletrônica partículas virais pleomórficas sugestivas de *paramyxovirus* em culturas de células LLC-MK2 infectadas com secreção respiratória de crianças menores de 12 meses, as quais apresentavam efeito citopático semelhante ao de HRSV, mas não reagiam com anticorpos anti-*paramyxovirus* conhecidos em fluorescência. Utilizando método de amplificação randômica, RAP-PCR, os autores sequenciaram o genoma desses vírus e, por alinhamento com genomas de outros *paramyxovirus* conhecidos, descobriram o novo agente com alta homologia com *pneumovirus* aviários pertencentes ao gênero *Metapneumovirus*. Trata-se de um novo vírus humano em circulação desde a década de 1950, e não de um vírus de ave que acidentalmente infecta a espécie humana.

HMPV é causa frequente de infecção respiratória aguda adquirida na comunidade em crianças e adultos em todo o mundo, com prevalências variáveis em diferentes países e regiões do mundo e de ano para ano. No Brasil, 24% das crianças menores de três anos atendidas em clínicas e hospitais de Aracaju, Sergipe, em 2002 apresentaram HMPV. Já no ano seguinte, esse vírus não foi detectado na mesma população, mostrando que a sua frequência varia de ano para ano. No Paraná, 6,4% de 156 crianças hospitalizadas com IRA entre os anos 2000-2002 tinham infecção por HMPV. A infecção por HMPV causa sintomas semelhantes aos causados por HRSV, variando de resfriado com acometimento apenas do trato respiratório superior até bronquiolite e pneumonia, podendo requerer cuidados intensivos e ventilação mecânica. A média de idade das crianças infectadas com HMPV tende a ser maior do que a das infectadas com HRSV e a infecção simultânea por ambos os vírus

parece aumentar a gravidade da doença. Os sintomas mais frequentes são febre, dispnéia, tosse, chiado, rinite e dor de garganta. Esse vírus é associado a chiado em crianças e causa infecção grave em pacientes com co-morbidades, imunodeprimidos e idosos.

Pouco se sabe sobre os mecanismos de patogenicidade do HMPV. Sabe-se que é um patógeno dos tratos respiratórios superior e inferior, com a excreção ocorrendo de 2 a 14 após a infecção. Dados sorológicos indicam que todas as crianças até os 5 anos já entraram em contato com HMPV.

O papel de HMPV como causador de infecção nosocomial não tem sido muito estudado. Entretanto, sua alta prevalência entre crianças e a semelhança patogênica que guarda com HRSV indicam que HMPV deve ser importante agente de infecções nosocomiais. Trabalhos recentes que mostraram a ocorrência de surtos de infecção por HMPV em unidades pediátricas e geriátricas vieram fortalecer essa indicação.

1.9.2 Principais vias de transmissão

Embora os mecanismos de transmissão ainda não tenham sido completamente investigados, acredita-se que a disseminação de HMPV ocorra por meio de grandes e pequenos perdigotos e fômites de modo semelhante ao que acontece com HRSV. Também não se sabe o papel da contaminação das mãos e do ambiente na transmissão nem a resistência de HMPV em superfícies porosas e não porosas.

1.9.3 Diagnóstico laboratorial

Os procedimentos de coleta e transporte das amostras para detecção do HMPV é exatamente a mesma do que foi descrito para HRSV.

HMPV pode ser isolado em células LLC-MK2, Hep-2, HeLa e outras linhagens celulares a partir de amostras respiratórias diversas. A confirmação por métodos imunológicos, tais como imunofluorescência (IF) e imunoensaio (EIA) enzimáticos, pode ser realizada, já que anticorpos anti-HMPV são disponíveis comercialmente. A detecção diretamente da amostra clínica já pode ser realizada utilizando a IF e EIA e ensaios imunocromatográficos já foram desenvolvidos para uso no ponto de atendimento.

O método de escolha para diagnosticar HMPV tem sido RT-PCR utilizando primers específicos dirigidos ao gene da polimerase (L). Entretanto, em breve, o ensaio padrão a ser adotado para diagnóstico de HMPV e de diversos outros vírus deverá ser o de RT-PCR em tempo real, embora hoje os custos ainda sejam elevados, chegando a ser proibitivos em muitas regiões do mundo.

1.9.4 Principais Medidas de Controle

Como ainda se sabe muito pouco sobre a transmissão de HMPV, medidas específicas para combater a transmissão desse vírus ainda não foram estabelecidas. Recomenda-se que os mesmos procedimentos de segurança adotados para HRSV sejam adotados para crianças infectadas com HMPV. Recomenda-se a higienização das mãos antes e depois do contato com os pacientes infectados e o uso de luvas descartáveis, quando indicado. Vacinas contra esse agente ainda não estão disponíveis e não há antivirais específicos. A ribavirina mostrou-se inibitória da replicação do HMPV *in vitro* e *in vivo*. Por enquanto, esta tem sido a única droga usada em humanos para tratar HMPV nos pacientes graves e transplantados. Um anticorpo monoclonal contra a proteína F desse vírus mostrou-se eficaz no combate à infecção em modelo animal.

1.10 Bocavirus Humano

1.10.1 O agente

Em 2005 um elegante trabalho de metagenômica de vírus respiratórios humanos, feito por Allander e colaboradores, permitiu descobrir um novo parvovírus humano em pacientes com sintomas de doença respiratória. Análises filogenéticas das sequências indicaram que esse vírus possuía grande homologia com os membros do gênero *Bocavirus*, o que levou os autores a denominá-lo de “human bocavirus” (HBoV), pertencente à família *Parvoviridae*, subfamília *Parvovirinae*, gênero *Bocavirus*.

Os parvovírus são vírus de DNA fita simples, não envelopados que estão entre os menores vírus conhecidos. O genoma de HBoV é formado por apenas 5299 bases, contendo 3 ORFs, NS1, NP-1 e VP. O alinhamento dos genomas de HBoV já obtidos mostra baixa heterogeneidade e permite dividi-los em dois clusters principais: os que se agrupam com a amostra ST1 e os que se agrupam com a amostra ST2 descritas originalmente.

Allander e colaboradores mostraram que 3,1% das crianças com sintomas respiratórios de infecção baixa sem agente etiológico identificado apresentavam HBoV nas secreções nasais. Esse resultado levou os autores a sugerir que a infecção por HBoV é comum em humanos e está relacionada à presença de sintomas de doença respiratória, tanto superior quanto inferior. Diversos trabalhos vêm mostrando a circulação disseminada desse agente com frequência variável entre 1,5% e 11,3% (média de 5%) principalmente em crianças menores de 3 anos. Pouco se sabe sobre a biologia e epidemiologia do HBoV. Há indícios de que esse vírus seja sazonal nos países de clima temperado, ocorrendo principalmente durante o fim do outono, inverno e

começo da primavera, muito embora um trabalho tenha descrito sua circulação durante o ano todo. É interessante que a co-infecção de HBoV com outros vírus respiratórios é comum em crianças. Não se conhece todo o espectro de doenças associadas à HBoV, nem sítios de replicação viral, receptor envolvido e especificidades do seu ciclo replicativo.

Devido à sua prevalência elevada em crianças com doenças respiratórias, acredita-se que esse vírus possa ser causa de hospitalização. HBoV tem sido implicado como causa de infecção relacionada à assistência à saúde, indicando que esse agente deve ser visto como potencial causa de surtos nosocomiais.

1.10.2 Principais vias de transmissão

Ainda não existe nenhuma evidência experimental sobre os mecanismos envolvidos na transmissão desse agente. Não se sabe nada sobre a duração da excreção do vírus por uma pessoa infectada, nem quando isso acontece. Não existem evidências de como ocorre a transmissão desse patógeno no ambiente, nem no hospital. Não se sabe se existem outros hospedeiros além da nossa espécie. Por ser um vírus encontrado em secreções respiratórias, acredita-se que sua transmissão possa acontecer através de grandes e pequenos perdigotos e fômites. A contaminação das mãos e de instrumentos e equipamentos hospitalares também pode estar envolvida. Em 2007, HBoV foi detectado em fezes de crianças com diarreia, levantando a hipótese de que esse vírus poderia estar associado a gênese de quadros de gastroenterites na infância. Desse modo, a transmissão fecal-oral também pode estar envolvida na disseminação desse agente.

1.10.3 Diagnóstico laboratorial

Nenhum anticorpo contra HBoV está disponível comercialmente, de modo que ensaios rápidos de IF não são ainda possíveis. Parvovírus humanos não são em geral cultiváveis em monocamada de linhagens celulares comuns, e, portanto, o isolamento viral não está disponível. O melhor método atualmente usado para detectar HBoV clinicamente é o PCR feito em amostras respiratórias coletadas e transportadas conforme descrito anteriormente na seção de diagnóstico laboratorial de HRSV.

A maioria dos trabalhos utiliza PCR convencional com os primers descritos no trabalho pioneiro de Allander e colaboradores (2005). Recentemente, Schenk e colaboradores (2007) descreveram um ensaio de PCR em tempo real para diagnóstico de HBoV. Esse método é particularmente interessante, pois possibilita a quantificação da carga viral, o que pode vir a ser um instrumento importante para a associação entre infecção e quadros clínicos apresentados pelos pacientes.

1.10.4 Principais Medidas de Controle

Não há drogas antivirais nem vacina para HBoV. Não se conhece a resistência de HBoV a produtos normalmente usados para desinfecção e esterilização em ambiente hospitalar. Não se sabe a importância da transmissão manual desse agente, nem a eficácia de lavagens de mãos como medida profilática. Assim, não há ainda consenso sobre que medidas devem ser adotadas para evitar a transmissão hospitalar desse agente. Todavia, é lícito recomendar adoção de medidas gerais de controle para infecções causadas por vírus respiratórios.

1.11 Sarampo

1.11.1 O agente

O vírus do sarampo é do gênero *Morbilivirus*, família *Paramyxoviridae*. É um vírus envelopado com capsídeo helicoidal e genoma de RNA de fita simples, com polaridade negativa. No envelope o vírus apresenta as proteínas hemaglutinina (H), proteína de fusão (F) e uma pequena proteína não glicosilada, denominada proteína M. As duas primeiras são essenciais para a entrada na célula hospedeira e são mantidas constantes entre as várias linhagens conhecidas desse vírus. A proteína H se liga ao receptor de membrana CD46 e a proteína F medeia a fusão das membranas do vírus e da célula hospedeira.

Uma vez no citoplasma da célula hospedeira, o ciclo replicativo procede de maneira semelhante à descrita para HRSV. O RNA de polaridade negativa é transcrito pela RNA-polimerase viral (proteína L) em RNAs mensageiros que vão dirigir a síntese proteica viral. Essa transcrição do genoma também se dá de modo que os genes localizados mais próximos da extremidade 5' são expressos em menor quantidade. Durante o ciclo replicativo do vírus do sarampo são geradas moléculas de RNA complementar (cRNA), de polaridade positiva e tamanho equivalente ao do genoma completo, que servem de molde para a síntese de genomas de polaridade negativa, que formarão a progênie viral. A saída se dá por brotamento através da membrana plasmática da célula hospedeira, onde os vírions adquirem o envelope e as glicoproteínas de superfície (H, F e M).

Uma das características mais notáveis desse vírus é a sua infectividade. Antes da vacina contra sarampo, todas as crianças eram infectadas até os cinco anos e a grande maioria delas apresentava doença. Só nos Estados Unidos da América eram documentados (o que se acredita ser apenas 1/10 do total de casos reais) mais de 400.000 casos de sarampo por ano. As razões dessa grande eficiência ainda não são totalmente entendidas, mas o vírus sobrevi-

ve em microperdigotos onde não é sujeito a distorções por tensão superficial. A transmissão aérea é o principal meio de disseminação do patógeno. A quantidade de vírus excretada pelo hospedeiro infectado não é muito grande, o que sugere que a eficiência de ligação e entrada de um único vírus num novo hospedeiro seja muito grande.

Estima-se que aproximadamente 93% da população seja imune ao sarampo, com alguns grupos de exceção como crianças em idade pré-escolar. Entretanto, muitas pessoas ainda morrem devido a complicações secundárias ao sarampo, muitas delas ocorrendo em face da imunossupressão transitória induzida pela infecção. Estima-se que 869 mil pessoas foram mortas devido a complicações do sarampo no mundo em 2002.

A infecção pelo vírus do sarampo é sistêmica, envolvendo células linfóides e muco-epiteliais em diversos tecidos. O período de incubação é de 8 a 12 dias, durante o qual não há sintomas, mas uma diminuição na contagem de leucócitos, principalmente eosinófilos e linfócitos. O período prodrômico começa depois do período de incubação, dura de 2 a 3 dias e se caracteriza pelo surgimento de febre, mal estar, anorexia, coriza, conjuntivite, espirros e tosse. Durante esse período, o vírus pode ser encontrado em maiores quantidades na lágrima, secreção nasal, fezes e urina. Depois desse estágio, aproximadamente 14-15 dias depois da infecção, começam a aparecer os sintomas característicos do sarampo, com o surgimento do exantema. Imunossupressão associa-se com infecção grave por sarampo, com pneumonia de células gigantes e mortalidade de até 70%.

Antes da vacinação em larga escala, infecções nosocomiais por sarampo eram frequentemente documentadas e constituíam um sério problema de saúde. Com a implementação da vacina em larga escala, a importância desse vírus como causador de infecção relacionada à assistência à saúde foi drasticamente reduzida. Entretanto, com a queda da incidência de sarampo, a familiaridade dos médicos com essa doença diminuiu e, conseqüentemente, elevou-se a dificuldade de reconhecer a doença nos estágios iniciais. Isso faz com que eventuais pacientes com infecção esporádica, principalmente na fase prodrômica, permaneçam sem diagnóstico, disseminando o vírus para outros hospedeiros.

1.11.2 Principais vias de transmissão

O principal veículo de transmissão de sarampo são aerossóis formados por tosse, e suficientemente pequenos para depósito em pequenas vias aéreas. Outras superfícies mucosas também podem ser infectadas, levando à hipótese de que os grandes perdigotos também podem ter um papel importante na transmissão do sarampo.

A infecção do trato urinário resulta na liberação de vírus pela urina que persiste por um dia ou mais além do período de excreção viral pelo trato respiratório, que termina prontamente com o surgimento de anticorpos específicos e exantema. Aerossóis formados durante o ato de urinar também podem transmitir o vírus.

1.11.3 Diagnóstico laboratorial

Por ocasião de surtos, ou em regiões ainda endêmicas, o diagnóstico é geralmente feito com base nos sintomas. Entretanto, além dos sintomas podem ser confundidos com os de outras doenças febris exantemáticas, alguns pacientes, principalmente imunocomprometidos, não apresentam exantema característico de sarampo. Depois do aparecimento do exantema, o método de diagnóstico laboratorial de escolha é a detecção de IgM específica no soro usando *kits* de ELISA sensíveis disponíveis comercialmente. Durante essa fase, dificilmente se detecta o vírus em secreções respiratórias.

Durante os períodos de incubação e prodrômico e em pacientes imunocomprometidos com deficiência de produção de anticorpos, é possível detectar o vírus nas secreções respiratórias (ver Tabela 1 – seção diagnóstico laboratorial de HRSV) e no soro. O isolamento do vírus em cultura é extremamente laborioso e não deve ser adotado para o diagnóstico rotineiro. A detecção direta pode ser realizada por técnicas de imunofluorescência e imunoenzaios enzimáticos, que são sensíveis e específicas. A detecção por RT-PCR convencional usando primers para as regiões conservadas dos genes N, M e F é mais sensível que a detecção de antígenos virais e possibilita, em combinação com métodos de sequenciamento, a identificação e caracterização de genótipos do vírus do sarampo. Ensaios de PCR em tempo real para sarampo já foram desenvolvidos e mostraram-se mais sensíveis que a RT-PCR convencional.

1.11.4 Principais medidas de controle

Como o sarampo é uma doença infecciosa transmitida por aerossol e contato direto, o caso índice deve, se possível, ser isolado e precauções para aerossóis devem ser adotadas (isolamento respiratório, máscara PFF2, etc.). A duração da infectividade do sarampo vai de cerca de quatro dias antes até sete dias depois do aparecimento do exantema. A melhor medida profilática conhecida para combater a disseminação de sarampo, tanto em ambiente hospitalar como na comunidade, é a aplicação da vacina. A vacina contra o sarampo utiliza uma linhagem atenuada do vírus de sarampo, que foi adaptada em células de embrião de galinha que não possuem o receptor humano C46. A vacina contra o sarampo foi primeiramente introduzida nos Estados Unidos da América em 1967 e adotada de maneira global em 1988. Hoje, ela

é aplicada junto com a vacina tríplice viral (sarampo, rubéola e caxumba). No Brasil, a cobertura vacinal é boa e responsável pela eliminação de sarampo endêmico.

Quando um caso de sarampo é detectado, o *status* imunológico de todas as pessoas que tiveram contato íntimo com o paciente (incluindo médicos, enfermeiros, outros funcionários de saúde e parentes) durante o período de infectividade deve ser avaliado. Como o período de incubação do vírus vacinal é menor que a do vírus selvagem, a rápida vacinação pode prevenir o surgimento da doença em pacientes que tenham sido expostos ao vírus selvagem. Recomenda-se a vacinação de todas as pessoas que tiveram contato íntimo com o paciente e cujo *status* imunológico contra o vírus seja desconhecido. Essa medida é contraindicada para pessoas imunodeprimidas e mulheres grávidas.

1.12 Caxumba

1.12.1 O agente

O vírus da caxumba é membro da família *Paramyxoviridae*, subfamília *Paramyxovirinae*, gênero *Rubulavirus*. Testes sorológicos com ensaios de inibição da hemaglutinação ou neutralização identificaram apenas um sorotipo do vírus da caxumba, embora haja, de acordo com a OMS, 12 genótipos (A-N, excluindo E e M). Diferenças de citopaticidade *in vitro* (amostras que induzem fusão *versus* amostras não fusionantes) foram observadas entre diferentes linhagens de vírus de caxumba.

O vírus é envelopado, pleomórfico, com nucleocapsídeo helicoidal, com genoma composto por RNA de fita simples não segmentado, de polaridade negativa com 15.3 kb, que codifica sete proteínas principais. As três proteínas associadas com o complexo ribonucleoproteico são as proteínas do nucleocapsídeo (NP), a fosfoproteína (P) e a RNA polimerase (L). O envelope contém a proteína de matriz (M), a pequena proteína hidrofóbica (SH) e duas glicoproteínas de superfície, a hemaglutinina-neuraminidase (HN) e a proteínas de fusão (F). A penetração do vírus na célula alvo começa com a ligação da proteína HN a receptores da célula hospedeira contendo ácido siálico. A fusão das membranas do vírus e da célula hospedeira é mediada pela proteína F e permite a entrada do nucleocapsídeo. Acontece então a transcrição do genoma de fita negativa em mRNAs e cRNAs de polaridade negativa. Os mRNAs servem de base para a tradução das proteínas virais e o cRNA funciona como molde para a síntese de RNAs genômicos de polaridade negativa. Os nucleocapsídeos virais são montados e ativamente transportados para a

membrana plasmática da célula hospedeira, onde ocorre a associação com a proteína M e o brotamento viral, que carrega consigo a membrana celular carregada com as proteínas HN, F e SH.

Antes da vacinação, a caxumba era uma doença muito prevalente, de distribuição global, que ocorria principalmente entre crianças de idade escolar (50% dos casos eram documentados entre crianças de 5-9 anos). Nos Estados Unidos da América, eram documentados em média 200.000 casos de caxumba por ano. Depois da vacinação a incidência dessa doença caiu abruptamente no mundo e nos EUA menos de 1000 casos de caxumba são documentados por ano desde 1999. A grande maioria dos casos que ocorrem é associada com falhas no sistema de vacinação em massa.

Caxumba é uma doença em geral benigna, cuja letalidade entre 1962 e 1971 foi estimada em 1.6 a 3.8 por 10.000. Os sintomas de caxumba começam depois de um período de incubação de aproximadamente 18 (14-28) dias com curto período prodrômico caracterizado por febre, mal estar, dor de cabeça e anorexia. Segue-se o desenvolvimento dos sintomas clássicos de caxumba, com o alargamento das glândulas salivares, especialmente da parótida. Sintomas respiratórios inespecíficos são observados em mais de 50% dos casos, epidídimo-orquite é comum em homens pós-púberes e meningite asséptica ocorre em 10 a 30% dos casos. Algumas outras manifestações clínicas incomuns podem ocorrer, dentre as quais se destacam: a perda de audição, encefalite, ooforite, mastite, pancreatite, poliartrite, miocardite, tireoidite, hepatite, nefrite, trombocitopenia e envolvimento ocular. A infecção pelo vírus da caxumba pode ser assintomática em 15 a 20% dos casos.

A transmissão nosocomial de caxumba foi documentada antes da vacinação e chegou a constituir problema grave. Com a aplicação da vacina em larga escala, esse problema foi minimizado e casos de infecção nosocomial de caxumba passaram a ser raramente documentados. Entretanto, a ocorrência em anos recentes de surtos esporádicos de caxumba em pessoas vacinadas chama a atenção para a necessidade da comunidade médica se manter alerta para esse diagnóstico e empregar medidas apropriadas de controle da transmissão nosocomial desse agente.

1.12.2 Principais vias de transmissão

O vírus da caxumba carrega alta infectividade e indivíduos voluntários podem ser experimentalmente infectados pela inoculação do vírus da caxumba nas mucosas nasal e bucal, sugerindo que a infecção natural é resultante da disseminação de perdigotos por pessoas infectadas, com importante participação de auto-inoculação por mãos contaminadas.

O vírus da caxumba pode ser detectado em amostras respiratórias cinco dias antes e cerca de cinco dias depois do aparecimento de sintomas clínicos, indicando que uma pessoa infectada pode disseminar o vírus por aproximadamente 10 dias.

1.12.3 Diagnóstico laboratorial

Na maioria de casos de caxumba, o diagnóstico é feito com base nos clássicos sintomas e sinais clínicos, uma abordagem confiável. Entretanto, apresentações atípicas e quadros clínicos semelhantes à caxumba em pessoas corretamente vacinadas requerem o apoio de diagnóstico laboratorial.

A detecção de anticorpos contra o vírus da caxumba por métodos comerciais como o ELISA no soro de pacientes, principalmente IgM, indica uma infecção recente e é usada rotineiramente por muitos laboratórios. O vírus pode ser detectado por isolamento em culturas de células na saliva e da parótida e em secreções respiratórias de pacientes infectados durante os 10 dias de maior infectividade. Os procedimentos de coleta e transporte de vírus respiratórios estão sumarizados no tópico de diagnóstico laboratorial de HRSV (Tabela 1). A maioria dos laboratórios utiliza células primárias de rim de macaco rhesus, mas algumas linhagens celulares também podem ser utilizadas. Métodos sensíveis baseiam-se na detecção direta de antígenos ou genoma do vírus em amostras clínicas. Ensaios de imunofluorescência e ELISA podem ser usados para detectar antígenos virais em secreções respiratórias e saliva de pacientes com suspeita de caxumba. Entretanto, os métodos mais sensíveis são os baseados em diagnóstico molecular, que detectam a presença do genoma viral. Dentre esses, os mais utilizados são os de RT-PCR. Recentemente, ensaios de RT-PCR em tempo real mostraram-se mais sensíveis que o RT-PCR convencional.

1.12.4 Principais medidas de controle

Por ser uma infecção transmitida por gotículas, pacientes com suspeita de caxumba devem ser assistidos com medidas de precaução para gotículas. A melhor medida preventiva conhecida para impedir a disseminação de caxumba, tanto em ambiente hospitalar como na comunidade, é a aplicação de vacina.

A vacina atualmente disponível utiliza linhagem Jeryl-Lynn B do vírus, atenuada por passagens seriadas em ovo embrionado e células de pinto. Uma vacina de vírus inativado por formalina também foi desenvolvida para uso em paciente imunocomprometidos. A vacina de caxumba foi introduzida nos Estados Unidos da América no final da década de 60 e adotada de maneira global em 1988. Hoje, ela é aplicada junto com a tríplice viral (sarampo,

rubéola, caxumba) e é dada em duas doses subcutâneas. A primeira deve ser aplicada do décimo segundo ao décimo quinto mês de vida, enquanto a segunda deve ser aplicada entre o quarto e sexto ano. A vacina só é contraindicada em pessoas imunodeprimidas e grávidas.

1.13 Rubéola

1.13.1 O agente

O vírus da rubéola é o único membro do gênero *Rubivirus* da família *Togaviridae*. Apenas um sorotipo de vírus de rubéola é conhecido e não é relacionado sorologicamente com nenhum outro vírus humano conhecido. Ele é um vírus envelopado, esférico, que mede de 50 a 70nm de diâmetro, tem genoma de RNA fita simples de polaridade positiva de aproximadamente 10kb. As proteínas E1 e E2 localizadas no envoltório viral interagem com um receptor celular, o que resulta na endocitose do vírus. No interior do endossomo ocorre fusão do envoltório viral com a membrana celular, através de um mecanismo dependente de acidificação, liberando o genoma no citosol. O RNA viral funciona como mRNA para dirigir a síntese de uma proteína viral que é clivada dando origem aos diversos componentes do vírus. O RNA genômico serve ainda como molde para a síntese de um RNA complementar de polaridade negativa que serve de molde para a síntese de RNAs genômicos de polaridade positiva. A liberação do vírus acontece por brotamento da membrana celular, ocasião em que os vírions adquirem seu envelope e as glicoproteínas de superfície E1 e E2.

O início da infecção dá-se em células epiteliais do trato respiratório superior, posteriormente alcançando o tecido linfóide da nasofaringe, de onde há disseminação sistêmica envolvendo vários órgãos, incluindo a placenta. O período de incubação dura de 8 a 14 dias e em crianças raramente se observa período prodrômico, mas em adultos e adolescentes infectados pródromos incluindo linfadenopatia, febrícula, calafrios, cefaléia e dor ocular com leve conjuntivite, anorexia, tosse, coriza e dor de garganta podem preceder de 1 a 5 dias os sintomas característicos da doença. O período de estado é caracterizado pelo aparecimento de exantema 16 a 18 dias depois do início da infecção. O exantema é em geral brando, aparece inicialmente na face e rapidamente se dissemina para o tronco e extremidades distais em cerca de 24 horas.

Complicações incluem artrite, artralgia, encefalopatia e trombocitopenia. A mais temível complicação da infecção pelo vírus da rubéola é a habilidade de causar infecção congênita, que resulta em malformações fetais graves.

Os danos causados no feto são resultantes do dano celular consequente à proliferação viral em tecidos embrionários. A infecção congênita é particularmente grave se ocorrer durante o primeiro trimestre de gestação e pode resultar num grande leque de manifestações clínicas, incluindo defeitos oculares como catarata, glaucoma, retinopatia pigmentar, microftalmia, hipoplasia da íris e córnea turva; defeitos auditivos como a surdez sensorial; defeitos cardiovasculares como persistência do canal arterial, estenose pulmonar, defeito septal ventricular e miocardite; defeitos do sistema nervoso central tais como microcefalia, retardo psico-motor, desordem comportamental, desordem na fala, panencefalite progressiva; além de poder causar hepatite, trombocitopenia, linfadenopatia, pneumonite e lesões ósseas. Rubéola congênita está associada frequentemente com perda de concepto.

Antes de 1969, epidemias de rubéola aconteciam em intervalos de 6 a 9 anos nos EUA, com pandemias sucedendo-se a cada 10-30 anos. A última epidemia de rubéola nos EUA aconteceu em 1964 durante a pandemia de 1962 a 1965, com 12.5 milhões de casos documentados em crianças e adultos e 20.000 casos de rubéola congênita. O vírus da rubéola era facilmente transmitido dentro dos hospitais, mas, nos dias atuais, com os programas de imunização, o impacto dessa doença ficou reduzido. Em 2002, 57% dos países do mundo tinham a vacina de rubéola incluída nos seus programas nacionais de imunização.

1.13.2 Principais vias de transmissão

O vírus da rubéola é transmitido principalmente por perdigotos gerados por pessoas infectadas podendo ser detectado em secreções nasofaríngeas desde sete dias antes até o décimo quarto dia após o aparecimento do exantema.

A capacidade individual de disseminar o vírus na comunidade é variável e algumas poucas pessoas podem infectar um grande número de pessoas, enquanto outros disseminam o vírus de maneira pouco eficiente. Fatores genéticos parecem estar associados a esse fenômeno e pessoas com HLA-A1 e HLA-A8 são propensas a disseminar o vírus de maneira mais eficiente. A transmissão vertical é frequente em mulheres grávidas infectadas e as crianças com rubéola congênita também podem transmitir o vírus.

1.13.3 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico clínico da rubéola é difícil, pois a infecção pode ser confundida com outras semelhantes, tais como a infecção por parvovírus B19, dengue, herpesvirus humano 6 e sarampo. Portanto, a confirmação laboratorial é essencial.

O diagnóstico definitivo é feito por métodos de detecção de produtos virais em secreções ou *swab* nasofaríngeos. Na seção de diagnóstico laboratorial de HRSV encontra-se um resumo dos métodos de coleta e transporte de amostras respiratórias (Tabela 1). O vírus também pode ser isolado de linfócitos circulantes por mais de um mês pós-infecção. O isolamento do vírus da rubéola pode ser feito em cultura de células AGMK e BHK-21 cerca de seis dias antes e depois do surgimento do exantema. O isolamento viral é laborioso e não é feito rotineiramente. Amostras clínicas devem ser transportadas para o laboratório em meio de transporte viral. Depois do isolamento, ensaios confirmatórios devem ser realizados, dentre os quais se destacam os ensaios imunoenzimáticos e a imunofluorescência. A detecção direta desse vírus por RT-PCR convencional ou em tempo real é muito sensível e deve ser adotada como método de escolha, inclusive para diagnosticar rubéola no conceito.

No feto, a detecção do vírus da rubéola pode ser feita a partir de aspirados do líquido amniótico. Em natimortos, o vírus pode ser facilmente detectado em tecidos por métodos moleculares, inclusive hibridização *in situ*.

A detecção de anticorpos IgM anti-rubéola por ELISA no soro ainda é o método mais utilizado de rotina para infecções pós-natais e congênicas.

1.13.4 Principais medidas de controle

Pacientes com suspeita de rubéola devem ser isolados e precauções com gotículas devem ser adotadas. A melhor medida profilática contra rubéola, tanto na comunidade quanto em ambiente hospitalar, é a aplicação de vacina.

A vacina atualmente utilizada consiste de uma linhagem do vírus atenuada por setenta e sete passagens seriadas em células AGMK, seguidas por cinco passagens em células de embrião de pato. A vacina contra a rubéola foi licenciada para uso nos EUA em 1969 e em 1971 foi incorporada na vacina tríplice (sarampo, caxumba e rubéola). Essa vacina passou a ser usada em escala global em 1988.

Diante de uma exposição a paciente com rubéola uma avaliação especial deve ser feita em mulheres grávidas. Recomenda-se vacinação de todas as pessoas não previamente imunizadas que tiveram contato próximo com o paciente, ou cujo *status* imunológico para rubéola seja desconhecido. Vacinação é contraindicada para indivíduos imunocomprometidos e mulheres grávidas.

1.14 Parvovírus B19

1.14.1 O agente

O Parvovírus B19 é um pequeno vírus não envelopado, icosaédrico pertencente à família *Parvoviridae*, gênero *Erythrovirus*. Até a descoberta do bocavírus humano em 2005, acreditava-se que o parvovírus B19 era o único membro da família *Parvoviridae* a causar infecção no homem.

Seu genoma é constituído de uma única molécula de DNA de fita simples de aproximadamente 5.500 nucleotídeos, que possui dois quadros abertos de leitura (*open reading frames*, ORFs): um que codifica as proteínas não estruturais (NS1) e outro que codifica as proteínas do capsídeo (VP1 e VP2). As sequências terminais dessa molécula de DNA são palindrômicas e são capazes de assumir uma configuração dupla fita em forma de grampo que servem como primer para a síntese da fita complementar de DNA. O capsídeo viral é constituído por 60 capsômeros formados pelas proteínas VP1 e VP2. O ciclo replicativo do parvovírus B19 começa com a ligação do vírus a receptores nas células hospedeiras, seguida pela internalização e translocação do genoma ao núcleo, replicação do DNA, transcrição do RNA, síntese das proteínas virais, montagem dos capsídeos e encapsidação do DNA viral e finalmente lise das células hospedeira com liberação dos vírus maduros. A transcrição do genoma desse vírus produz pelo menos nove transcritos de mRNA sobrepostos, todos iniciados de um único promotor do início do lado esquerdo (extremidade 5') do genoma. A ligação desse agente às células hospedeiras é mediada pela interação entre a proteína VP2 do capsídeo viral com o receptor na célula hospedeira. O receptor reconhecido até agora para o parvovírus B19 é um globosídeo glicolipídico conhecido como antígeno P de eritrócitos.

A infecção com parvovírus B19 ocorre mundialmente e anticorpos anti-parvovírus B19 são encontrados em 50% das pessoas aos 15 anos de idade e em 90% das pessoas com mais de 60 anos. Na maioria das vezes, a infecção por esse agente é assintomática ou causa sintomas leves, que podem passar despercebidos ou serem confundidos com um resfriado. Entretanto, algumas outras condições clínicas também se associam ao parvovírus B19, com destaque para o eritema infeccioso, artropatia aguda ou persistente, crises aplásticas transitórias, aplasia eritrocíticas, erupções papulares e purpúricas nas mãos e pés ("síndrome das luvas e meias) e hidropsia fetal. Outras condições clínicas menos frequentes que podem ser causadas por parvovírus B19 são encefalopatia, meningite, miocardite, cardiomiopatia dilatada e hepatite autoimune. O pico de viremia e os sintomas iniciais resultantes da infecção por parvovírus B19 ocorrem aproximadamente cinco dias depois da exposi-

ção e fenômenos mediados imunologicamente, como as erupções papulares e artralgia, aparecem geralmente uma semana após o aparecimento dos sintomas. Durante esse período, a grande maioria dos indivíduos infectados apresenta IgM antiparvovírus detectável no soro.

A falta de um envelope viral e o pequeno material genético de DNA fazem desse vírus um agente extremamente resistente ao ambiente e à inativação física o que favorece transmissão nosocomial. Surtos nosocomiais de infecção por parvovírus B19 já foram documentados e mostram a importância de prevenir a transmissão hospitalar desse agente.

1.14.2 Principais vias de transmissão

A transmissão do parvovírus B19 é dependente de contato íntimo com crianças em idade escolar, professores e profissionais de saúde. A transmissão da infecção ocorre principalmente pela rota respiratória, aparentemente por perdigotos. A transmissão horizontal por produtos derivados do sangue, como transfusões sanguíneas, pode ocorrer, mas a probabilidade é extremamente baixa. A transmissão vertical ocorre em um terço dos casos envolvendo mulheres grávidas com infecção primária por parvovírus B19.

1.14.3 Diagnóstico laboratorial

A detecção do vírus em amostras respiratórias é rara, pois o vírus só é encontrado nesse material durante a fase inicial da infecção, quando sintomas são leves ou lembram resfriado. Nessa fase, os pacientes raramente procuram atendimento médico, e quando procuram, raramente a presença de parvovírus B19 é suspeitada.

O diagnóstico é solicitado na maioria das vezes durante a fase sistêmica da infecção. Em pacientes imunocompetentes com eritema infeccioso ou artropatia. Os métodos recomendados para detectar infecção por parvovírus B19 são baseados na detecção de IgM específica. Os ensaios comerciais desenvolvidos geralmente utilizam capsídeos vazios de VP1/VP2 produzidos em sistemas de expressão em células de insetos com baculovírus recombinantes contendo a ORF VLP (que contém os genes de VP1 e VP2) para captura da IgM.

Ensaio baseado na detecção de antígenos virais, como ensaios imunoenzimáticos e de hemaglutinação, e ensaios baseados na detecção do DNA viral no soro de pacientes, são extremamente úteis no diagnóstico de parvovírus B19 em pacientes com crises aplásticas transitórias e nos pacientes imunodeprimidos com infecção crônica. Os métodos baseados na detecção do DNA viral incluem a hibridização direta com sondas específicas e PCR e

o PCR. A PCR convencional é sensível e era até recentemente o método de escolha para o diagnóstico do soro, da medula óssea e membranas sinoviais. Recentemente, ensaio de PCR em tempo real mostrou-se mais sensível que PCR convencional. Esse método possibilita, além da detecção qualitativa desse vírus, a quantificação e a diferenciação dos três genótipos conhecidos de parvovírus B19.

1.14.4 Principais medidas de controle

O CDC (Centers for Disease Control and Prevention) dos Estados Unidos da América recomenda adoção de medidas de precaução com gotículas. No Reino Unido, a principal medida de precaução recomendada no trato de pacientes infectados é a higienização das mãos antes e logo depois do contato, para médicos, funcionários, voluntários e visitantes. Apenas grávidas (com menos de 20 semanas) ou imunodeprimidos que entraram em contato com pacientes infectados durante o período máximo de infectividade (7 dias antes do aparecimento das erupções) devem ser seguidos. Um contato significativo é definido como estar no mesmo quarto (classe escolar, casa, leitos hospitalares próximos) por mais de 15 minutos ou ter tido um contato face a face.

Não existe vacina nem antivirais específicos contra parvovírus B19 e nenhum tipo de terapia é adotado para combater a infecção. Mulheres grávidas infectadas com parvovírus B19 devem ter acompanhamento semanal do feto por ultrassom, pois transfusões intra-uterinas e cordocentese são medidas aplicáveis para diminuir a frequência de morte fetal por hidropsia fetal. O tratamento com imunoglobulina humana mostrou-se benéfico no tratamento de anemia crônica observada em alguns pacientes imunodeprimidos infectados com parvovírus B19.

1.15 Referências Bibliográficas

- (1992). "Outbreak of pharyngoconjunctival fever at a summer camp--North Carolina, 1991." *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 41(19): 342-4.
- (2004). "Progress in reducing global measles deaths: 1999-2002." *Wkly Epidemiol Rec* 79(3): 20-1.
- Adams, R., J. Christenson, et al. (1999). "Pre-emptive use of aerosolized ribavirin in the treatment of asymptomatic pediatric marrow transplant patients testing positive for RSV." *Bone Marrow Transplant* 24(6): 661-4.
- Ahluwalia, G., J. Embree, et al. (1987). "Comparison of nasopharyngeal aspirate and nasopharyngeal *swab* specimens for respiratory syncytial vírus diagnosis by cell culture, indirect immunofluorescence assay, and enzyme-linked immunosorbent assay." *J Clin Microbiol* 25(5): 763-7.
- Aitken, C. and D. J. Jeffries (2001). "Nosocomial spread of viral disease." *Clin Microbiol Rev* 14(3): 528-46.
- Al Faress, S., G. Cartet, et al. (2005). "Divergent genetic evolution of hemagglutinin in influenza A H1N1 and A H1N2 subtypes isolated in the south-France since the winter of 2001-2002." *J Clin Virol* 33(3): 230-6.
- Allander, T., M. T. Tammi, et al. (2005). "Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples." *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(36): 12891-6.
- Anderson, M. J., S. E. Jones, et al. (1985). "Diagnosis of human parvovirus infection by dot-blot hybridization using cloned viral DNA." *J Med Virol* 15(2): 163-72.
- Arnold, J. C., K. K. Singh, et al. (2006). "Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital." *Clin Infect Dis* 43(3): 283-8.
- Arruda, E., T. R. Boyle, et al. (1995). "Localization of human rinovirus replication in the upper respiratory tract by *in situ* hybridization." *J Infect Dis* 171(5): 1329-33.
- Arruda E, C. O., Hayden FG (2006). Respiratory Tract Viral Infections. *Tropical Infectious Disease*. W. D. Guerrant RL, Weller PF. Philadelphia, PA. USA, Elsevier Churchill Livingstone. 1: 637.
- Arruda, E., C. E. Crump, et al. (1996). "Comparative susceptibilities of human embryonic fibroblasts and HeLa cells for isolation of human rinoviruses." *J Clin Microbiol* 34(5): 1277-9.
- Arruda, E. and F. G. Hayden (1996). "Update on therapy of influenza and rinovirus infections." *Adv Exp Med Biol* 394: 175-87.
- Arruda E, H. F. (1995). Clinical Studies of antiviral agents for picornaviral infections. *Antiviral Chemotherapy*. D. C. E. Jeffries D J. London, Wiley: 321.

- Arruda, E., A. Pitkaranta, et al. (1997). "Frequency and natural history of rinovirus infections in adults during autumn." *J Clin Microbiol* 35(11): 2864-8.
- Banatvala, J. E. and D. W. Brown (2004). "Rubella." *Lancet* 363(9415): 1127-37.
- Bastien, N., K. Brandt, et al. (2006). "Human Bocavirus infection, Canada." *Emerg Infect Dis* 12(5): 848-50.
- Black, F. (1997). Measles. *Viral Infections of Humans*. S. K. Evans, RA. New York. USA, Plenum Medical: 507.
- Bloom, M. Y., NS (2001). Parvoviruses. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia, PA, USA, Lippincott Williams & Wilkins. 2: 2361.
- Blount, R. E., Jr., J. A. Morris, et al. (1956). "Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza." *Proc Soc Exp Biol Med* 92(3): 544-9.
- Boivin, G., Y. Abed, et al. (2002). "Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups." *J Infect Dis* 186(9): 1330-4.
- Bonney D, Razali H, Turner A, Will A. (2009). Successful treatment of human metapneumovirus pneumonia using combination therapy with intravenous ribavirin and immune globulin. *Br J Haematol*; 145:667-9.
- Boriskin Yu, S., J. C. Booth, et al. (1993). "Rapid detection of mumps virus by the polymerase chain reaction." *J Virol Methods* 42(1): 23-32.
- Brady, M. T., J. Evans, et al. (1990). "Survival and disinfection of parainfluenza viruses on environmental surfaces." *Am J Infect Control* 18(1): 18-23.
- Brown, K. E., S. M. Anderson, et al. (1993). "Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus." *Science* 262(5130): 114-7.
- Brown, K. E., J. R. Hibbs, et al. (1994). "Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen)." *N Engl J Med* 330(17): 1192-6.
- Bruu, A. L. and S. A. Nordbo (1995). "Evaluation of five commercial tests for detection of immunoglobulin M antibodies to human parvovirus B19." *J Clin Microbiol* 33(5): 1363-5.
- Buynak, E. B. and M. R. Hilleman (1966). "Live attenuated mumps virus vaccine. 1. Vaccine development." *Proc Soc Exp Biol Med* 123(3): 768-75.
- Camara, A. A., J. M. Silva, et al. (2004). "Risk factors for wheezing in a subtropical environment: role of respiratory viruses and allergen sensitization." *J Allergy Clin Immunol* 113(3): 551-7.
- Candeias, J. A., R. P. Carvalho, et al. (1972). "Seroepidemiologic study of coronavirus infection in Brazilian children and civilian adults." *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 14(2): 121-5.

- Carbone KM, W. (2001). Mumps Virus. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia, PA, USA, Lippincott Williams & Wilkins. 1: 1381.
- Cassinotti, P., G. Burtonboy, et al. (1997). "Evidence for persistence of human parvovirus B19 DNA in bone marrow." *J Med Virol* 53(3): 229-32.
- Cassinotti, P. and G. Siegl (2000). "Quantitative evidence for persistence of human parvovirus B19 DNA in an immunocompetent individual." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19(11): 886-7.
- CDC (2006). CDC, Questions & Answers: The Nasal-Spray Flu Vaccine (Live Attenuated Influenza Vaccine [LAIV]).
- Chano, F., C. Rousseau, et al. (2005). "Epidemiological survey of human metapneumovirus infection in a large pediatric tertiary care center." *J Clin Microbiol* 43(11): 5520-5.
- Chanock RM, M. B., Collins PL (2001). Paraonfluenza viruses. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia PA, USA, Lippincott Willims & Wilkins. 1: 1341.
- Chantler, J. W., JS; Tingle, A. (2001). Rubella Virus. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 1: 963.
- Chen, J., K. H. Lee, et al. (1998). "Structure of the hemagglutinin precursor cleavage site, a determinant of influenza pathogenicity and the origin of the labile conformation." *Cell* 95(3): 409-17.
- Chilvers, M. A., M. McKean, et al. (2001). "The effects of coronavirus on human nasal ciliated respiratory epithelium." *Eur Respir J* 18(6): 965-70.
- Choi, E. H., H. J. Lee, et al. (2006). "The association of newly identified respiratory viruses with lower respiratory tract infections in Korean children, 2000-2005." *Clin Infect Dis* 43(5): 585-92.
- Chouch, R. (2001). Rinovirus. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia PA. USA, Lippincott Williams & Wilkins. 1: 777.
- Chu, C. M., V. C. Cheng, et al. (2004). "Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings." *Thorax* 59(3): 252-6.
- Cintra, O. A., M. A. Owa, et al. (2001). "Occurrence and severity of infections caused by subgroup A and B respiratory syncytial virus in children in southeast Brazil." *J Med Virol* 65(2): 408-12.
- Coello, R., H. Glenister, et al. (1993). "The cost of infection in surgical patients: a case-control study." *J Hosp Infect* 25(4): 239-50.
- Cohen, B. J. and K. E. Brown (1992). "Laboratory infection with human parvovirus B19." *J Infect* 24(1): 113-4.
- Coiras, M. T., J. C. Aguilar, et al. (2004). "Simultaneous detection of fourteen respiratory viruses in clinical specimens by two multiplex reverse transcription nested-PCR assays." *J Med Virol* 72(3): 484-95.

- Collins, P. L. (2001). Respiratory Syncytial Virus. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia, PA, USA, Lippincott Willinams & Wilkins. 1: 1443.
- Cote, S., Y. Abed, et al. (2003). "Comparative evaluation of real-time PCR assays for detection of the human metapneumovirus." *J Clin Microbiol* 41(8): 3631-5.
- Cradock-Watson, J. E., E. Miller, et al. (1989). "Detection of rubella virus in fetal and placental tissues and in the throats of neonates after serologically confirmed rubella in pregnancy." *Prenat Diagn* 9(2): 91-6.
- Cuevas, L. E., A. M. Nasser, et al. (2003). "Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus, Brazil." *Emerg Infect Dis* 9(12): 1626-8.
- Dagher, H., H. Donninger, et al. (2004). "Rinovirus detection: comparison of real-time and conventional PCR." *J Virol Methods* 117(2): 113-21.
- Davis, W. J., H. E. Larson, et al. (1971). "A study of rubella immunity and resistance to infection." *Jama* 215(4): 600-8.
- de Arruda, E., F. G. Hayden, et al. (1991). "Acute respiratory viral infections in ambulatory children of urban northeast Brazil." *J Infect Dis* 164(2): 252-8.
- Debur Mdo, C., J. Bordignon, et al. (2007). "Acute respiratory infection by human metapneumovirus in children in southern Brazil." *J Clin Virol* 39(1): 59-62.
- Dijkman R, Koekkoek SM, Molenkamp R, Schildgen O, van der Hoek L. (2009). Human bocavirus can be cultured in differentiated human airway epithelial cells. *J Virol*. Aug;83(15):7739-48.
- Donnelly, C. A., A. C. Ghani, et al. (2003). "Epidemiological determinants of spread of causal agent of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong." *Lancet* 361(9371): 1761-6.
- El Mubarak, H. S., R. L. De Swart, et al. (2005). "Development of a semi-quantitative real-time RT-PCR for the detection of measles virus." *J Clin Virol* 32(4): 313-7.
- Elliman, D. and N. Sengupta (2005). "Measles." *Curr Opin Infect Dis* 18(3): 229-34.
- Falk, W. A., K. Buchan, et al. (1989). "The epidemiology of mumps in southern Alberta 1980-1982." *Am J Epidemiol* 130(4): 736-49.
- Forthal, D. N., J. Blanding, et al. (1993). "Comparison of different methods and cell lines for isolating measles virus." *J Clin Microbiol* 31(3): 695-7.
- Fouchier, R. A., N. G. Hartwig, et al. (2004). "A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(16): 6212-6.
- Fouchier, R. A., V. Munster, et al. (2005). "Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls." *J Virol* 79(5): 2814-22.

- Frickhofen, N., J. L. Abkowitz, et al. (1990). "Persistent B19 parvovirus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1): a treatable cause of anemia in Aids." *Ann Intern Med* 113(12): 926-33.
- Fujimoto, T., T. Okafuji, et al. (2004). "Evaluation of a bedside immunochromatographic test for detection of adenovirus in respiratory samples, by comparison to virus isolation, PCR, and real-time PCR." *J Clin Microbiol* 42(12): 5489-92.
- Fulton, R. E. and P. J. Middleton (1975). "Immunofluorescence in diagnosis of measles infections in children." *J Pediatr* 86(1): 17-22.
- Garofalo, R., J. L. Kimpen, et al. (1992). "Eosinophil degranulation in the respiratory tract during naturally acquired respiratory syncytial virus infection." *J Pediatr* 120(1): 28-32.
- Ghedini, E., N. A. Sengamalay, et al. (2005). "Large-scale sequencing of human influenza reveals the dynamic nature of viral genome evolution." *Nature* 437(7062): 1162-6.
- Ghosh, S., R. Champlin, et al. (1999). "Rhinovirus infections in myelosuppressed adult blood and marrow transplant recipients." *Clin Infect Dis* 29(3): 528-32.
- Gillespie, S. M., M. L. Cartter, et al. (1990). "Occupational risk of human parvovirus B19 infection for school and day-care personnel during an outbreak of erythema infectiosum." *Jama* 263(15): 2061-5.
- Gnann, J. (2002). Mumps Virus. *Clinical Virology*. W. R. Richman DD, Hayden FG. Washington, DC, USA, ASM Press: 829.
- Graham, B. S. (1996). "Immunological determinants of disease caused by respiratory syncytial virus." *Trends Microbiol* 4(7): 290-3.
- Green, R. H., M. R. Balsamo, et al. (1965). "Studies of the natural history and prevention of rubella." *Am J Dis Child* 110(4): 348-65.
- Gresser, I. and S. L. Katz (1960). "Isolation of measles virus from urine." *N Engl J Med* 263: 452-4.
- Griffin, D. (2001). Measles Virus. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia PA, USA, Lippincott Williams & Wilkins. 1: 1401.
- Gwaltney, J. M., Jr., C. D. Phillips, et al. (1994). "Computed tomographic study of the common cold." *N Engl J Med* 330(1): 25-30.
- Hayden, F. G. and A. J. Hay (1992). "Emergence and transmission of influenza A viruses resistant to amantadine and rimantadine." *Curr Top Microbiol Immunol* 176: 119-30.
- Hayden FG, P. P. (1997). Influenza Virus. *Clinical Virology*. W. R. Richman DD, Hayden FG. New York, Churchill Livingstone: 911.
- Hamelin ME, Prince GA, Boivin G. (2006). Effect of ribavirin and glucocorticoid treatment in a mouse model of human metapneumovirus infection. *Antimicrob Agents Chemother*;50:774-7.

- Heegaard, E. D. and K. E. Brown (2002). "Human parvovirus B19." *Clin Microbiol Rev* 15(3): 485-505.
- Henle, G., F. Deinhardt, et al. (1958). "Studies on persistent infections of tissue cultures. I. General aspects of the system." *J Exp Med* 108(4): 537-60.
- Henrickson, K. J. (2003). "Parainfluenza viruses." *Clin Microbiol Rev* 16(2): 242-64.
- Heymann, P. W., H. T. Carper, et al. (2004). "Viral infections in relation to age, atopy, and season of admission among children hospitalized for wheezing." *J Allergy Clin Immunol* 114(2): 239-47.
- Higgins, P. G., R. J. Phillpotts, et al. (1983). "Intranasal interferon as protection against experimental respiratory coronavirus infection in volunteers." *Antimicrob Agents Chemother* 24(5): 713-5.
- Hilleman, M. R., E. B. Buynak, et al. (1969). "Live attenuated rubella virus vaccines. Experiences with duck embryo cell preparations." *Am J Dis Child* 118(2): 166-71.
- Ho-Terry, L., G. M. Terry, et al. (1990). "Diagnosis of foetal rubella virus infection by polymerase chain reaction." *J Gen Virol* 71 (Pt 7): 1607-11.
- Hoffman, S. J., F. R. Laham, et al. (2004). "Mechanisms of illness during respiratory syncytial virus infection: the lungs, the virus and the immune response." *Microbes Infect* 6(8): 767-72.
- Hokynar, K., P. Norja, et al. (2004). "Detection and differentiation of human parvovirus variants by commercial quantitative real-time PCR tests." *J Clin Microbiol* 42(5): 2013-9.
- Holmes, K. (2001). Coronaviruses. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 1: 1187.
- Honda, H., J. Iwahashi, et al. (2006). "Outbreak of human metapneumovirus infection in elderly inpatients in Japan." *J Am Geriatr Soc* 54(1): 177-80.
- Honeyman, M. C., D. C. Dorman, et al. (1975). "HL-A antigens in congenital rubella and the role of antigens 1 and 8 in the epidemiology of natural rubella." *Tissue Antigens* 5(1): 12-8.
- Horwitz (2001). Adenoviruses. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia PA, USA, Lippincott Williams & Wilkins. 2: 2301.
- Howe, M. (2002). "Australian find suggests worldwide reach for metapneumovirus." *Lancet Infect Dis* 2(4): 202.
- Hu, A., M. Colella, et al. (2005). "Development of a real-time RT-PCR assay for detection and quantitation of parainfluenza virus 3." *J Virol Methods* 130(1-2): 145-8.
- ICTV (2011). Adenoviridae. In: ICTVdB – The Universal Virus Database, version 3. C. Buchen-Osmond, ICTVdB Management, Columbia University, New York, USA
- ICTV (2011). Coronaviridae. In: ICTVdB – The Universal Virus Database, version 3. C. Buchen-Osmond, ICTVdB Management, Columbia University, New York, USA.

- ICTV (2011). Paramyxoviridae. In: ICTVdB – The Universal Virus Database, version 3. C. Buchen-Osmond, CTVdB Management, Columbia University, New York, USA.
- ICTV (2011). Parvoviridae. In: ICTVdB – The Universal Virus Database, version 3. C. Buchen-Osmond, CTVdB Management, Columbia University, New York, USA.
- ICTV (2011). Picornaviridae. In: ICTVdB – The Universal Virus Database, version 3. C. Buchen-Osmond, ICTVdB Management, Columbia University, New York, USA
- ICTV (2011). Togaviridae. In: ICTVdB – The Universal Virus Database, version 3
C. Buchen-Osmond, CTVdB Management, Columbia University, New York, USA.
- Jartti, T., B. van den Hoogen, et al. (2002). "Metapneumovirus and acute wheezing in children." *Lancet* 360(9343): 1393-4.
- Johnson, S., C. Oliver, et al. (1997). "Development of a humanized monoclonal antibody (MEDI-493) with potent *in vitro* and *in vivo* activity against respiratory syncytial virus." *J Infect Dis* 176(5): 1215-24.
- Kajon, A. E., A. S. Mistchenko, et al. (1996). "Molecular epidemiology of adenovirus acute lower respiratory infections of children in the south cone of South America (1991-1994)." *J Med Virol* 48(2): 151-6.
- Karron, R. A., D. A. Buonagurio, et al. (1997). "Respiratory syncytial virus (RSV) SH and G proteins are not essential for viral replication *in vitro*: clinical evaluation and molecular characterization of a cold-passaged, attenuated RSV subgroup B mutant." *Proc Natl Acad Sci USA* 94(25): 13961-6.
- Kesebir, D., M. Vazquez, et al. (2006). "Human bocavirus infection in young children in the United States: molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus." *J Infect Dis* 194(9): 1276-82.
- Kikuta, H., T. Ebihara, et al. (2007). "Development of a rapid chromatographic immunoassay for detection of human metapneumovirus using monoclonal antibodies against nucleoprotein of hMPV." *Hybridoma (Larchmt)* 26(1): 17-21.
- Kimberlin, D. (2002). Rubella Virus. *Clinical Virology*. W. R. Richman DD, Hayden FG. Washington DC, USA, ASM Press: 1211.
- Knott, A. M., C. E. Long, et al. (1994). "Parainfluenza viral infections in pediatric outpatients: seasonal patterns and clinical characteristics." *Pediatr Infect Dis J* 13(4): 269-73.
- Konig, B., W. Konig, et al. (2004). "Prospective study of human metapneumovirus infection in children less than 3 years of age." *J Clin Microbiol* 42(10): 4632-5.
- Krause, C. H., K. Eastick, et al. (2006). "Real-time PCR for mumps diagnosis on clinical specimens--comparison with results of conventional methods of virus detection and nested PCR." *J Clin Virol* 37(3): 184-9.

- Ksiazek, T. G., D. Erdman, et al. (2003). "A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome." *N Engl J Med* 348(20): 1953-66.
- Kuypers, J., N. Wright, et al. (2004). "Evaluation of quantitative and type-specific real-time RT-PCR assays for detection of respiratory syncytial virus in respiratory specimens from children." *J Clin Virol* 31(2): 123-9.
- Lamb AR, K. D. (2001). Paramyxoviridae: The viruses and their replication. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia, PA, USA, Lippincott Williams & Wilkins. 1: 1305.
- Lamb RA, K. R. (2001). Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia, PA, USA, Lippincott Williams & Wilkins. 1: 1487.
- Leung, A. K., J. D. Kellner, et al. (2004). "Viral croup: a current perspective." *J Pediatr Health Care* 18(6): 297-301.
- Levandowski, R. A. and M. Rubenis (1981). "Nosocomial conjunctivitis caused by adenovirus type 4." *J Infect Dis* 143(1): 28-31.
- Levine, S., R. Klaiber-Franco, et al. (1987). "Demonstration that glycoprotein G is the attachment protein of respiratory syncytial virus." *J Gen Virol* 68 (Pt 9): 2521-4.
- Li, K. S., Y. Guan, et al. (2004). "Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia." *Nature* 430(6996): 209-13.
- Lipatov, A. S., E. A. Govorkova, et al. (2004). "Influenza: emergence and control." *J Virol* 78(17): 8951-9.
- Louie JK, Schnurr DP, Pan CY, Kiang D, Carter C, Tougaw S, et al. (2007) A Summer outbreak of human metapneumovirus infection in a long-term-care facility. *J Infect Dis*;196:705-8.
- Ma, X., R. Endo, et al. (2006). "Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections." *J Clin Microbiol* 44(3): 1132-4.
- Mackay, I. M., K. C. Jacob, et al. (2003). "Molecular assays for detection of human metapneumovirus." *J Clin Microbiol* 41(1): 100-5.
- MacPhail, M., J. H. Schickli, et al. (2004). "Identification of small-animal and primate models for evaluation of vaccine candidates for human metapneumovirus (hMPV) and implications for hMPV vaccine design." *J Gen Virol* 85(Pt 6): 1655-63.
- Manning, A., V. Russell, et al. (2006). "Epidemiological profile and clinical associations of human bocavirus and other human parvoviruses." *J Infect Dis* 194(9): 1283-90.
- Marra, M. A., S. J. Jones, et al. (2003). "The Genome sequence of the SARS-associated coronavirus." *Science* 300(5624): 1399-404.
- McCarthy, A. J., M. Bergin, et al. (1995). "Intravenous ribavirin therapy for disseminated adenovirus infection." *Pediatr Infect Dis J* 14(11): 1003-4.

- McIntosh, K. (2006). "Human bocavírus: developing evidence for pathogenicity." *J Infect Dis* 194(9): 1197-9.
- Merz, D. C. and J. S. Wolinsky (1981). "Biochemical features of mumps vírus neuraminidases and their relationship with pathogenicity." *Virology* 114(1): 218-27.
- Message, S. D. and S. L. Johnston (2002). "Viruses in asthma." *Br Med Bull* 61: 29-43.
- Minnich, L. L., F. Goodenough, et al. (1991). "Use of immunofluorescence to identify measles vírus infections." *J Clin Microbiol* 29(6): 1148-50.
- Moisiuk, S. E., D. Robson, et al. (1998). "Outbreak of parainfluenza vírus type 3 in an intermediate care neonatal nursery." *Pediatr Infect Dis J* 17(1): 49-53.
- Norrby, E. and K. Penttinen (1978). "Differences in antibodies to the surface components of mumps vírus after immunization with formalin-inactivated and live vaccines." *J Infect Dis* 138(5): 672-6.
- Oliveira, S. A., M. M. Siqueira, et al. (2001). "The aetiology of maculopapular rash diseases in Niteroi, State of Rio de Janeiro, Brazil: implications for measles surveillance." *Epidemiol Infect* 127(3): 509-16.
- Oxman, M. (2002). Measles Virus. *Clinical Virology*. W. R. Richman DD, Hayden FG. Washington, DC, USA, ASM Press: 791.
- Peiris, J. S., C. M. Chu, et al. (2003). "Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study." *Lancet* 361(9371): 1767-72.
- Peret, T. C., G. Boivin, et al. (2002). "Characterization of human metapneumoviruses isolated from patients in North America." *J Infect Dis* 185(11): 1660-3.
- Peret, T. C., C. B. Hall, et al. (2000). "Circulation patterns of group A and B human respiratory syncytial vírus genotypes in 5 communities in North America." *J Infect Dis* 181(6): 1891-6.
- Peret, T. C., C. B. Hall, et al. (1998). "Circulation patterns of genetically distinct group A and B strains of human respiratory syncytial vírus in a community." *J Gen Virol* 79 (Pt 9): 2221-9.
- Pitkaranta, A., E. Arruda, et al. (1997). "Detection of rinovirus in sinus brushings of patients with acute community-acquired sinusitis by reverse transcription-PCR." *J Clin Microbiol* 35(7): 1791-3.
- Poland, G. A. and K. L. Nichol (1990). "Medical students as sources of rubella and measles outbreaks." *Arch Intern Med* 150(1): 44-6.
- Poon, L. L., Y. Guan, et al. (2004). "The aetiology, origins, and diagnosis of severe acute respiratory syndrome." *Lancet Infect Dis* 4(11): 663-71.
- Proença-Módena JL, A. E. (2007). "H5N1 Avian Influenza Virus: An Overview." *The Brazilian Journal of Infectious Disease* 11(1): 117-125.

- Raad, I., J. Abbas, et al. (1997). "Infection control of nosocomial respiratory viral disease in the immunocompromised host." *Am J Med* 102(3A): 48-52; discussion 53-4.
- Rakes, G. P., E. Arruda, et al. (1999). "Rhinovirus and respiratory syncytial virus in wheezing children requiring emergency care. IgE and eosinophil analyses." *Am J Respir Crit Care Med* 159(3): 785-90.
- Ruan, Y. J., C. L. Wei, et al. (2003). "Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection." *Lancet* 361(9371): 1779-85.
- Ruuskanen, O., M. Arola, et al. (1989). "Acute otitis media and respiratory virus infections." *Pediatr Infect Dis J* 8(2): 94-9.
- Ruuskanen, O., H. Nohynek, et al. (1992). "Pneumonia in childhood: etiology and response to antimicrobial therapy." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 11(3): 217-23.
- Saal, J. G., M. Steidle, et al. (1992). "Persistence of B19 parvovirus in synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis." *Rheumatol Int* 12(4): 147-51.
- Sattar, S. A. (2004). "Microbicides and the environmental control of nosocomial viral infections." *J Hosp Infect* 56 Suppl 2: S64-9.
- Schenk, T., B. Huck, et al. (2007). "Human bocavirus DNA detected by quantitative real-time PCR in two children hospitalized for lower respiratory tract infection." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26(2): 147-9.
- Schiff, G. M. and M. S. Dine (1965). "Transmission of rubella from newborns. A controlled study among young adult women and report of an unusual case." *Am J Dis Child* 110(4): 447-51.
- Schild, R. L., R. Bald, et al. (1999). "Intrauterine management of fetal parvovirus B19 infection." *Ultrasound Obstet Gynecol* 13(3): 161-6.
- Semple, M. G., A. Cowell, et al. (2005). "Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis." *J Infect Dis* 191(3): 382-6.
- Servey, J. T., B. V. Reamy, et al. (2007). "Clinical presentations of parvovirus B19 infection." *Am Fam Physician* 75(3): 373-6.
- Shimizu, H., C. A. McCarthy, et al. (1993). "Polymerase chain reaction for detection of measles virus in clinical samples." *J Clin Microbiol* 31(5): 1034-9.
- Sloots, T. P., P. McErlean, et al. (2006). "Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children." *J Clin Virol* 35(1): 99-102.
- Smaron, M. F., E. Saxon, et al. (1991). "Diagnosis of measles by fluorescent antibody and culture of nasopharyngeal secretions." *J Virol Methods* 33(1-2): 223-9.

- Souza, L. S., E. A. Ramos, et al. (2003). "Viral respiratory infections in young children attending day care in urban Northeast Brazil." *Pediatr Pulmonol* 35(3): 184-91.
- Sparling, D. (1969). "Transmission of mumps." *N Engl J Med* 280(5): 276.
- Steinhauer, D. A. (1999). "Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza vírus." *Virology* 258(1): 1-20.
- Stockton, J., I. Stephenson, et al. (2002). "Human metapneumovirus as a cause of community-acquired respiratory illness." *Emerg Infect Dis* 8(9): 897-901.
- Straliotto, S. M., M. M. Siqueira, et al. (2002). "Viral etiology of acute respiratory infections among children in Porto Alegre, RS, Brazil." *Rev Soc Bras Med Trop* 35(4): 283-91.
- Tayyari F, Marchant D, Moraes TJ, Duan W, Mastrangelo P, Hegele RG. (2011). Identification of nucleolin as a cellular receptor for human respiratory syncytial virus. *Nat Med*. Aug 14;17(9):1132-5.
- Templeton, K. E., S. A. Scheltinga, et al. (2004). "Rapid and sensitive method using multiplex real-time PCR for diagnosis of infections by influenza A and influenza B viruses, respiratory syncytial vírus, and parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4." *J Clin Microbiol* 42(4): 1564-9.
- Todd, S. J., L. Minnich, et al. (1995). "Comparison of rapid immunofluorescence procedure with TestPack RSV and Directigen FLU-A for diagnosis of respiratory syncytial vírus and influenza A vírus." *J Clin Microbiol* 33(6): 1650-1.
- Valenti, W. M., M. A. Menegus, et al. (1980). "Nosocomial viral infections: I. Epidemiology and significance." *Infect Control* 1(1): 33-7.
- van den Hoogen, B. G., T. M. Bestebroer, et al. (2002). "Analysis of the genomic sequence of a human metapneumovirus." *Virology* 295(1): 119-32.
- van den Hoogen, B. G., J. C. de Jong, et al. (2001). "A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease." *Nat Med* 7(6): 719-24.
- van den Hoogen, B. G., S. Herfst, et al. (2004). "Antigenic and genetic variability of human metapneumoviruses." *Emerg Infect Dis* 10(4): 658-66.
- van den Hoogen, B. G., G. J. van Doornum, et al. (2003). "Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients." *J Infect Dis* 188(10): 1571-7.
- van der Hoek, L., K. Pyrc, et al. (2004). "Identification of a new human coronavirus." *Nat Med* 10(4): 368-73.
- van Elden, L. J., A. M. van Loon, et al. (2004). "Frequent detection of human coronaviruses in clinical specimens from patients with respiratory tract infection by use of a novel real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction." *J Infect Dis* 189(4): 652-7.
- Varior-Krishnan, G., M. C. Trescol-Biemont, et al. (1994). "Glycosyl-phosphatidylinositol-anchored and transmembrane forms of CD46 display similar measles vírus receptor properties: vírus binding, fusion, and replication; down-regulation by hemagglutinin; and

- vírus uptake and endocytosis for antigen presentation by major histocompatibility complex class II molecules." *J Virol* 68(12): 7891-9.
- Vieira, S. E., K. E. Stewien, et al. (2001). "Clinical patterns and seasonal trends in respiratory syncytial vírus hospitalizations in Sao Paulo, Brazil." *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 43(3): 125-31.
- von Itzstein, M., W. Y. Wu, et al. (1993). "Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza vírus replication." *Nature* 363(6428): 418-23.
- Walsh, E. E., D. R. Peterson, et al. (2004). "Risk factors for severe respiratory syncytial vírus infection in elderly persons." *J Infect Dis* 189(2): 233-8.
- Welliver, R. C., D. T. Wong, et al. (1981). "The development of respiratory syncytial vírus-specific IgE and the release of histamine in nasopharyngeal secretions after infection." *N Engl J Med* 305(15): 841-6.
- Wendt, C. H., D. J. Weisdorf, et al. (1992). "Parainfluenza vírus respiratory infection after bone marrow transplantation." *N Engl J Med* 326(14): 921-6.
- Wenzel, R. P. (1995). "The Lowbury Lecture. The economics of nosocomial infections." *J Hosp Infect* 31(2): 79-87.
- Whimbey, E., R. E. Champlin, et al. (1996). "Community respiratory vírus infections among hospitalized adult bone marrow transplant recipients." *Clin Infect Dis* 22(5): 778-82.
- WHO (1979) "Manual for Rapid Laboratory Viral Diagnosis." Volume, DOI:
- WHO (2002). Prevention of hospital acquired infections, a practical guide.
- WHO (2012). "Immunization, Vaccines and Biologicals: Mumps vaccine".
- Wright PF, W. R. (2001). Orthomyxoviruses. *Fields Virology*. H. P. Knipe DK. Philadelphia PA, USA, Lippincott Williams & Wilkins. 1: 1533.
- Yam, W. C., K. H. Chan, et al. (2003). "Evaluation of reverse transcription-PCR assays for rapid diagnosis of severe acute respiratory syndrome associated with a novel coronavirus." *J Clin Microbiol* 41(10): 4521-4.
- Zhang, L., M. E. Peeples, et al. (2002). "Respiratory syncytial vírus infection of human airway epithelial cells is polarized, specific to ciliated cells, and without obvious cytopathology." *J Virol* 76(11): 5654-66.
- Zheng, H., T. C. Peret, et al. (1996). "Strain-specific reverse transcriptase PCR assay: means to distinguish candidate vaccine from wild-type strains of respiratory syncytial vírus." *J Clin Microbiol* 34(2): 334-7.



Capítulo 2:

Vírus de Transmissão Fecal-Oral

*Veridiana Munford
Hugo dos Reis Resque
Juliana Galera Castilho
Thabata Alessandra Ramos Caruso
Maria Lucia Rácz*

2.1 Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde pelos vírus de transmissão fecal-oral

Os vírus causam aproximadamente 60% de todas as infecções humanas e a prevenção e manejo das doenças virais são baseados em vacinação e medicamentos antivirais, que são, em geral, apenas 60% efetivos. As doenças mais comuns são causadas por vírus entéricos e respiratórios.

A transmissão viral é dependente da interação do hospedeiro com o meio ambiente. Os vírus são a principal causa de infecções adquiridas em ambientes fechados. A rápida disseminação de doenças virais em estabelecimentos com muitas pessoas, incluindo escolas, creches, enfermarias, escritórios e hospitais, contribuem para a morbidade e a mortalidade.

Antes, durante e depois de uma doença viral, os vírus são excretados em grandes quantidades nas secreções corporais, incluindo sangue, fezes, urina, saliva e fluidos nasais. Existem dificuldades na distinção das diferentes vias de transmissão, como pessoa-pessoa, autoinoculação ou transferência passiva, pois os vírus podem contaminar as superfícies e serem transmitidos para outros hospedeiros.

Fômites consistem em superfícies porosas e não porosas ou objetos que podem ser contaminados com micro-organismos patogênicos e servir como veículos na transmissão de doenças. As fômites tornam-se contaminadas por contato direto com secreções ou fluídos, contato com mãos sujas, com aerossóis contendo vírus gerados pela fala, tosse, vômitos ou contato com vírus presentes no ar, provenientes do distúrbio de fômites contaminados (por exemplo, arejar um cobertor contaminado). Quando fômites são contaminados, a transferência de vírus infecciosos pode ocorrer

rapidamente entre objetos inanimados e pessoas ou entre duas fômites diferentes. Se os vírus puderem permanecer viáveis nas superfícies, em tempo suficiente para entrar em contato com um hospedeiro eles precisam apenas estar presentes em pequena quantidade. Os vírus são agentes infecciosos intracelulares obrigatórios e a quantidade de vírus em superfícies só pode diminuir. A capacidade de sobrevivência do vírus bem como as propriedades da superfície contaminada e do meio ambiente (temperatura, umidade) e o título viral interferem na taxa de sobrevivência do vírus. A maioria dos vírus permanece viável em superfícies não porosas.

Os vírus transmitidos por via fecal-oral, como os rotavírus, adenovírus, norovírus, astrovírus, vírus das hepatites A e C podem permanecer viáveis em superfícies por mais de dois meses. Foi estimado que um único episódio de vômito pode produzir 30 milhões de partículas virais, e durante o pico das infecções entéricas, mais de 10^{11} virions/g de fezes são excretados.

Os rotavírus são patógenos relevantes em hospitais, especialmente em pacientes imunossuprimidos, entre os quais a maioria dos casos tem origem nosocomial.

Os vírus entéricos já foram detectados em carpetes, cortinas, armários, lençóis, copos, torneiras, maçanetas, brinquedos, telefones, bebedouros, mesas, termômetros, papel, louça, panos de algodão, látex e outros. Rotavírus foi detectado em 16-30% dos fômites obtidos em creches.

A higienização das mãos diminui a ocorrência de doenças gastrointestinais, bem como de doenças respiratórias. A desinfecção das fômites pode diminuir a contaminação e interromper a disseminação da doença.

2.2 Rotavírus

2.2.1 Agente

Os rotavírus são membros da família *Reoviridae*, gênero *Rotavirus*. Atualmente, encontram-se descritas cinco espécies, *Rotavirus A, B, C, D e E*, bem como três espécies tentativas, *Rotavirus F, G e NADRV (Novel Adult Diarrhoea Rotavirus)*.

A partícula viral tem morfologia esférica, simetria icosaédrica, com 100 nm de diâmetro e não apresenta envelope lipoproteico. O cápside viral é constituído por três camadas protéicas concêntricas. À microscopia eletrônica podem ser observadas partículas completas, partículas desprovidas do cápside externo (partículas incompletas) e partículas vazias, sem ácido nucleico. As partículas completas são infecciosas enquanto as incompletas não o são.

A camada interna do cápside, ou *core* viral, é constituída por pelo menos quatro proteínas: a proteína VP1 (125 Kd), que é a polimerase viral; a proteína VP3 (88 Kd), que tem atividade de guanilil transferase; e mais externamente, a proteína VP2 (94 Kd), responsável pela ligação do RNA ao interior do “*core*”; e necessária para a atividade de replicase da VP1. Circundando o *core*, tem-se o cápside interno, constituído pela proteína VP6 (46 Kd), que possui propriedades imunogênicas. Na terceira camada, o cápside externo contém duas proteínas estruturais: a proteína VP4 (88 Kd), que representa as espículas da partícula viral, e a glicoproteína VP7 (38 Kd).

O genoma dos rotavírus é constituído por 11 segmentos de RNA de fita dupla (dsRNA), com pesos moleculares que variam de 0,6 a 3,3 Kbp, o que permite sua separação por técnicas de eletroforese em gel de poliacrilamida. Cada segmento codifica para pelo menos uma proteína, e a correspondência entre os segmentos do dsRNA e as proteínas do rotavírus é bem conhecida.

As espécies de rotavírus correspondem à classificação antigênica de grupos sorológicos (A, B, C, D, E, F e G). Os rotavírus mais frequentemente encontrados em todas as espécies animais pertencem ao grupo A. Os demais grupos são mais raramente encontrados.

As demais classificações sorológicas, subgrupo e sorotipo, estão estabelecidas apenas para os rotavírus do grupo A. O antígeno de subgrupo está situado no polipeptídeo VP6 do cápside interno. Atualmente, são reconhecidos quatro subgrupos distintos, I, II, I e II e não I–não II, sendo detectados por ensaio imunoenzimático ou por hemaglutinação por imunoaderência.

Os antígenos que determinam o sorotipo estão localizados em duas proteínas do cápside externo dos rotavírus: a glicoproteína VP7, codificada, dependendo da cepa, pelos segmentos genômicos 7, 8 ou 9; e a proteína VP4, codificada pelo quarto segmento genômico. As duas proteínas possuem papéis igualmente importantes na imunogenicidade dos rotavírus. De acordo com a proposta de nomenclatura binária para os sorotipos de rotavírus, a especificidade antigênica da glicoproteína VP7 dos sorotipos estabelecidos de rotavírus é designada utilizando-se a letra G, de glicoproteína. A nomenclatura proposta para a especificidade antigênica da proteína VP4 é a utilização da letra P, pelo fato de essa proteína ser sensível a proteases.

São atualmente bem estabelecidos 25 sorotipos/genótipos G de rotavírus do grupo A, de acordo com a especificidade da glicoproteína VP7, designados G1 a G15. Em amostras de rotavírus de humanos, são mais frequentemente encontrados os sorotipos G1 a G4. Os sorotipos G8, G9 e G12 também foram

descritos em humanos. Mais recentemente, os sorotipos G5, G6, G10, G11 e G12 também foram identificados em amostras de rotavírus de humanos. Em amostras de rotavírus de animais, são identificados principalmente os sorotipos G5 e G11 em suínos e G6, G8 e G10 em bovinos. Os genótipos G13 e G14 foram identificados exclusivamente em amostras de rotavírus de equinos e o G7, somente em amostras de rotavírus de aves.

Com relação à proteína VP4, existem descritos 15 sorotipos P de rotavírus. Essa proteína dos rotavírus tem sido também caracterizada pela sequência de nucleotídeos ou por hibridização com sondas de ácido nucleico, sendo estabelecidos 35 genótipos P, designados P[1] a P[35].

A nomenclatura utilizada para a classificação dos rotavírus segue normas estipuladas pelo *International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)*. O *ICTV* recomenda que a designação completa do sorotipo e genótipo P deva ser feita utilizando-se numeração simples para indicar o sorotipo, seguido de numeração entre colchetes para indicar o genótipo. Por exemplo, a amostra padrão HRV-A/WA é designada P1A[8].

2.2.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

O processo infeccioso instala-se rapidamente em cerca de 48 horas, entrando em regressão ao fim de três a cinco dias. Apesar disso, os vírus podem ser eliminados ainda, por oito dias e, em alguns casos, até cerca de 40 dias. Os rotavírus replicam-se nas células do topo das vilosidades intestinais, não sendo atingidas as células que formam as criptas de Lieberkuhn. A reconstituição dos enterócitos faz-se lentamente, o que pode ser considerado uma das causas da longa duração dos quadros diarreicos por rotavírus; a outra causa seria, eventualmente, o acentuado aumento do peristaltismo no íleo inflamado. No caso das gastroenterites ocasionadas por rotavírus, o fluxo da água e eletrólitos no intestino torna-se alterado não só por lesão do enterócito, mas também por perturbações do processo de reabsorção de fluidos intestinais. Recentemente, foi relatado que a proteína não estrutural NSP4, produzida durante a infecção viral, tem atividade de enterotoxina, sendo a primeira enterotoxina viral descrita.

A maioria dos relatos clínicos sobre quadros com implicação etiológica por rotavírus faz referência a casos autolimitados com graus leves de desidratação. A duração dos quadros diarreicos causados por rotavírus parece ser independente do estado nutricional, mas, obviamente, as perdas de fluidos acarretam maiores prejuízos em crianças de baixo peso.

A infecção por rotavírus é seguida do aparecimento de anticorpos das classes IgM e IgG. Ao nascer, 73 a 80% das crianças possuem anticorpos do tipo IgG contra rotavírus, de origem materna, havendo depois um declínio acentuado dos mesmos, seguido de elevação a partir do sexto mês; aos 18 meses, 50% a 90% das crianças possuem anticorpos contra rotavírus.

Os estudos sobre a infecção de bezerros e suínos por rotavírus evidenciam que a imunidade local, no intestino, está relacionada não com os anticorpos circulantes, mas com a presença de anticorpos secretores de tipo IgA no lúmen intestinal, não importando se esses foram elaborados localmente ou ingeridos com o colostro ou leite, situação essa idêntica à que ocorre nas infecções humanas. Além da amamentação natural, que explicaria a baixa incidência dos quadros de gastroenterite por rotavírus e sua benignidade em recém-nascidos, outros elementos parecem interferir, como a ocorrência no leite de fatores inespecíficos de ação antiviral.

A grande maioria das crianças é infectada durante o período compreendido entre os seis meses e os seis anos de idade. Em crianças menores de um ano com quadros de gastroenterite, cerca de 25% dos casos são positivos para rotavírus. Essa percentagem atinge valores de até 90% entre um e três anos, para decrescer a cerca de 30% em crianças de quatro a seis anos.

O período de incubação do vírus é de 24 a 48 horas, seguido de vômitos por três dias e diarreia por três a oito dias. Febre e dores abdominais ocorrem frequentemente. A excreção máxima de vírus ocorre entre o terceiro e o quarto dia da doença, sendo possível encontrar mais de 10^9 partículas por grama de fezes. Com a idade de quatro anos, a maioria das pessoas já foi infectada e é imune à síndrome grave, mas inóculos altos ou imunidade diminuída podem produzir doença leve em crianças maiores e adultos. Têm sido descritos casos de reinfeção, provavelmente ocasionados por sorotipos diferentes dos responsáveis pela infecção inicial. Em adultos, as infecções estão normalmente associadas a indivíduos que possuem um estreito relacionamento com crianças infectadas, além de terem sido relatados surtos em adultos causados por rotavírus das espécies B e C, mais raros.

Podem ocorrer infecções no período neonatal, em geral de acentuada benignidade, porque os anticorpos transplacentários, transferidos durante a gravidez, protegem contra a doença nos três a seis primeiros meses de vida, em crianças de mais idade e em adultos. Estudos realizados em comunidades isoladas parecem sugerir que, na ocorrência de infecções por rotavírus com características epidêmicas, o que é raro em comunidades não-isoladas, indivíduos de todas as idades são atingidos.

A distribuição estacional das infecções por rotavírus evidencia uma marcada preferência pelos meses de temperaturas médias e com umidade relativa do ar em níveis mais baixos.

Os rotavírus são de fácil transmissão nos ambientes familiar e hospitalar. Particularmente em berçários parecem ocorrer condições para uma longa permanência de rotavírus viáveis, dada a frequência com que os recém-nascidos, pouco depois da admissão, apresentam sintomas de infecção. Essa pode surgir sob a forma de diarreia muito discreta, ou mesmo sem sintomas manifestos, o que contrasta com os quadros de sintomatologia mais acentuada, que podem, ainda que raramente, levar à morte por desidratação e hipernatremia em grupos de maior idade. Se essa diferença resulta de uma defesa mais eficiente pela ação de anticorpos maternos, ou se advém da presença de fatores fisiológicos ainda não identificados, não está definido. Embora se saiba que no colostro e no leite materno podem ser encontrados anticorpos específicos da classe IgA, cujo título, no entanto, cai rapidamente, não está ainda esclarecido em que medida o leite exerce seu papel protetor nos países em desenvolvimento, onde a amamentação natural muitas vezes se prolonga bem depois dos seis meses, período em que a doença por rotavírus também é mais frequente. Em crianças imunodeficientes, há certa tendência para a evolução crônica dos quadros de gastroenterite.

Estudos de epidemiologia molecular têm evidenciado que os tipos G1P1A[8], G2P1B[4], G3P1A[8] e G4P1A[8] são os mais comumente encontrados em diversos países. No Brasil, além desses tipos, tem sido relatado o sorotipo G5, característico de suínos, infectando crianças. O sorotipo G9 é considerado emergente, tendo sido descrito em muitos países, inclusive no Brasil. Além disso, ainda no Brasil, existem vários relatos de diferentes associações entre os genótipos P e G, como por exemplo G1P1B[4], G2P1A[8] ou G2P2A[6], em amostras de rotavírus de humanos. Genótipos característicos de amostras de rotavírus de humanos foram descritos e confirmados por sequenciamento de nucleotídeos e clonagem genômica em amostras de rotavírus de bovino do estado de Goiás. Esses genótipos foram encontrados formando combinações atípicas de genótipos G e P e/ou como misturas de dois ou mais genótipos em uma mesma amostra, principalmente em relação ao genótipo P.

2.2.3 Diagnóstico laboratorial

Inicialmente, foi encontrada grande dificuldade no cultivo dos rotavírus em culturas celulares, o que levou ao desenvolvimento de técnicas de diagnóstico através da identificação direta dos vírus nas fezes, onde estão presentes em número elevado, ao redor de 10^{11} partículas virais/grama de fezes.

Para o exame direto do material fecal, é possível recorrer a uma série de técnicas não imunológicas, das quais as mais utilizadas são a microscopia eletrônica e a eletroforese do genoma dsRNA em gel de poliacrilamida. As técnicas imunológicas mais utilizadas são o ensaio imunoenzimático e a aglutinação de partículas de látex e identificam apenas os *Rotavirus A*. Podem ainda ser utilizadas as técnicas de imunoeletromicroscopia, imunoeletrosmoforese, imunofluorescência, radioimunoensaio e fixação do complemento.

A eletroforese em gel de poliacrilamida, que separa o RNA segmentado dos rotavírus em 11 bandas, cuja localização no gel depende de seu peso molecular, permite o estudo dos rotavírus de acordo com os tipos eletroforéticos. Algumas características eletroforéticas podem permitir a distinção dos rotavírus da espécie A de espécies não-A. Lançando mão dessa técnica, pode-se realizar o diagnóstico laboratorial das infecções intestinais por rotavírus, uma vez que, em material fecal, só esses vírus possuem um genoma com semelhantes características.

A imunoeletromicroscopia foi a primeira técnica sorológica a ser utilizada no diagnóstico das infecções humanas por rotavírus. No entanto, a complexidade da técnica e o tempo consumido para sua execução rapidamente obrigaram a sua substituição por outras técnicas, como o ensaio imunoenzimático.

Para a sorotipagem de rotavírus, importante em estudos epidemiológicos, têm sido utilizadas as reações imunoenzimáticas com anticorpos monoclonais específicos para grupo, subgrupo e sorotipo.

Com o avanço da biologia molecular, surgiram as técnicas que atualmente fornecem dados mais específicos e completos sobre os rotavírus circulantes em uma população: a reação de transcrição reversa (RT) seguida pela reação em cadeia pela polimerase (PCR – *polymerase chain reaction*) e o sequenciamento genômico. As duas técnicas, disponíveis para os genótipos G e P, permitem a caracterização de amostras que não podem ser classificadas pelos métodos sorológicos, além de detectar possíveis misturas de genótipos em uma mesma amostra.

2.2.4 Principais medidas de controle

A amamentação ao peito ainda é uma das ações protetoras de melhor eficácia, pela imunidade que confere e pelo poder protetor de fatores inespecíficos do leite. O tratamento indicado é o restabelecimento do equilíbrio através de terapia de reidratação oral ou, em casos graves, parenteral.

Estima-se que a vacinação de crianças contra infecções por rotavírus seria capaz de prevenir a morte de 352.000 a 592.000 de crianças a cada ano. Há mais de duas décadas a Organização Mundial da Saúde – OMS e a Aliança Global para Vacinação e Imunização identificaram a vacina de rotavírus como uma das prioridades a serem desenvolvidas, especialmente em regiões da África, Ásia, Índia e China onde ocorrem 90% das mortes.

A primeira vacina que completou os testes clínicos e foi liberada para uso foi a vacina tetravalente Rotashield-RRV™ (Wyeth Lederle Vaccines, Philadelphia). A vacina era composta por quatro vírus vivos sendo um atenuado (MMU18006 de macaco Rhesus, com especificidade para o sorotipo G3 humano), e três vírus recombinantes, contendo esse mesmo vírus com um único gene (VP7) substituído, correspondendo aos sorotipos G1, G2 e G4 humanos. Essa vacina foi licenciada em outubro de 1998, nos Estados Unidos, e recomendada para uso oral, em 3 doses, aos 2, 4 e 6 meses de idade. Nove meses após sua liberação aproximadamente 600 mil crianças foram vacinadas com três doses de vacina. Em junho de 1999, foram diagnosticados 15 casos de intussuscepção (obstrução aguda do intestino) em crianças, em até duas semanas após a vacinação com a Rotashield™. Em julho desse mesmo ano, o uso da vacina foi suspenso e em outubro foi cancelada a recomendação de uso da RRV-TV.

A vacina pentavalente bovino-humana, RotaTeq®, produzida pelo laboratório Merck, EUA contém cinco vírus obtidos por recombinação genética. Quatro vírus recombinantes expressam uma das proteínas do capsídeo externo da amostra humana de rotavírus (G1, G2, G3 e G4) e a proteína VP4 do rotavírus de bovino original (WC3, (P7[5]G6). O quinto recombinante expressa a proteína VP4 do rotavírus humano (P1A[8]) e a proteína VP7 G6 do vírus bovino original. O resultado final é uma vacina pentavalente que oferece proteção contra os genótipos G1, G2, G3, G4 e P1A[8], que representam 75% dos casos de rotavírus identificados em todo o mundo. No total, os estudos da RotaTeq® envolveram mais de 72 000 crianças, para verificar a ocorrência de intussuscepção. Os resultados demonstraram eficácia de 74% para proteção contra qualquer gastroenterite por rotavírus e 98% contra formas graves de infecção. Além disso, durante a fase de testes a vacina demonstrou não aumentar o risco de intussuscepção nos lactentes que foram vacinados. A vacina é administrada por via oral em 3 doses: aos dois, quatro e seis meses de idade. A primeira dose deve ser administrada somente a crianças entre 6 e 12 semanas de idade, e a série deve estar completa antes de 32 semanas de idade. Essa vacina encontra-se licenciada nos EUA desde fevereiro de 2006 e também no México e aguarda o licenciamento na Europa e no Brasil. Até 15 de fevereiro de 2007, foram distribuídas 3,6 milhões de doses de vacinas

nos Estados Unidos e os dados da vigilância do CDC, do FDA e do fabricante da vacina não sugerem nenhuma associação da administração dessa vacina com intussuscepção.

A outra vacina comercializada atualmente, Rotarix[®], do laboratório GlaxoSmithKline, é monovalente e preparada com uma amostra rotavírus humano atenuado P1A[8]G1. Os resultados do estudo pré-clínicos com mais de 60.000 crianças demonstraram uma eficácia de cerca de 70% em prevenir qualquer forma de gastroenterite por rotavírus e de 85% em prevenir formas grave. Essa vacina também não foi associada a um aumento no risco de intussuscepção e foi demonstrado que ocorre proteção eficiente contra sorotipos diferentes do sorotipo vacinal. A Rotarix[®] encontra-se licenciada em aproximadamente 65 países da América Latina, África, Ásia e em países da União Européia e já foi introduzida nos programas nacionais de vacinação no Brasil, Panamá e Venezuela.

No Brasil, a vacina foi incorporada ao Programa Nacional de Imunizações (PNI) brasileiro e a sua aplicação rotineira iniciou-se em março de 2006. A partir dessa data, o Ministério da Saúde oferece através do Sistema Único de Saúde (SUS), a vacina contra rotavírus ministrada em duas doses gratuitas: uma aos dois meses de idade e outra aos quatro meses. O Brasil foi o primeiro país a incluir a vacina contra o rotavírus em seu sistema público de saúde.

2.3 Norovirus e Sapovirus

2.3.1 Agente

Os calicivírus pertencem à família *Caliciviridae*, que compreende cinco gêneros: *Lagovirus*, *Vesivirus* e *Nebovirus*, contendo vírus de animais, e *Norovirus* e *Sapovirus* que contêm os calicivírus humanos (HuCV), que são agentes etiológicos de gastroenterites. O nome calicivírus é derivado do latim *calix*, que significa cálice e refere-se às depressões em forma de cálice, visíveis na superfície do vírus, ao microscópio eletrônico.

A partícula viral é composta por um capsídeo protéico, não envelopado, com simetria icosaédrica, e diâmetro de 27 a 40 nm. O cápside viral é formado por 90 dímeros da proteína estrutural. O genoma viral consiste de uma molécula linear de RNA de fita simples de polaridade positiva (+ssRNA) de 7,4 a 8,3 kb, contendo três janelas abertas de leitura (ORF – *Open Reading frame*). Para o vírus Norwalk (NV), a primeira ORF da extremidade 5' codifica uma poliproteína com sequências semelhantes às proteínas não-estruturais dos picornavírus, incluindo a RNA polimerase dependente de RNA. A ORF2 codi-

fica a proteína VP1, presente em maior quantidade no capsídeo. A ORF3, na extremidade 3' do genoma, codifica uma proteína pequena VP2, associada ao virion. Uma proteína (VPg) encontra-se ligada covalentemente à extremidade 5' do RNA genômico e a extremidade 3' é poliadenilada. Acredita-se que essa proteína seja necessária para infectividade do RNA viral e também para iniciação da síntese do RNA viral.

No gênero *Norovirus* (NLV), existe uma espécie definida, *Norwalk virus*, e cinco espécies tentativas, uma de humanos, o vírus Alphantron, duas de bovinos, uma de suínos e uma de murinos. O vírus tipo Norwalk deve seu nome ao fato de ter sido isolado de um surto de gastroenterite em alunos e professores de uma escola primária de Norwalk, Ohio, surto esse em que 50% dos professores e alunos e cerca de 35% dos contatos familiares adoeceram. A identificação do agente etiológico foi feita por microscopia eletrônica, e foi observado tratar-se de um vírus esférico com diâmetro entre 23 e 30 nm. O vírus Norwalk é o agente representativo de um grupo heterogêneo de vírus, anteriormente chamados vírus pequenos esféricos estruturados (*SRSV – small round structured viruses*) ou vírus semelhantes ao Norwalk (*Norwalk-like*). A relação antigênica entre os muitos membros dessa espécie de vírus é complexa e os agentes são normalmente identificados pelo local onde os surtos ocorreram. Os NLV, espécie *Norwalk virus*, são classificados em cinco genogrupos. Os genogrupos GI e GII contêm a maioria dos norovírus humanos. O genogrupo GI inclui oito genótipos; o GII engloba 19 genótipos, humanos e de suínos. No GIII estão dois genótipos de norovírus bovinos, o GIV inclui o vírus Alphantron e o GV contém um genótipo de norovírus de camundongo (Tabela 1).

Tabela 1. Genogrupos e genótipos de Norovirus

Genogrupo	Genótipo	Vírus Padrão	Acesso GenBank
I	GI.1	Norwalk/1968/US	M87661
I	GI.2	Southampton/1991/UK	L07418
I	GI.3	Desert Shield 395/1990/US	U04469
I	GI.4	Chiba 407/1987/JP	AB042808
I	GI.5	Musgrove/1989/UK	AJ277614
I	GI.6	Hesse 3(BS5)/1997/DE	AF093797
I	GI.7	Winchester/1994/UK	AJ277609
I	GI.8	Boxer/2001/US	AF538679
II	GII.1	Hawaii/1971/US	U07611
II	GII.2	Melksham/1994/UK	X81879
II	GII.3	Toronto/24/1991/CA	U02030
II	GII.4	Bristol/1993/UK	X76716
II	GII.5	Hillingdon/1990/UK	AJ277607
II	GII.6	Seacroft/1990/UK	AJ277620
II	GII.7	Leeds/1990/UK	AJ277608
II	GII.8	Amsterdam/1998/NL	AF195848
II	GII.9	VA97207/1997/US	AY038599
II	GII.10	Erfur546/200/DE	AF427118
II	GII.11	Sw/SW918/1997/JP	AB074893
II	GII.12	Wortley/1990/UK	AJ277618
II	GII.13	Fayetteville/1998/US	AY113106
II	GII.14	M7/1999/US	AY130761
II	GII.15	J23/1999/US	AY130762
II	GII.16	Tiffin/1999/US	AY502010
II	GII.17	CS-E1/2002/US	AY502009
II	GII.18	Sw/OH-QW101/2003/US	AY823304
II	GII.19	Sw/OH-QW170/2003/US	AY823306
III	GIII.1	Bo/Jena/1980/DE	AJ011099
III	GIII.2	Bo/CH126/1998/NL	AF320625
IV	GIV.1	Alphatron 98-2/1998/NL	AF195847
V	GV.1	Mu/MNV-1/2003/US	AY228235

Abreviações de países: CA: Canadá; DE: Alemanha; JP: Japão; NL: Holanda; SA: Arábia Saudita; UK: Reino Unido; US: Estados Unidos

Abreviações de espécies: Bo: Bovina; Mu: Murina; Sw: Suína; quando não houver sigla, os vírus são da espécie humana.

Os vírus do gênero *Sapovirus* (SV) têm, à microscopia eletrônica, a morfologia mais característica do calicivírus, com estrutura mais definida que os norovírus. Os SV, espécie *Sapporo virus*, são também classificados em cinco genogrupos. Os genogrupos GI e GII apresentam, cada um, três genótipos de vírus de humanos. O genogrupo GIII inclui dois genótipos de sapovírus de suínos. O GIV e o GV contêm, cada um, um genótipo de sapovírus de humanos (Tabela 2).

Tabela 2. Genogrupos e genótipos de Sapovirus

Genogrupo	Genótipo	Vírus Padrão	Acesso GenBank
I	GI.1	Sapporo/19982/JP	U65427
I	GI.2	Parkville/1994/US	U73124
I	GI.3	Stockholm318/1997/SE	AF194182
II	GII.1	London/1992/UK	U95645
II	GII.2	Mex340/1990/MX	AF435812
II	GII.3	Ceruse ship/2000/US	AY289804
III	GIII.1	Sw/PEC-Cowden/1980/US	AF182760
IV	GIV.1	Hou7-1181/1990/US	AF435814
V	GV.1	Argentina39/AR	AY228235

Abreviações de países: AR: Argentina; MX: México; JP: Japão; SE: Suécia; UK: Reino Unido; US: Estados Unidos.

Abreviações de espécies: Sw: Suína; quando não houver sigla, os vírus são da espécie humana.

2.3.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

Ao contrário da gastroenterite ocasionada por rotavírus, o quadro diarreico causado pelos norovírus tem curta duração, de 24 a 48 horas, com duração média de 24 horas; ocorre com frequência em ambiente familiar e escolas, atingindo, indistintamente, crianças e adultos. A diarreia é mais frequente em adultos, enquanto uma alta proporção de crianças apresenta vômitos. O período médio de incubação é de dez a 51 horas, com média de 24 horas, e os sintomas são idênticos aos da gastroenterite por rotavírus (náuseas e vômitos, dores abdominais, diarreia e febre). Embora os sintomas normalmente desapareçam dentro de 12 a 72 horas, a excreção viral pode exceder 22 dias. Assim, pessoas infectadas continuam sendo fontes de infecção, mesmo após recuperação da doença. Quando comparadas as características clínicas da gastroenterite causada pelos norovírus e pelos sapovírus em crianças conclui-se que os norovírus induzem vômitos como principal sintoma enquanto os sapovírus normalmente causam diarreia.

A transmissão dos norovírus ocorre através da via fecal-oral, e o vírus consegue atravessar o estômago por ser resistente à acidez. A infecção primária

ocorre na porção proximal do intestino delgado com expansão das criptas, encurtamento das microvilosidades, infiltração de células mononucleares e vacuolização citoplasmática. Ocorrem lesões na mucosa intestinal, o lúmen torna-se inflamado e células epiteliais de absorção desenvolvem uma aparência anormal. Entretanto, em duas semanas, o intestino delgado retorna a aparência histológica normal.

Relativamente à imunidade, estudos em voluntários estabeleceram que existem duas formas de resistência aos norovírus, uma de curta duração (seis a 14 semanas) e outra de longa duração (nove a 15 meses). A imunidade de curta duração é sorotipo específica e pode ser correlacionada com o desenvolvimento de resposta imune sérica e mucosa. A de longa duração aparentemente não segue o padrão dos demais vírus, pois a presença de anticorpos séricos e locais contra os norovírus não apresenta correlação com a resistência à doença. Os sapovírus não foram estudados em voluntários e a imunidade a esse grupo de vírus é menos conhecida, mas acredita-se que haja uma correlação da presença de anticorpos com a resistência à infecção em crianças.

Os norovírus são a causa mais frequente de surtos de gastroenterite não bacteriana que ocorrem em comunidades, escolas, hospitais, instituições, acampamentos, navios de cruzeiro, casas de repouso, universidades e famílias. Vários alimentos têm sido implicados em surtos de norovírus, como saladas, melão, salada de fruta, sanduíches, gelo e água. São também a causa mais frequente de surtos de gastroenterite aguda após ingestão de ostras e mariscos crus. Além dos surtos, os norovírus são responsáveis por numerosos casos esporádicos de gastroenterite e também são patógenos importantes em doenças endêmicas, sendo responsáveis por 10-20% de todos os casos de gastroenterite endêmica em alguns países. Os sapovírus são mais frequentemente associados a gastroenterites pediátricas e não são associados a surtos em adultos e crianças maiores.

Os estudos da epidemiologia molecular mostram uma grande diversidade genética dos norovírus. Os vírus do genogrupo GII têm sido encontrados com maior frequência do que os vírus do genogrupo GI, na maioria dos países onde norovírus foram estudados. A genotipagem de amostras circulantes é uma ferramenta importante para elucidar a origem e disseminação dos vírus em surtos. Os sistemas de tipagem mostram a divisão dos gêneros *Norovirus* e *Sapovirus* em genogrupos e genótipos. As Tabelas 1 e 2 apresentam essa divisão, mostrando o protótipo de cada genótipo de norovírus e sapovírus em seu respectivo genogrupo. Os norovírus do genogrupo GII, especialmente os do genótipo GII4 são os predominantes na maioria dos

países. Estudo realizado em São Paulo mostrou que esse é o genótipo mais frequente também em nosso meio.

Os sapovírus também apresentam diversidade genética e um sistema de tipagem também foi proposto para esses vírus (Tabela 2).

O significado biológico e epidemiológico da diversidade genética de norovírus e sapovírus ainda não é bem definido. Os relacionamentos antigênicos não podem ser definidos pela reação de neutralização, pois esses vírus ainda não foram cultivados e, assim, ainda é desconhecido o impacto da diversidade genética em estudos de prevenção da doença através da vacinação.

2.3.3 Diagnóstico laboratorial

Uma análise de surtos indica que pode ser feito um diagnóstico provisório de norovírus se os seguintes critérios forem cumpridos: (a) patógenos bacterianos ou parasitas não forem detectados; (b) vômitos ocorrendo em mais de 50% dos casos; (c) a duração média ou mediana da doença de 12 a 60 horas e (d) período de incubação de 24 a 48 horas.

Entre os vírus que causam gastroenterite aguda, somente os calicivírus humanos ainda não foram cultivados em culturas celulares, dificultando, assim, sua detecção, pela impossibilidade da produção de imunorreagentes, que levaria à utilização de técnicas sensíveis e específicas.

A identificação do norovírus por microscopia eletrônica é dificultada em razão da curta duração da excreção do vírus e porque esse vírus não possui uma morfologia bem definida e está presente, na maioria das vezes, em baixas concentrações nas fezes. Pode ser utilizada a imunomicroscopia eletrônica, mas soros específicos, de convalescentes humanos ou anticorpos específicos produzidos por proteínas recombinantes, são de difícil obtenção.

O desenvolvimento de partículas semelhantes a vírus (VLP – *virus-like particles*) através de técnicas de expressão de proteínas virais, principalmente em sistemas que usam baculovírus, possibilitou o desenvolvimento de testes de diagnóstico baseados em anticorpos. O ensaio imunoenzimático (EIA), utilizando soros hiperimunes preparados contra as VLPs, altamente específico para a VLP utilizada na produção do anticorpo, tem sido descrito para detecção de vários norovírus e sapovírus, mas não está disponível de forma comercial. Foram também desenvolvidos alguns testes baseados em anticorpos monoclonais, já disponíveis de forma comercial.

A técnica mais utilizada atualmente para detecção de norovírus é a reação de transcrição reversa combinada com a reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) para detecção do ácido nucleico viral. Com esse método, o RNA viral pode ser detectado em amostras clínicas, como fezes ou vômito, e em água e alimentos contaminados. A RT-PCR quantitativa em tempo real (*real-time RT-PCR*) também tem sido utilizada pois possibilita a detecção rápida e a comparação da quantidade de RNA viral nas amostras. A região mais utilizada nessa amplificação corresponde ao gene da RNA polimerase, altamente conservado. Essa técnica é considerada mais sensível do que a microscopia eletrônica para a detecção dos norovírus, pois possibilita a identificação do vírus, mesmo que as amostras apresentem um número pequeno de partículas virais, e é capaz de detectar o vírus duas semanas após o desaparecimento dos sintomas.

2.3.4 Principais medidas de controle

Não há tratamento específico, nem se dispõe de qualquer tipo de vacina. Em surtos, em geral as medidas de contenção e prevenção da disseminação dos vírus incluem medidas padrão de precaução e higienização frequente das mãos e a descontaminação ambiental. Os norovírus são resistentes a produtos de limpeza contendo detergentes e etanol e a desinfecção de superfícies requer a utilização de produtos contendo hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio ou compostos fenólicos.

As infecções são autolimitadas e muitos pacientes recuperam-se sem sequelas. A hidratação é normalmente mantida usando fluido oral com líquidos isotônicos. Se os sintomas como diarreia e vômitos foram severos, pode ser necessária a administração de fluidos de forma parenteral. As pessoas incapazes de manter a hidratação, especialmente indivíduos debilitados, como idosos e crianças imunocomprometidas, podem necessitar hospitalização. A morte, embora muito rara, pode ocorrer como resultado de um distúrbio eletrolítico.

Um dos maiores obstáculos para a formulação de uma estratégia de imunização contra os norovírus e sapovírus é que a base para a imunidade ainda não é bem compreendida. Como ainda não existe possibilidade de cultivo desses vírus, estão sendo estudadas as partículas semelhantes a vírus (VLP – *virus-like particles*) como potenciais vacinas de subunidades. Essas VLPs são imunogênicas, seguras, estáveis em pH ácido, e, portanto, podem ser administradas por via oral.

2.4 Astrovírus

Os astrovírus são considerados atualmente uma importante causa de gastroenterite viral aguda em crianças, sendo associados a 2-8% das infecções não-bacterianas, embora alguns estudos cheguem a relatar prevalência superior a 20%.

2.4.1 Agente

Os astrovírus pertencem à família *Astroviridae*, gênero *Mamastrovirus*, que contém os astrovírus que infectam mamíferos e *Avastrovirus*, que infectam aves. O gênero *Mamastrovirus* apresenta seis espécies, entre as quais, a espécie *Human astrovirus* (HAstV). A partícula viral possui simetria icosaédrica, sem envelope. A morfologia, característica à microscopia eletrônica, é esférica, com diâmetro de 28-30 nm. Um capsídeo em forma de estrela de cinco a seis pontas (*astron* = estrela, em grego), ornamentado com pequenas espículas, pode ser visualizado em apenas 10% dos virions, o que dificulta sua identificação morfológica em amostras de fezes.

O genoma dos astrovírus é constituído por um RNA poliadenilado de fita simples, de polaridade positiva (+ssRNA), com 6,4 a 7,4 kilobases. Durante a infecção de células suscetíveis, duas espécies de RNA podem ser observadas: um RNA genômico (gRNA) e um RNA subgenômico (sgRNA), de aproximadamente 2,8 Kb). O genoma viral possui três janelas abertas de leitura (ORF – *open reading frame*): ORF1a, ORF1b e ORF2. As ORFs 1a e 1b estão localizadas na extremidade 5' do genoma e codificam proteínas não-estruturais, presumidamente envolvidas na transcrição e replicação do RNA. A ORF1a codifica para quatro proteínas transmembrânicas hidrofóbicas, para uma protease e para uma proteína que contém um sinal de localização nuclear. A ORF1b codifica para a RNA polimerase RNA dependente. A ORF2 está localizada na extremidade 3', é comum aos RNAs genômico e subgenômico e codifica uma proteína estrutural, de aproximadamente 87 kDa, que é precursora das proteínas que formam o capsídeo dos virions maduros.

Os astrovírus são, aparentemente, espécie-específicos e já foram identificados em amostras de fezes de bovinos, felinos, humanos, ovinos, suínos, martas, veados, cães, camundongos, patos, perus e galinhas.

As partículas de astrovírus mostram-se estáveis em pH 3, além de serem resistentes ao clorofórmio, a uma variedade de detergentes e a solventes lipídicos. O HAstV perde a atividade se colocado a uma temperatura de 60°C por 10 minutos, mas a temperaturas extremamente baixas (-70°C a -85°C) as partículas ficam estáveis por vários anos.

2.4.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

Estudos sugerem que a replicação viral ocorra nos tecidos intestinais. Partículas desse vírus têm sido detectadas em biópsias duodenais e em células epiteliais localizadas na porção inferior das vilosidades, em humanos. Apesar da diarreia severa, também foram observadas alterações histopatológicas consideradas moderadas e não foi verificado quadro de inflamação. Surtos de diarreia causada por astrovírus em idosos e indivíduos submetidos a transplante de órgãos e quimioterapia sugerem fortemente que o sistema imune desenvolve um papel importante na patogênese desse vírus.

O período de incubação do vírus varia de 24 a 36 horas, sendo sua transmissão via fecal-oral, de modo direto ou pelo contato com objetos e/ou pessoas contaminadas. Alguns estudos também sugerem que o astrovírus seja transmitido pela água. O período de excreção do vírus é de três a cinco dias, mas existem relatos de excreção prolongada. Os astrovírus também podem ser excretados por indivíduos assintomáticos, favorecendo a transmissão do patógeno.

A diarreia causada por astrovírus é geralmente moderada, dura em média de 2 a 3 dias e vem associada a quadros de vômito, dores abdominais e febre, que duram alguns dias. Quadros de desidratação são menos comuns, mas já foram relatados.

O astrovírus é um agente infeccioso cosmopolita que acomete principalmente crianças jovens. No entanto, casos de diarreia envolvendo idosos, adultos saudáveis e pessoas imunocomprometidas já foram descritos. A infecção pode ser identificada em casos de gastroenterites esporádicas, bem como durante surtos nosocomiais, em escolas, lares para idosos e creches. Estudos de soroprevalência indicam que a maioria das crianças adquire anticorpos contra astrovírus nos primeiros anos de vida e que esses anticorpos protegem a pessoa durante a maior parte da vida adulta. Entretanto, essa imunidade contra astrovírus tende a diminuir quando o indivíduo passa a ser idoso.

Em relação aos sorotipos/genótipos de vírus de humanos, foram identificados até o momento oito tipos (HAstV-1 a HAstV-8), sendo que o sorotipo/genótipo 1 tem sido considerado o mais frequente. Os HAstV-2, 3, 5 e 8 são menos comuns e os HAstVs-6 e 7 são raramente detectados

2.4.3 Diagnóstico laboratorial

Os astrovírus são detectados em amostras fecais por microscopia eletrônica direta (ME), pois são eliminados nas fezes em grandes quantidades (10^{10}

– 10^{11} partículas/g). Em pacientes excretando menor quantidade de partículas virais ou em situações em que se deseja medir a resposta imune aos astrovírus, as técnicas de imunomicroscopia eletrônica podem ser úteis. No entanto, um problema envolvendo o uso de ME para se detectar astrovírus é o fato de apenas 10% das partículas virais apresentarem a morfologia característica em forma de estrela, contribuindo para um falso resultado de detecção desse vírus.

Ensaio imunoenzimático (EIE) com anticorpos monoclonais de grupo utilizado como anticorpo de captura e soro detector policlonal ou monoclonal biotilado foram desenvolvidos e apresentam boa sensibilidade e especificidade. O EIE é um dos principais métodos atuais de detecção de astrovírus por ser rápido e adequado para estudos com um grande número de amostras. Além disso, o EIE também pode ser utilizado como método de sorotipagem de amostras clínicas, onde se utilizam anticorpos específicos para cada sorotipo de astrovírus, na captura do antígeno viral.

Atualmente, tem sido utilizada a reação de transcrição reversa combinada com a reação em cadeia pela polimerase (*RT-PCR*) para detecção do ácido nucleico viral. As regiões mais utilizadas para essa amplificação correspondem às ORFs 1a e 2, que codificam a protease viral e a proteína precursora das proteínas do capsídeo, respectivamente. Recentemente, novas técnicas baseadas na *RT-PCR* foram desenvolvidas para se detectar astrovírus: o *RT-PCR* multiplex em fase única (*single-step multiplex RT-PCR*) e o *RT-PCR* em tempo real (*one step real time RT-PCR*). Além disso, assim como acontece com o EIE, a técnica de *RT-PCR* também pode ser utilizada como método de genotipagem, utilizando *primers* específicos para cada um dos oito tipos de astrovírus de humanos.

A cultura de células pode ser considerada um método de detecção, se for combinada à outra técnica, por exemplo a *RT-PC*, como meio de aumentar a sensibilidade dessa. No entanto, a cultura de células é uma técnica que consome muito tempo de trabalho e não é apropriada para triagem de um número elevado de amostras. Em geral, os astrovírus de humanos são capazes de se replicar em três tipos de linhagens celulares: linhagens de adenocarcinoma (CaCo-2, HT-29, T-84 e SK-CO1), linhagens de hepatoma de fígado humano (PLC/PRF/5) e linhagens derivadas de rim de macaco (MA-104, Cos-1 e Vero), sendo essas duas últimas suscetíveis a apenas algumas cepas de HAstV. De todas as linhagens celulares citadas anteriormente, CaCo-2, T-84 e PLC/PRF/5 são as mais eficientes para o cultivo de astrovírus diretamente de amostras de fezes.

O sequenciamento de nucleotídeos não é a primeira escolha para a detecção de astrovírus, mas pode ser utilizado em conjunto com outras, visando a confirmação de resultados e/ou genotipagem de amostras previamente testadas, reforçando e ampliando dados epidemiológicos sobre os astrovírus.

2.4.4 Principais medidas de controle

A gastroenterite causada por astrovírus é considerada moderada e não há necessidade de um tratamento terapêutico mais específico. Nas crianças, ou mais raramente nos adultos que ficam desidratados, a reposição oral ou intravenosa de água ou outro fluido nutriente pode resolver o problema. No caso de pessoas imunocomprometidas que não respondem à reposição de líquidos, a injeção de imunoglobulinas pode ser um importante aliado no combate à doença. Estudos relatam que após a administração de imunoglobulinas em pacientes imunocomprometidos com quadro de infecção persistente causada por astrovírus, foram observadas a extinção de partículas virais e a eliminação do quadro de diarreia.

A interrupção da transmissão é o fator-chave para que a infecção pelo vírus não ocorra, especialmente em hospitais e outras instituições, como postos de saúde e creches, onde a transmissão de pessoa para pessoa é comum. Essa interrupção pode ser feita através da adoção de medidas padrão de precaução e hábitos higiênicos comuns, como lavar as mãos e manter o ambiente o mais limpo possível, além da adoção de medidas de saneamento básico.

Outro modo de prevenção da infecção por astrovírus seria a administração de vacinas. No entanto, é necessário um melhor entendimento sobre a biologia desse vírus e suas características imunológicas para que alguma vacina seja desenvolvida com sucesso.

Além dos rotavírus, calicivírus e astrovírus, outros vírus têm sido relacionados com quadros de gastroenterites, como os adenovírus entéricos, classificados na família *Adenoviridae*, descrita no Capítulo 1. Infecção por vírus de transmissão respiratória.

2.5 Enterovírus

2.5.1 Agente

A família *Picornaviridae* contém 12 gêneros: *Enterovirus*, *Rinovirus*, *Cardiovirus*, *Aphtovirus*, *Hepatovirus*, *Parechovirus*, *Erbovirus*, *Kobuvirus*, *Teschovirus*, *Sapelovirus*, *Senecavirus*, *Tremovirus*, *Avihepatovirus*.

Os virions consistem de um cápside de simetria icosaédrica, não-envelopado, de 22 a 30 nm de diâmetro, sem projeções. O cápside é composto de 60 unidades idênticas (protômeros), cada uma formada por três proteínas na superfície externa (1B ou VP2, 1C ou VP3, 1D ou VP1) e, na maioria dos picornavírus, uma proteína interna (1A ou VP4). Os virions contêm uma molécula de RNA de fita simples de polaridade positiva (+ssRNA), com uma única janela aberta de leitura, poli-A na extremidade 3' e uma proteína pequena, VPg, ligada de forma covalente à extremidade 5'. O RNA viral é infeccioso, e tem função de RNA genômico e de RNA mensageiro (mRNA).

O gênero *Enterovirus* contém 11 espécies virais, que incluem a maioria dos vírus anteriormente classificados como poliovírus, vírus coxsackie, echovírus e rhinovírus, das quais quatro incluem os enterovírus de suínos, bovinos e símios e três incluem os rhinovírus. A classificação dos enterovírus importantes em doenças entéricas de humanos é apresentada na Tabela 3.

Os gêneros *Cardiovirus* (vírus da encefalomiocardite de camundongos), *Aphthovirus* (vírus da febre aftosa), *Erbovirus* (vírus da rinite equina), *Teschovirus* (vírus da doença de Teschen dos suínos), *Sapelovirus*, *Senecavirus* (doenças em suínos), *Tremovirus* (vírus da encefalomielite aviária) e *Avihepatovirus* (vírus da hepatite A de patos) são vírus de animais e não serão abordados nesse manual. Os gêneros *Parechovirus* e *Kobuvirus* (vírus Aichi) contêm vírus humanos que são causa provável de gastroenterites. O gênero *Hepatovirus* inclui o vírus da hepatite A, abordado a seguir.

Tabela 3. Classificação dos vírus do Gênero *Enterovirus* em espécies e os vírus entéricos de humanos que compõe cada gênero

Gênero	Espécies	Vírus humanos
Enterovirus	Human enterovirus A	Coxsackievírus humanos A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A10, A12, A14, A16 e enterovírus humanos 71, 76, A89 a A92 e A114
	Human enterovirus B	Coxsackievirus humanos B1 a B6, A9, echovírus humanos 1 a 7, 9, 11 a 21, 24 a 27, 29 a 33 e enterovírus humanos B69, B73, B74, B75, B77 a B88, B93, B97, B98, B100, B101, B106, B107 e B110
	Human enterovirus C	Poliovírus humanos 1, 2 e 3, Coxsackievirus humanos A1, A11, A13, A17, A19 a A22 e A24, enterovírus humanos C95, C96, C99, C102, C104, C105, C109, C113 e C116
	Human enterovirus D	Enterovírus humanos D68, D70, D94 e D11

2.5.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

Os enterovírus podem ser transmitidos tanto pela via fecal-oral quanto pela via respiratória. A transmissão fecal-oral predomina em áreas com precárias condições de higiene, enquanto a transmissão respiratória pode ser mais

importante em áreas mais desenvolvidas. Alguns enterovírus, como o enterovírus 70 e o coxsackie A24, agentes que causam a conjuntivite hemorrágica aguda, são transmitidos principalmente pelo contato direto ou indireto com secreções oculares. Já foram descritas várias infecções relacionadas à assistência à saúde por coxsackievírus A e B e echovírus, frequentemente em enfermarias de recém-nascidos; os profissionais de saúde, em geral, são envolvidos na transmissão em algumas dessas infecções.

Esses vírus são resistentes à acidez do estômago, tornando possível a replicação viral no intestino após ingestão do mesmo. O poliovírus é muito eficiente no estabelecimento de infecção já que 100 doses infecciosas culturas de tecidos 50% (DICT50) podem infectar um indivíduo pela via oral. A eliminação fecal do vírus ocorre por um período prolongado de tempo, às vezes por mais de seis semanas. A elevada resistência dos poliovírus é um fator que favorece a transmissão: em água não-tratada, a resistência média é de 160 dias, no solo de 120 dias e, em mariscos, de cerca de 90 dias.

Os poliovírus multiplicam-se inicialmente nas mucosas, especificamente nas placas de Peyer e nas tonsilas, onde a replicação pode ser detectada em um a três dias. Os vírus multiplicam nos linfonodos mesentéricos e cervicais, levando a uma pequena viremia, com invasão do sistema retículo-endotelial, incluindo linfonodos, medula óssea, fígado e baço. O sistema nervoso central pode ser invadido nesse estágio, mas provavelmente ocorre uma amplificação nos tecidos sistêmicos do retículo-endotelial, seguida de uma viremia maior, que pode levar à infecção do sistema nervoso central. A maioria dos indivíduos infectados com poliovírus controla a infecção antes da viremia secundária, o que resulta em infecção assintomática. Alguns estudos sugerem que a disseminação para o sistema nervoso central pode ocorrer pelos nervos periféricos ou craniais, por fluxo axonal retrógrado.

A resposta imune é muito importante na resolução das infecções por poliovírus. A resposta humoral exerce um papel fundamental na proteção e na imunidade de longa duração. Uma resposta de anticorpos neutralizantes após a infecção natural ou vacinação protege contra a doença, mas ainda pode ocorrer replicação do vírus no intestino. O papel das imunoglobulinas séricas da classe IgG e das imunoglobulinas IgA presentes na mucosa do trato digestivo é da maior importância na proteção contra a doença.

A maioria das infecções pelo poliovírus é assintomática e aproximadamente 1% das infecções leva à doença, em uma de suas formas. A poliomielite abortiva, que ocorre em 4% a 8% das infecções, pode ser inicialmente associada com sintomas gastrointestinais leves, que são seguidos de febre, dor de

garganta e sintomas parecidos com gripe e ocorre recuperação em poucos dias. Na poliomielite não paralítica, que pode acontecer em 1% a 2% das infecções, ocorrem os mesmos sintomas da poliomielite abortiva, seguida pela invasão do sistema nervoso central, levando à meningite asséptica, geralmente acompanhada de dores nas costas e espasmos musculares. Essa forma da doença dura de dois a dez dias e a recuperação é completa. A poliomielite paralítica ocorre em 0,1% a 2% das infecções, aproximadamente sete a 30 dias após o contato. Normalmente, começa com os mesmos sintomas da poliomielite abortiva, progredindo para paralisia flácida. Dos pacientes com paralisia, 10% recuperam-se totalmente; 10% dos casos são fatais e, em 80%, persiste uma paralisia residual. A patologia da poliomielite paralítica é a inflamação e destruição da matéria cinza do sistema nervoso central, especialmente do cordão espinhal.

A poliomielite ou paralisia flácida aguda pode ocorrer como resultado da infecção por outros enterovírus, especialmente pelo enterovírus 71.

Os enterovírus são responsáveis ainda por outras doenças e são a principal causa de meningite asséptica, em adultos e crianças. A meningite asséptica é uma inflamação das meninges, com febre, dor de cabeça e fotofobia, causada principalmente por coxsackievírus do grupo B e alguns echovírus, como 4, 6, 9, 11 e 30. Em alguns países, epidemias de enterovírus 71 têm sido associadas a uma alta incidência de meningite asséptica assim como de encefalites, causando inclusive paralisia flácida.

A miocardite viral, inflamação do miocárdio, é, em geral, autolimitada e subclínica, e pode ser causada pelos coxsackievírus B. Aproximadamente 1,5% das infecções por enterovírus, incluindo 3,2% das infecções pelos coxsackievírus B, resulta em sinais e sintomas cardíacos. O vírus pode infectar o miocárdio, endocárdio, pericárdio ou todos os três.

A pleurodinia, mialgia epidêmica ou doença de Bornholm, causada por coxsackievírus B, causa febre e dor no peito, de aparecimento súbito, com dor abdominal presente em metade dos casos, durando de dois dias a duas semanas.

A conjuntivite hemorrágica aguda, causada pelo enterovírus 70 ou por uma variante do coxsackievírus A24, foi reconhecida como uma nova doença em 1969 e é caracterizada por um período de incubação curto de 24 a 48 horas, com sintomas e sinais característicos, como lacrimejamento, dor, inchaço periorbital e vermelhidão da conjuntiva.

Enterovírus são ainda uma causa comum de doenças respiratórias, incluindo os vírus coxsackie A, B e echovírus. Essas infecções são normalmente do trato respiratório superior, como resfriados comuns, crupe e epiglote, e, mais raramente, infecções do trato respiratório inferior, como pneumonias.

A herpangina é uma doença febril de instalação súbita, com sintomas de garganta inflamada e febre, causada pelos sorotipos A e B de coxsackievírus, pelos echovírus tipos 6, 9, 11, 16, 17, 22 e 25 e pelo enterovírus 71. São identificadas lesões características da tonsila, palato, úvula e faringe posterior. A doença é autolimitada e desaparece em poucos dias.

A doença de pés, mãos e boca é associada a lesões vesiculares nas mãos, pés e boca e é causada principalmente pelos coxsackievírus A10 e A16 e pelo enterovírus 71.

A poliomielite ocorria no mundo todo, durante todo o ano em países tropicais e no verão e outono em países de clima temperado. A doença ocorre em todos os grupos etários, mas crianças são mais suscetíveis, visto que adultos adquirem imunidade ao longo da vida. Em populações isoladas, a poliomielite ocorre em todas as faixas etárias. Em países em desenvolvimento, as condições favorecem a ampla disseminação do vírus e a poliomielite é uma doença da infância, chamada de paralisia infantil. Em países desenvolvidos, antes da vacinação, a doença era mais frequente em maiores de cinco anos de idade.

No Brasil, a poliomielite é considerada erradicada desde 1994 e o último isolamento de poliovírus selvagem no país ocorreu em 1989.

Os humanos são o único reservatório da infecção. Em países em desenvolvimento, com condições precárias de higiene e saneamento, a maioria das crianças torna-se imune em baixa idade, e o poliovírus é mantido por infecção contínua de uma parte pequena da população. Os enterovírus são encontrados em grande quantidade no esgoto e podem servir de fonte de contaminação para água potável, banhos e irrigação. Existe uma correlação direta entre níveis precários de higiene e saneamento, e a aquisição da infecção e de anticorpos em baixas idades.

Em países desenvolvidos, com bons níveis de higiene, ocorrem epidemias, seguidas por períodos de baixa circulação do vírus. Quando o número de crianças suscetíveis atinge um determinado nível, novas epidemias ocorrem.

2.5.3 Diagnóstico laboratorial

O processo de diagnóstico de uma infecção por enterovírus, ou seja, o estabelecimento que a infecção por determinado enterovírus produziu a doença pode ser complicado, devido à biologia e epidemiologia desses vírus. Embora seja possível demonstrar que um indivíduo foi infectado por um enterovírus, essa demonstração não necessariamente comprova que esse vírus é a causa da doença. A primeira dificuldade é a infecção assintomática que ocorre na maioria dos indivíduos infectados. Assim, a qualquer momento, é possível isolar enterovírus de material fecal, mesmo de indivíduos sadios. Outra dificuldade é que, mesmo que a doença resulte de uma infecção por enterovírus, a maioria dos sinais e sintomas é genérica e não apresenta especificidade. Por exemplo, nos casos de meningites, encefalites e miocardites, o material clínico é de difícil obtenção; o uso de materiais provenientes do sistema nervoso central e do coração é limitante para a detecção da infecção, pois os vírus não são facilmente isolados desses materiais. Em geral, a melhor amostra são as fezes, independentemente do caso clínico. Mesmo assim, o vírus pode não estar mais sendo eliminado nas fezes quando do aparecimento dos sintomas.

A técnica clássica para detecção e caracterização de enterovírus é o isolamento viral em culturas celulares e a reação de neutralização com anti-soros tipo-específicos, para identificação do vírus. Esse isolamento é possível em dois a três dias, pois uma das características dos enterovírus é o rápido crescimento em culturas celulares, e o poliovírus é o protótipo de infecções virais líticas. O efeito citopático característico dos enterovírus apresenta arredondamento da célula, encolhimento, picnose nuclear, refratilidade e degeneração celular.

Com os esforços para a erradicação da poliomielite, a vigilância virológica adquire enorme importância, e o isolamento dos vírus em casos suspeitos deve ser feito de forma a determinar a origem do poliovírus, se selvagem ou vacinal.

O diagnóstico sorológico de infecções por poliovírus e outros enterovírus pode ser feito comparando os títulos de soros pareados, de fase aguda e convalescente. Esse diagnóstico é feito, em geral, pela reação de neutralização. A interpretação dos resultados, para definir um aumento de título de pelo menos quatro vezes entre os dois soros (soroconversão), pode ser complicada pela presença de anticorpos no soro de fase aguda, que pode ocorrer devido ao período de incubação longo de muitas doenças causadas por enterovírus. Muitos estudos sorológicos baseiam-se na detecção de anticorpo do tipo IgM como evidência de infecção recente, e, atualmente, a reação de

ELISA específica para IgM tem sido utilizada como alternativa à reação de neutralização.

O uso mais comum da reação em cadeia pela polimerase (PCR) no diagnóstico de enterovírus é a detecção direta do vírus em amostras clínicas. Os métodos mais utilizados detectam enterovírus de forma genérica, com *primers* que amplificam a região não-traduzida na extremidade 5' do genoma. A maior vantagem dessa reação é a rápida detecção de enterovírus, mesmo com pequena quantidade de amostras clínicas, como no caso do líquido cefalorraquidiano. É possível detectar ainda alguns enterovírus que não crescem bem em culturas celulares.

2.5.4 Principais medidas de controle

Não existe atualmente tratamento para as infecções por enterovírus, mas alguns testes clínicos estão sendo realizados com algumas drogas antivirais, principalmente no tratamento de meningites assépticas. Uma das drogas que estão sendo testadas é o pleconaril, que interfere com as fases iniciais da replicação de alguns enterovírus.

A vacinação contra a poliomielite foi introduzida em meados dos anos 50 e ocasionou uma redução drástica na incidência da doença. Existem dois tipos de vacina: a vacina Salk, de administração intramuscular e preparada com vírus inativados, e a vacina Sabin, de administração oral, preparada com vírus atenuados.

Do ponto de vista da resposta imunológica dos vacinados, a vacina atenuada induz o aparecimento de anticorpos séricos e anticorpos da classe IgA, na mucosa intestinal, como ocorre na infecção natural. Por sua vez, a vacina inativada induz imunidade protetora pelo aparecimento de anticorpos séricos.

A vacinação oral com vacina Sabin é a vacina de escolha nos países em desenvolvimento, pois pode diminuir a circulação de cepas do vírus selvagem, evitando a replicação desses, com a indução de anticorpos locais do tipo IgA secretora. A vacinação do tipo Salk é recomendada em países em que a circulação do vírus selvagem é muito baixa, pois essa vacina oferece maior segurança aos vacinados, evitando a paralisia associada à vacina. No Brasil, a vacina oral do tipo Sabin é utilizada em três doses, aos dois, quatro e seis meses, com reforço aos 15 meses de idade.

A Organização Mundial da Saúde promove uma campanha de erradicação da poliomielite no mundo. As Américas foram certificadas como livres de poliovírus selvagem em 1994, e atualmente ainda ocorre transmissão de

poliomielite em alguns países. O progresso desse programa de erradicação pode ser acompanhado pelo *site* da Internet, no endereço [http://www. polioeradication.org/](http://www.polioeradication.org/).

Existem quatro componentes fundamentais na estratégia para erradicar os poliovírus. O primeiro é a manutenção de altos níveis de imunização de rotina; o segundo é a utilização de dias nacionais de imunização, visando vacinar todas as crianças com menos de cinco anos de idade no mesmo dia, pois esse tipo de imunização em massa interfere com a circulação do vírus selvagem. Recomenda-se a realização de dois dias de imunização, com um mês de diferença, em geral em épocas de baixa circulação de poliovírus, quando a transmissão é mais facilmente quebrada. O terceiro elemento é a utilização de vigilância epidemiológica de todos os casos de paralisia flácida aguda, com detecção e identificação do vírus, em geral realizada pelos laboratórios de Saúde Pública. A última estratégia é a eliminação dos últimos reservatórios conhecidos de vírus, quando as três estratégias anteriores conseguiram diminuir o número de casos da doença a um mínimo. Com intensificação da imunização nessas áreas, elimina-se a última cadeia de transmissão do vírus.

2.6 Hepatite A

Essa forma de hepatite foi considerada, durante muito tempo, como manifestação secundária de uma infecção entérica. Atualmente, sabe-se que o vírus se instala primariamente no fígado utilizando o aparelho digestivo como via de entrada, sem causar lesão no local.

2.6.1 Agente

O vírus da hepatite A também pertence à família *Picornaviridae*, gênero *Hepatovirus*, espécie *Hepatitis A virus*, e anteriormente foi classificado como “enterovírus humano 72”. Os virions consistem de um cápside de simetria icosaédrica, não envelopado, de 27 a 32 nm de diâmetro, sem projeções. O cápside é composto de 60 unidades idênticas (protômeros), cada uma formada por três proteínas na superfície externa (1B ou VP2, 1C ou VP3, 1D ou VP1) e uma proteína interna (1A ou VP4), menor que nos demais picornavírus. Os virions contêm uma molécula de RNA de fita simples de polaridade positiva (+ssRNA), de 7,5kb, com uma única janela aberta de leitura, poli-A na extremidade 3’ e uma proteína pequena, VPg, ligada de forma covalente à extremidade 5’. O RNA viral é infeccioso, e tem função de RNA genômico e de RNA mensageiro (mRNA). A semelhança da sequência genômica dos hepatovírus com os demais picornavírus é pequena.

Trata-se de um vírus muito estável, apresentando elevada resistência ao calor, suportando temperaturas da ordem de 60°C, por dez minutos. Também é resistente a condições de pH baixo, com pequena perda de infectividade a pH 1,0. Só se conhece um único sorotipo do vírus da hepatite A. É um vírus de difícil adaptação ao cultivo em sistemas celulares, replicando de maneira limitada, sem apresentar efeito citopático.

2.6.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

A hepatite A é transmitida pela via fecal-oral, e os alimentos e as águas contaminados são os principais veículos de transmissão durante epidemias. Nos ambientes familiar e institucional, o contato pessoal íntimo pode facilitar o contágio. A transmissão por via parenteral, sob a forma de transfusão ou uso de drogas, ainda que teoricamente possível, não tem sido verificada.

Muitos surtos de hepatite A são resultado do consumo de alimentos contaminados, principalmente mariscos e ostras, criados em águas contaminadas com esgotos e consumidos crus. Os vírus humanos não se replicam em moluscos, mas esses atuam como concentradores de vírus em águas poluídas por esgotos. Durante a alimentação, os moluscos bivalves, como ostras e mariscos, podem filtrar até 38 litros de água por hora, período durante o qual o HAV pode ser concentrado pelo menos 100 vezes e pode persistir por aproximadamente sete dias.

A sequência de eventos após a entrada pelo trato gastrointestinal ainda não está bem determinada. Uma vez atingida a mucosa intestinal, onde a multiplicação viral não está comprovada, a passagem do vírus para o fígado se faz, provavelmente, pela via sanguínea do sistema porta. As lesões hepáticas consistem em necrose celular do parênquima, proliferação das células de Kupfer e acúmulo, nas áreas de necrose, de macrófagos, linfócitos e neutrófilos. Essas alterações desaparecem após a cura. O período de incubação é de dez a 50 dias, com média de aproximadamente um mês. Quanto maior a dose de vírus ingerida, menor o período de incubação.

O período prodrômico pode variar de alguns dias a mais de uma semana, precede a icterícia e é caracterizado por anorexia, febre, fadiga, mal-estar, mialgia, náusea e vômitos. Muitos dos sintomas são mediados pela indução de interferon.

Os pacientes mantêm sua capacidade infectante durante um período que se estende de duas a três semanas antes do aparecimento da icterícia até duas semanas após a regressão desse sintoma. A fase ictérica é acompanhada pelo aparecimento de urina escura, devido à bilirrubinúria, seguida por

fezes descoloradas e coloração amarelada de membranas mucosas, conjuntivas e pele. Essa fase inicia-se após até dez dias depois do aparecimento dos sintomas iniciais. A doença é mais leve em crianças do que em adultos, e a recuperação em geral é completa, não se observando infecção crônica.

2.6.3 Diagnóstico laboratorial

Os agentes das hepatites virais não podem ser diferenciados clinicamente; assim, para o diagnóstico correto, os testes sorológicos são necessários.

Para hepatite A, utiliza-se a detecção de anticorpos totais e IgM antivírus da hepatite A (anti-HAV), através do ensaio imunoenzimático do tipo ELISA. O título de anticorpos IgM aumenta rapidamente após quatro a seis semanas e declina em níveis não-detectáveis em três a seis meses, na maioria dos pacientes. Os anticorpos IgG persistem por anos após a infecção.

O vírus é eliminado nas fezes antes do aparecimento dos sintomas, e pode ser detectado por ensaio imunoenzimático, microscopia eletrônica, hibridização ou PCR, mas a identificação viral não é normalmente executada com finalidades diagnósticas, podendo ser utilizada em estudos epidemiológicos.

2.6.4 Principais medidas de controle

Na profilaxia da hepatite A, recomenda-se o uso de imunoglobulina humana normal (IGHN) modificada para administração intravenosa, em escolas ou instituições hospitalares, sempre que existirem evidências de surtos epidêmicos. Do mesmo modo, os contatos pessoais próximos devem receber IGHN como medida profilática pós-exposição. A profilaxia pré-exposição está recomendada para viajantes que, vivendo em áreas de baixa prevalência da hepatite A, se desloquem para regiões de elevada prevalência.

A imunização ativa contra hepatite A é feita com vacinas inativadas por formalina, licenciadas em 1995, para maiores de dois anos e administrada por via intramuscular. Deve ser administrada em duas doses, uma para imunização primária e outra, um mês depois, como reforço.

No Brasil, a vacina ainda não está no calendário oficial de vacinação, embora encontre disponível em clínicas de vacinação.

2.7 Hepatite E

2.7.1 Agente

O vírus da hepatite E (VHE) é atualmente classificado na família *Hepeviridae*, gênero *Hepevirus*, espécie *Hepatitis E virus*. São vírus pequenos, medindo de 27 a 34 nm, não-envelopados, com simetria icosaédrica. O cápside viral é constituído de uma única proteína CP. O genoma viral é um RNA de fita simples (+ssRNA) de aproximadamente 7,2 kb, com uma cauda poli-A.

2.7.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

O VHE é a principal causa de hepatite viral em jovens adultos que moram em regiões do mundo onde a contaminação fecal é comum. Afeta principalmente indivíduos entre 15 e 45 anos de idade.

O vírus é transmitido pela via oral e, embora o sítio de replicação primária não tenha sido determinado, supõe-se que seja o trato intestinal. O vírus replica-se em hepatócitos e é liberado nas fezes pela bile. Em amostras de fezes, poucas partículas virais são encontradas, o que provavelmente reflete a degradação dessas partículas, devido à presença de proteases, como a tripsina. A presença de poucas partículas nas fezes é a causa da baixa transmissibilidade do VHE por contato pessoa a pessoa, quando comparado à hepatite A.

A hepatite E pode manifestar-se desde a forma de infecções subclínicas até infecções fulminantes. É uma doença frequentemente benigna, com mortalidade de 1%, mas difere das demais hepatites porque é associada a altas taxas de mortalidade em mulheres grávidas, que aumenta com a progressão da gestação, podendo chegar até a 20%.

Nas epidemias, a maioria dos pacientes apresenta icterícia, anorexia e hepatomegalia e aproximadamente metade apresenta dor abdominal, náusea, vômitos e febre. A hepatite E, assim como a hepatite A, não progride para formas crônicas.

A hepatite com características clínicas e epidemiológicas de hepatite E, como pico de ataque em adultos jovens, alto grau de doença fulminante na gravidez e epidemia de doenças associadas ao consumo de água, foi descrita na Ásia Central e Sudoeste, no Oriente Médio, no Norte e Oeste da África e no México. As epidemias nessas regiões foram confirmadas sorologicamente. O VHE tem distribuição mundial, mas a doença é quase confinada a regiões onde a contaminação da água potável é comum. A maioria dos surtos de hepatite E ocorreu após chuvas fortes, contaminação de água de poço, inundações ou contaminação do sistema de captação de água por esgotos.

No Brasil, apesar das condições sanitárias deficientes em muitas regiões, ainda não foi descrita nenhuma epidemia pelo HEV. Alguns casos isolados têm sido notificados, demonstrando que há circulação do vírus no País.

2.7.3 Diagnóstico laboratorial

Foram desenvolvidos testes imunoenzimáticos do tipo ELISA para a detecção de IgM e IgG específicos para o VHE, utilizando antígenos obtidos por clonagem molecular. Os testes detectam IgM em 90% das infecções agudas em soros obtidos uma a quatro semanas após o início da doença. O aumento de título de IgG também tem sido utilizado no diagnóstico da hepatite E. O IgG anti-HEV atinge título máximo em duas a quatro semanas e diminui rapidamente em seguida.

A imunomicroscopia eletrônica é um teste pouco sensível, detectando apenas 10% dos casos. As técnicas moleculares, especialmente o RT-PCR, têm sido utilizadas na detecção do vírus no sangue e nas fezes, durante a fase aguda da infecção.

Não existe tratamento específico para hepatite E. A gamaglobulina não se mostrou efetiva na prevenção da infecção pelo VHE e não existem vacinas para prevenção da doença. Atualmente, uma vacina recombinante está sendo testada no Nepal, onde ocorrem epidemias anuais de hepatite E, com bons resultados.

2.8 Referências Bibliográficas

Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Jawetz Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*, 23th ed. McGraw-Hill Companies, Inc, Stanford, 2004.

Castilho, JG, Munford, V; Resque, HR; Fagundes-Neto; Vinjé, J; Rácz, ML. – Genetic diversity of norovirus among children with gastroenteritis in São Paulo State, Brazil. *J Clin Microbiol.* 44(11): 3947–3953, 2006

Castilho, JG, Munford, V, Rácz, ML. Gastroenterites virais: Norovirus e sapovírus. IN Trabulsi, LR & Alterthum, F, eds. *Microbiologia*. 5a ed. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, 2008.

Chadwick D, Goode JA (eds). *Gastroenteritis viruses*. Novartis Foundation Symposium 238. John Wiley & Sons Inc, New York, 2001.

King, A.M.Q., Lefkowitz, E., Adams. M.J., Carstens, E.B. (eds) *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, San Diego, 2012.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, Skalka AM. *Principles of Virology. Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses*. 2nd ed. ASM Press, Washington DC, 2003.

Knipe, DM, Howley, PM, Griffin, DE, Lamb, RA, Martin, MA et al. *Fields Virology*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007.

Munford, V., Caruzo, TAR, Rácz, ML. Gastroenterites virais: Rotavírus. IN Trabulsi, LR & Alterthum, F, eds. *Microbiologia*. 5a ed. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, 2008.

Resque, HR, Munford, V, Rácz, ML. Gastroenterites virais: Astrovírus. IN Trabulsi, LR & Alterthum, F, eds. *Microbiologia*. 5a ed. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, 2008.

Rácz, ML. Picornavírus. IN Trabulsi, LR & Alterthum, F, eds. *Microbiologia*. 5a ed. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, 2008.

Rácz, ML. Hepatites virais. IN Trabulsi, LR & Alterthum, F, eds. *Microbiologia*. 5a ed. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, 2008.



Capítulo 3:

Vírus de Transmissão Parenteral

Maria Lucia Rácz

3.1 Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde pelos vírus de transmissão parenteral

Existem muitos trabalhos que relatam a ocorrência de infecções em hospitais pelos vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus da hepatite B (HBV) e vírus da hepatite C (HCV). Em ambientes hospitalares, a transmissão desses patógenos ocorre, predominantemente, por exposição percutânea ou mucosa dos profissionais ao sangue e aos fluídos corporais de pacientes infectados.

Esses vírus podem sobreviver em superfícies por mais de uma semana e quanto maior a permanência dos vírus em superfícies, maior a chance de causarem infecções, colocando em perigo os pacientes e os profissionais da saúde. A maior fonte de contaminação nosocomial são as mãos dos profissionais de saúde mas, em geral, profissionais infectados com esses vírus apresentam risco insignificante para os pacientes. A transmissão entre pacientes, especialmente em imunossuprimidos, deve ser considerada.

Os profissionais expostos à contaminação com agentes que podem estar presentes no sangue devem utilizar equipamento seguro, práticas seguras e uso de equipamento de proteção pessoal, para prevenir danos percutâneos e contato com sangue entre profissional e paciente em ambientes cirúrgicos. O foco da proteção do trabalhador frequentemente obscurece outras funções importantes das luvas: proteção dos pacientes de micro-organismos presentes na mão dos funcionários e prevenção da transmissão entre pacientes.

O risco de infecção após a exposição percutânea aos três vírus mais importantes presentes no sangue varia: pode ser maior que 30% para o HBV, 1,8% para o HCV e 0,3% para o HIV. Quanto maior a profundidade do dano maior é o risco de infecção. A ad-

ministração de terapia anti-retroviral reduz em 80% o risco de contrair infecção pelo HIV após um acidente.

Nos Estados Unidos, a transmissão de hepatite viral relacionada à exposição a procedimentos médicos não é comum, e é encontrada principalmente na forma de epidemias ou surtos. A transmissão é tipicamente associada a práticas não seguras de injeção e de técnicas assépticas. Os profissionais devem aderir às precauções padrão e seguir estritamente os princípios do controle de infecções.

3.2 Hepatite B

3.2.1 Agente

O vírus da hepatite B é um vírus DNA de fita dupla, classificado na família *Hepadnaviridae*, gênero *Orthohepadnavirus*, espécie *Hepatitis B virus*. A partícula viral mede de 40 a 45 nm de diâmetro; são vírus envelopados, contendo um nucleocapsídeo icosaédrico de 32 a 36 nm de diâmetro e 240 subunidades protéicas. A infecção pelo vírus da hepatite B induz uma superprodução de proteínas de superfície que são secretadas como partículas lipoproteicas, na forma esférica, de 16 a 25 nm de diâmetro ou na forma de filamentos, com diâmetro de 20 nm e comprimentos variáveis. O genoma consiste de uma única molécula de DNA de fita parcialmente simples e circular, ligado de forma não covalente. A fita negativa tem o comprimento total de 3,2kb, enquanto o comprimento da fita positiva varia.

Os virions ou partículas subvirais vazias podem conter duas ou três proteínas do envelope, com a extremidade C comum e diferindo na extremidade N, devido a diferentes sítios de iniciação de tradução. A proteína S do envelope viral (HBsAg), de 226 aminoácidos, representa o antígeno de superfície do vírus. Apresenta ainda as proteínas M, de 271 aminoácidos, e a proteína L, de 400.

Foram identificados três antígenos principais para o vírus da hepatite B, um associado ao envelope viral, designado como antígeno de superfície (HBsAg), e dois associados ao core viral, os antígenos C (HBcAg) e antígeno E (HBeAg). O HBsAg, anteriormente chamado de antígeno Austrália, é o antígeno envolvido na neutralização e é detectado nas partículas de 22 nm. As proteínas que contêm o HBeAg e o HBcAg apresentam sequências e epítomos em comum, mas também contêm epítomos capazes de diferenciá-las. O HBcAg é o antígeno associado ao core viral de 27 nm; o HBeAg é uma forma truncada do HBcAg e é encontrado como um antígeno solúvel no soro de pacientes.

O vírus da hepatite B é bastante resistente ao calor e a outros agentes físicos; o tratamento de plasma infectado pelo calor, a 60°C, durante cinco horas é insuficiente para inativar o vírus. A autoclavação durante 30 a 60 minutos e a ação do hipoclorito de sódio destroem o poder infectante do vírus.

3.2.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

A infecção pelo vírus da hepatite B pode resultar em diversas patologias, mas 65% a 80% das infecções ocorrem de forma subclínica; 20% a 35% ocorrem na forma de doença com icterícia. Dos indivíduos infectados, 90% a 98% têm recuperação completa e 2% a 10% evoluem para doença crônica. Aproximadamente 0,1 a 1% dos pacientes com hepatite B aguda desenvolve hepatite severa ou fulminante. Quanto menor for a idade do paciente infectado, maior a probabilidade de desenvolvimento de infecção crônica.

O vírus da hepatite B pode ser transmitido de três formas: a) através de contato percutâneo com sangue ou produtos de sangue infectados, b) através de contato sexual ou c) por transmissão perinatal da mãe infectada para a criança. Em crianças que vivem em comunidades de baixo nível socioeconômico, pode ocorrer a transmissão horizontal sem aparecimento de sintomas, provavelmente devido à exposição de soluções de continuidade na pele ou a membranas mucosas ao vírus, de forma não-reconhecível. As duas primeiras vias são mais comuns em comunidades com baixa prevalência da infecção, enquanto a última ocorre com maior frequência em comunidades com alta prevalência da infecção. O período de incubação da doença pode variar de 35 a 120 dias, e é influenciado pela dose de vírus que infectou o paciente: quanto maior a quantidade de vírus menor o período de incubação.

Os hepadnavírus infectam os hepatócitos e a infecção aguda pode levar à hepatite B aguda de severidades variadas, de leve à hepatite fulminante, com necrose extensiva do fígado. O mecanismo de lesão do fígado na hepatite aguda e crônica não está completamente definido mas parece existir um mecanismo imune celular envolvido. Algumas evidências indicam que linfócitos T citotóxicos, dirigidos para o antígeno viral HBcAg, que aparece na superfície dos hepatócitos, pode levar à morte desses.

Alguns pacientes cronicamente infectados podem não ter nenhuma evidência clínica ou bioquímica de doença hepática. Para distingui-los de pacientes com hepatite crônica, são denominados portadores assintomáticos ou portadores de HBsAg.

Podem ainda ocorrer algumas manifestações extra-hepáticas, em 10% a 20% dos pacientes, como vasculite necrotizante aguda (poliarterite nodo-

sa), síndrome semelhante à doença do soro, glomerulonefrite e acrodermatite papular da infância (síndrome de Gianotti-Crosti). A patogênese dessas doenças não está completamente esclarecida, mas a maioria é causada provavelmente por danos mediados por imunocomplexos específicos.

Os pacientes infectados de forma crônica com o vírus da hepatite B têm um risco aumentado de desenvolver o carcinoma hepatocelular. A aquisição do HBV na infância frequentemente leva à infecção persistente, replicação viral ativa prolongada, integração do DNA do HBV e eventualmente cirrose. A transformação maligna ocorre com expansão clonal dos hepatócitos até que o carcinoma hepatocelular se torna detectável. Os pacientes têm uma taxa de sobrevivência de 25% a 60%, dependendo do tamanho do tumor e da possibilidade de remoção.

As infecções pelo vírus da hepatite B têm distribuição mundial. As vias de transmissão e a resposta à infecção variam dependendo da idade em que ocorre a infecção. A maioria dos indivíduos infectados durante a infância desenvolve infecção crônica. Quando a infecção ocorre em adultos, a cirrose hepática e o carcinoma hepatocelular são mais prováveis.

Existem mais de 250 milhões de portadores assintomáticos da doença no mundo. Desses, 25% desenvolvem hepatite crônica ativa e um milhão de mortes anuais podem ser atribuídas às doenças hepáticas pelo HBV. Os grupos de risco incluem usuários de drogas injetáveis; profissionais da saúde; pacientes multitransfundidos, como hemofílicos; pacientes submetidos a transplantes ou à hemodiálise, bem como os profissionais que trabalham em centros de hemodiálise, pessoas promíscuas e recém-nascidos de mães infectadas pelo vírus. Quando foi implantada a obrigatoriedade de triagem de doadores de sangue para o HBsAg, o número de casos de hepatites associadas a transfusões sanguíneas foi reduzido.

O HBsAg pode ser detectado no sangue, na saliva, em lavados de nasofaringe, no sêmen, no fluido menstrual e em secreções vaginais. A transmissão de portadores para contatos pela via oral (saliva) ou sexual pode ocorrer e todos os fluidos corporais de pacientes infectados pelo HBV devem ser considerados infectantes.

Existe risco ocupacional para indivíduos que trabalham na área da saúde, como médicos, dentistas, enfermeiros, técnicos de laboratório e pessoal de bancos de sangue, que apresentam incidência maior de hepatite B do que a população em geral.

3.2.3 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico de casos agudos e crônicos de hepatite B baseia-se na identificação dos antígenos de anticorpos presentes no soro do paciente.

Atualmente, as reações imunoenzimáticas do tipo ELISA são as mais utilizadas para o diagnóstico de antígenos e anticorpos para o HBV, por serem altamente sensíveis e específicas.

A evidência de infecção aguda pelo HBV é obtida pela detecção do HbsAg e do anticorpo IgM anti-HBc. O desaparecimento do HbsAg no soro é uma indicação da eliminação completa do vírus, embora o DNA viral possa permanecer no fígado. O anticorpo anti HbsAg é usado como marcador de proteção contra o HBV, porque é responsável pela neutralização do vírus, e prevenção da infecção. A infecção crônica é caracterizada pela persistência do HBsAg no soro por mais de seis meses. O HBeAg é um marcador sorológico da replicação viral ativa. O desaparecimento do HbeAg circulante e aparecimento do anticorpo anti-Hbe pode indicar o fim da replicação viral ativa e o início da resolução clínica tanto da infecção aguda quanto da infecção crônica. Já a persistência de HBsAg e HBeAg é indicação segura de que se trata de um portador cujo sangue tem elevado poder infeccioso. O HBcAg, que representa a proteína do nucleocapsídeo, é altamente imunogênico e o aparecimento, na circulação, do anticorpo IgM anti-HBc é normalmente o primeiro sinal imunológico da infecção aguda pelo HBV. Esse é substituído pelo anticorpo IgG anti-HBc, que persiste na circulação até anos após a resolução da infecção.

As infecções pelo HBV podem permanecer clinicamente silenciosas. É importante utilizar métodos precisos para determinar a presença de vírus ativo, replicando, especialmente em indivíduos que não apresentam o HBeAg, para monitorar o tratamento e identificar mudanças na atividade viral antes que provoquem sintomas clínicos. A forma mais precisa de determinar a presença de vírus circulante ou carga viral é a detecção do DNA viral. O limite inferior considerado para risco de dano ao fígado é ao redor de 10^4 virions/mL. A presença de HBeAg tem sido utilizada para diminuir os custos dos testes de carga viral. A perda desse antígeno e o aparecimento de anticorpo anti-HBe é associado à queda da carga viral abaixo do limite crítico e à remissão dos sintomas.

3.2.4 Principais medidas de controle

Não são recomendados tratamentos para as infecções agudas benignas pelo vírus da hepatite B. Na hepatite B crônica, a finalidade da terapia é suprimir a replicação viral para reduzir os sintomas, minimizar inflamações crônicas e

prevenir a progressão para cirrose e carcinoma hepatocelular. A erradicação completa da infecção não é possível e, assim, o tratamento é feito visando um estado mínimo de replicação viral e remissão da doença hepática. O tratamento só é recomendado para pacientes com valores elevados persistentes de aminotransferases, replicação viral ativa e evidência histológica de inflamação severa ou fibrose. O tratamento não é recomendado para portadores com níveis normais de aminotransferases.

O interferon tem sido utilizado no tratamento da hepatite B crônica, na dosagem de cinco milhões de unidades diárias ou dez milhões de unidades três vezes por semana, por quatro a seis meses. São frequentes os efeitos colaterais do tratamento com interferon, como supressão da medula óssea, efeitos neuropsiquiátricos e ocorrência de doença autoimune especialmente da tireoide.

Os agentes antivirais testados contra o HBV são, em sua maioria, inibidores da transcriptase reversa (TR) do HBV, que têm as mesmas características estruturais e homologias de sequência que a TR do HIV. O que mostrou maior eficiência foi a lamivudina, que causa redução rápida e efetiva do DNA do HBV no soro, diminuição do nível de aminotransferases e soroconversão de HBeAg para anti-HBe, que pode ser observada em 17% a 20% dos pacientes tratados, critérios para definir o final do tratamento. O maior problema com relação à terapia com lamivudina é a emergência de mutantes resistentes ao medicamento. Em alguns estudos, 14% a 39% dos pacientes imunocompetentes desenvolvem evidência de vírus resistentes à droga, que ocorre após oito a dez meses de tratamento. Foi ainda aprovado o uso de adefovir e entecavir.

A combinação de interferon com lamivudina está sendo mais bem avaliada, mas parece oferecer melhores resultados que o tratamento com uma das drogas. A terapia combinada, como a utilizada para o HIV, tem sido considerada a mais promissora no tratamento da hepatite B.

A pesquisa de HBsAg e a eliminação de sangue e plasma de doadores infectados diminuem grandemente o risco de infecções por esses produtos.

Na imunoprofilaxia pós-exposição, para prevenção da infecção perinatal pelo vírus da hepatite B ou nos casos de exposição sanguínea acidental percutânea ou de mucosa, comunicantes sexuais de casos agudos de hepatite B e vítimas de abuso sexual, recomenda-se o uso de imunoglobulina humana anti-hepatite B. Essa é obtida de plasma de doadores selecionados com altos

títulos de anticorpos específicos, em dose única de 0,06 mL/kg; em lactentes, aplicar 0,5 mL (1 mL = 200UI), por via intramuscular.

O mais importante avanço no controle das infecções pelo VHB é a vacinação. Partículas de HBsAg, contendo o polipeptídeo HBsAg produzido em leveduras pela técnica de DNA recombinante, são utilizadas atualmente como uma vacina altamente efetiva. A vacina faz parte do calendário oficial de vacinação infantil; a primeira dose é administrada ao nascimento, a segunda, com um mês de vida e a terceira aos seis meses de idade. No Brasil, a vacina contra a hepatite B começou a ser implantada, a partir de 1992 e, atualmente, com o objetivo de reduzir os níveis de infecção pelo VHB, foi estendida em todo o território nacional para a faixa de até 19 anos.

3.3 Hepatite C

O reconhecimento da existência do vírus da hepatite C é recente. Com a constatação de grande número de casos de hepatite não-B, associados a transfusões; de casos de hepatite não-B em viciados em drogas e hemofílicos, de alto grau de cronicidade em hepatite não-B associada a transfusões, e da distribuição de períodos de incubação de sete a oito semanas, intermediário entre os períodos de incubação da infecção por HAV (três a quatro semanas) e da infecção por HBV (12 a 14 semanas), criou-se a denominação de hepatite não-A não-B, até a descrição dos vírus responsáveis pelas hepatites C e E.

3.3.1 Agente

O vírus da hepatite C (HCV) tem características genéticas e biológicas que permitem sua inclusão na família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus*, espécie *Hepatitis C virus*. As partículas virais esféricas têm 50 nm de diâmetro e contêm um envelope lipoproteico. O core viral é esférico e tem aproximadamente 30 nm, mas ainda não foram determinados os detalhes desses virions. O genoma viral contém uma molécula de RNA de fita simples de polaridade positiva, de aproximadamente 9,6 kb. O virion consiste de pelo menos três proteínas: a proteína C (p19), do nucleocapsídeo (core) e duas glicoproteínas de envelope E1 (gp31) e E2 (gp70), codificadas pela porção aminoterminal do genoma viral. O genoma codifica, ainda, na terminação 3', seis proteínas não estruturais (NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B).

Não existe um sistema eficiente para o cultivo do HCV, assim não foi possível um estudo antigênico muito detalhado do vírus e não se sabe se existem diferentes sorotipos do vírus. O desenvolvimento de sistemas de replicação *in vitro* para o VHC, em 2005, foi uma das mais importantes conquistas na pesquisa desse agente. Os hepatócitos transfectados com genomas virais

produzem virions que são infecciosos não apenas *in vitro*, mas também *in vivo* em camundongos e chimpanzés. Esses modelos experimentais devem possibilitar o rápido avanço no estudo dos mecanismos moleculares da patogênese e imunidade do HCV.

As regiões conservadas do genoma têm sido estudadas e utilizadas para a classificação dos vírus em seis genótipos (1 a 6) e cada genótipo difere dos demais em 25 a 35% na sequência de nucleotídeos. Foram ainda descritos mais de 100 subtipos (1a, 1b, 1c etc.), que diferem entre si por 15-25% na sequência de nucleotídeos.

O HCV é inativado pela exposição ao calor, a 60°C, por dez horas ou a 100°C por dois minutos e é relativamente instável em temperatura ambiente.

3.3.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

O vírus da hepatite C (HCV) é transmitido quase que exclusivamente pela exposição parenteral a sangue, produtos de sangue e objetos contaminados com sangue. A triagem de doadores de sangue e a implementação de procedimentos para a inativação do vírus quase eliminaram a transmissão do HCV por essa via, embora o risco mais importante atualmente seja a contaminação de seringas compartilhadas por usuários de drogas injetáveis. A transmissão sexual e a perinatal já foram encontradas, mas não parecem ser comuns. Embora teoricamente o HCV possa ser transmitido por exposição de mucosas aos vírus, comparando-se com o HBV, essa via é muito ineficiente. Os baixos títulos de HCV no sangue com relação aos títulos do HBV são responsáveis por essa diferença na transmissão mucosa.

O período de incubação da hepatite C é, em média, de sete semanas, podendo variar de duas a 26 semanas. As infecções podem variar desde subclínicas até fulminantes. Os sintomas clínicos são semelhantes aos das demais hepatites virais, mas ocorrem em apenas um terço dos infectados.

A persistência do vírus ocorre em aproximadamente 80% das infecções e, desses, 20% progridem para hepatite crônica ativa e cirrose, mesmo que a infecção não seja clinicamente aparente. A infecção persistente pelo HCV tem sido ligada epidemiologicamente ao câncer primário de fígado, à cirrose criptogênica e a algumas formas de hepatite autoimune. As manifestações extra-hepáticas incluem crioglobulinemia associada a glomerulonefrite e possivelmente porfiria cutânea tardia, síndrome semelhante à de Sjögren e outras condições autoimunes.

Dados soroepidemiológicos indicam que o HCV tem distribuição mundial e a prevalência estimada é de 2,2% da população mundial, equivalente a 130 milhões de pessoas infectadas pelo vírus. Em alguns países em desenvolvimento, a prevalência de anticorpos para o HCV já foi determinada em 20% da população, principalmente devido à utilização de seringas e agulhas contaminadas.

No Brasil, com base em dados da rede de hemocentros de pré-doadores de sangue, em 2002 a distribuição do vírus variou entre as regiões brasileiras: 0,62% no Norte, 0,55% no Nordeste, 0,28% no Centro-Oeste, 0,43% no Sudeste e 0,46% no Sul. Um dos poucos estudos de base populacional realizados no País revelou 1,42% de portadores de anticorpos anti-HCV na cidade de São Paulo. Resultado semelhante foi obtido em um estudo de soroprevalência realizado em Salvador, com 1,5% de portadores de anti-HCV. Atualmente, a transmissão da hepatite C via transfusão sanguínea e hemoderivados é rara; porém essa forma de contágio teve grande importância nos anos anteriores a 1993, quando foi instituído o teste em bancos de sangue após a disponibilização de *kits* comerciais.

A forma de transmissão mais importante, na maioria dos países que utilizam o teste de doadores de sangue é o uso ilícito de drogas injetáveis. A transmissão sexual não é tão comum quanto na hepatite B, mas parece ocorrer em menor grau.

Qualquer condição de comportamento, ocupação ou médica que resulte em exposição constante a sangue ou produtos de sangue constitui risco para aquisição de hepatite C. A partir da constatação de que o HIV podia ser transmitido por transfusão de sangue, os doadores começaram a ser submetidos a questionários sobre comportamento de risco, e muitos desses comportamentos também apresentam risco para a aquisição do HCV.

3.3.3 Diagnóstico laboratorial

O HCV replica-se em vários tipos de linhagens celulares derivadas de hepatócitos e linfócitos, mas o crescimento viral não tem sido suficiente para a aplicação prática desses sistemas, principalmente para a produção de antígenos virais.

Atualmente, existem testes específicos para a detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C, baseados no ensaio imunoenzimático do tipo ELISA, com antígenos recombinantes, obtidos por clonagem e expressão do genoma viral. Os testes diagnósticos que detectam anticorpos foram desenhados para a triagem de amostras em bancos de sangue, para detectar indivíduos

infectados de forma crônica, em que os anticorpos contra os diversos antígenos estão sempre presentes. Esses testes não são adequados para o diagnóstico de infecções agudas pelo HCV, pois não detectam pacientes infectados durante a chamada janela imunológica, ou seja, o período entre a infecção e o aparecimento dos anticorpos detectáveis pelos testes. Para o diagnóstico da hepatite C aguda, a detecção do genoma viral é recomendada.

A soroconversão ao antígeno utilizado nos testes de primeira geração, utilizando o antígeno denominado C100-3, derivado do gene não estrutural NS4, ocorre dois a três meses após a infecção e o teste não apresentava sensibilidade e especificidade adequadas e foi substituído em 1992 pelos testes de segunda geração. Esses utilizam antígenos derivados dos genes C do *core* e não estruturais NS3, em adição ao antígeno derivado de NS4, representando um teste multiantigênico, levando a um aumento substancial de sensibilidade e a um aumento pequeno na especificidade, e à diminuição da janela imunológica em quatro a dez semanas. Um teste de terceira geração, utilizando antígenos reconfigurados da proteína do *core* (c22-3) e da NS3 (c200) e mais um antígeno adicional derivado do gene NS5, passou a ser utilizado em 1995. Os testes de anticorpos positivos na triagem devem ser confirmados; em geral, utiliza-se o teste de RIBA (*recombinant immunoblot assay*), que contém antígenos recombinantes no formato imunoblot.

O RNA viral pode ser identificado por RT-PCR, de forma qualitativa ou quantitativa. A determinação da carga viral, ou níveis da RNA viral no soro de pacientes, é feita por PCR quantitativo (Q-PCR) ou técnica de *branched DNA* (bDNA) e é utilizado para avaliar a eficiência da terapia antiviral.

A amplificação por PCR e análise da sequência de nucleotídeos é a melhor técnica para a determinação dos genótipos do vírus da hepatite C, que também é utilizada na avaliação da terapia antiviral.

3.3.4 Principais medidas de controle

A imunoglobulina normal não mostrou eficácia na proteção contra a transmissão associada à transfusão do HCV.

O tratamento ideal para o vírus da hepatite C deveria conseguir a erradicação do HCV no início da doença, para prevenir a progressão para doença hepática, mas até o momento isso não foi possível. As terapias em uso atualmente consistem em agentes antivirais e imunomoduladores que alteram a replicação viral e modificam a resposta imune do hospedeiro.

Existem duas drogas aprovadas para o tratamento da hepatite C: o interferon- α , licenciado desde 1991, e a ribavirina, licenciada para uso em combinação com o interferon. Formas de interferon ligadas a polietilenoglicol (interferon peguilado) têm sido utilizadas recentemente.

A genotipagem do vírus pode auxiliar na determinação do tratamento: tem sido demonstrado que pacientes infectados com o genótipo 1 são mais resistentes à terapia com interferon. Na terapia combinada interferon-ribavirina, pacientes infectados com os genótipos 2 ou 3 de HCV podem necessitar de apenas seis meses de terapia, enquanto os infectados com o genótipo 1 devem ser tratados por pelo menos um ano.

Atualmente, o controle das infecções pelo HCV só é conseguido com a prevenção de sua transmissão por sangue ou derivados de sangue, por meio de testes que identificam a maioria dos portadores crônicos do vírus. Não existem vacinas contra o vírus da hepatite C, pois a falta de um sistema de cultivo do vírus torna impraticável a produção de grandes quantidades de vírus vacinais. Além disso, a diversidade genética do vírus também torna difícil o desenvolvimento de uma vacina.

3.4 Hepatite D

3.4.1 Agente

O agente etiológico da hepatite D, ou agente delta, necessita para sua replicação da infecção concomitante com o vírus da hepatite B e pode, assim, ser considerado um vírus satélite. É atualmente classificado no gênero *Deltavirus*, espécie *Hepatitis delta virus*. Os virions são esféricos, com diâmetro médio de 36 a 43 nm, e consistem de um envelope contendo lipídios e as três proteínas do envelope do vírus co-infectante da hepatite B (HBV) e um nucleocápside interno de 19 nm, que inclui o genoma RNA do HDV e 70 cópias da única proteína codificada pelo genoma do HDV, o antígeno delta (HDAg). O HDAg existe em duas formas, L-HDAg (*large*) ou p27 e S-HDAg (*small*) ou p24, que diferem apenas em 19 aminoácidos na extremidade C terminal. A simetria do nucleocápside não está determinada.

O genoma consiste em uma única molécula de RNA de fita simples (ssRNA) de polaridade negativa circular de 1,7kb. Tanto o RNA genômico quanto o antígenômico podem funcionar como ribozimas, para clivagem e ligação próprias: essa propriedade torna o genoma do HDV único e distinto de todos os outros vírus animais.

Estudos moleculares determinaram a existência de pelo menos três genótipos de HDV, com diferentes distribuições geográficas.

3.4.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

O agente delta causa uma forma grave de hepatite, através de superinfecção de portadores crônicos do vírus da hepatite B ou de co-infecção simultânea com hepatite B e agente delta. Esse agente pode estar etimologicamente relacionado com a febre negra de Lábrea.

A hepatite D tende a ser mais severa que as demais hepatites virais, mas não pode ser diferenciada dessas clínica ou histologicamente. A biópsia de fígado pode apresentar elementos de infecção aguda, em casos de co-infecção pelos HBV e HDV, ou elementos de hepatite aguda e crônica, se a infecção aguda pelo HDV ocorre em pacientes com hepatite B crônica, e, ainda, características de hepatite crônica se o paciente apresentar infecção crônica pelos dois vírus.

Após o período de incubação de três a sete semanas, ocorre uma fase prodrômica, com fadiga, letargia, anorexia e náuseas, que dura de três a sete dias e é seguida pela fase ictérica.

A doença aguda ocorre em dois padrões, dependendo da situação do HBsAg no paciente infectado pelo HDV. A infecção simultânea ou co-infecção resulta em hepatites agudas B e D e, como elas apresentam períodos de incubação diferentes, pode ocorrer hepatite em duas fases, em geral a primeira pelo HBV e a doença em geral é leve, com recuperação completa em 12 a 16 semanas e evolução para doença crônica em 1% a 3% dos casos. A infecção pelo HDV em indivíduos infectados de forma crônica pelo HBV, ou superinfecção, causa, em geral, uma hepatite aguda severa, com período de incubação curto, que leva à hepatite D crônica em 90% dos casos. A superinfecção é frequentemente associada a hepatite fulminante, hepatite crônica ativa e cirrose hepática.

A hepatite D apresenta alta prevalência na região do Mediterrâneo, no Oriente Médio, na Ásia Central, em algumas ilhas do Pacífico Sul e na bacia Amazônica. O genótipo 1 é encontrado em todas as áreas, enquanto o genótipo 2 é limitado ao Leste da Ásia e o 3 à América do Sul. No Brasil, a infecção pelo HDV é associada à febre negra de Lábrea.

A mortalidade por hepatite D é de 2 a 20%, dez vezes maior que a taxa para o VHB. A transmissão do HDV ocorre principalmente através de sangue e produtos de sangue.

3.4.3 Diagnóstico laboratorial

Não foi ainda descrito o cultivo do VHD em culturas celulares. O diagnóstico é feito com base em testes sorológicos. A Figura 87.4 apresenta os padrões sorológicos na co-infecção e superinfecção pelo VHD. Os anticorpos contra o HDAg (anti-HD) podem estar presentes de forma temporária e em baixos títulos. Os testes de IgM anti-HD e RNA do HDV ou antígeno HD no soro são os melhores marcadores da infecção aguda. Na superinfecção, a progressão para hepatite crônica é associada a altos níveis de IgM anti-HD, que persistem, assim como os testes para RNA e antígeno HD, evidenciando a viremia.

3.4.4 Principais medidas de controle

Não existe tratamento específico para a hepatite D. Como a replicação do HDV apresenta dependência absoluta da replicação do HBV, as terapias para hepatite B podem ser efetivas para controlar também o HDV. A única droga aprovada para o tratamento da infecção crônica pelo VHD é o interferon- α , que funciona melhor quando o tratamento é iniciado logo que a infecção é adquirida.

Todas as medidas de prevenção da hepatite B, como triagem de doadores de sangue e vacinação de indivíduos suscetíveis, são altamente efetivas na prevenção da infecção pelo HDV.

3.5 Outros vírus causadores de hepatites

Em 1994, foi descrito um vírus, denominado vírus da Hepatite F, que posteriormente foi definido como uma variante do HCV, descrita no Japão.

Em 1995, um outro vírus de origem humana foi descrito, denominado vírus GBV-C (GB a partir das iniciais do paciente). Em 1996, foi descrito o vírus da hepatite G (HGV), clonado a partir da amostra de um paciente com hepatite não-ABCDE inoculada em saguis, e que apresentava 95% de homologia de sequência com o GBV-C. Esses vírus são membros prováveis da família *Flaviviridae*, mas não apresentam homologia com os vírus da hepatite C. Foram descritos originalmente como causadores de hepatites, mas, até o momento, a patogenicidade e o local de replicação ainda não foram confirmados. Esses vírus podem ser transmitidos verticalmente, da mãe para o feto, por sangue ou produtos de sangue e por contato sexual, e não foram associados com doenças hepáticas ou com outras doenças em humanos.

Em 1997, foi descrito, no Japão, um novo vírus DNA associado com níveis elevados de transaminases em hepatites pós-transfusionais de etiologia desconhecida. O Torque Teno Vírus (TTV), atualmente classificado no gênero *Anellovirus*, foi descrito em

vários trabalhos e apresenta uma alta prevalência na população geral, havendo evidências de transmissão parenteral, entérica e vertical. Não foi descrita nenhuma associação do TTV com hepatite ou com qualquer outra doença em humanos. A partícula viral mede 30 a 32 nm de diâmetro e o genoma do vírus é composto por DNA de fita simples, circular, de aproximadamente 3,5 a 3,8 kb. Em 1999, foi descrito um outro vírus denominado SEN-V, atualmente classificado também como TTV no gênero *Anellovirus*. Foi ainda descrito um vírus com genoma menor, 2,8 a 2,9 kb, mas com as mesmas características genômicas do TTV, atualmente chamado TT minivírus. Nenhum desses vírus foi claramente associado como causa de hepatites ou de qualquer outra doença em humanos.

3.6 Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)

3.6.1 Agente

Os retrovírus são classificados na família *Retroviridae*, que contém duas subfamílias, *Orthoretrovirinae* e *Spumaretrovirinae*. A subfamília *Orthoretrovirinae* contém 6 gêneros, *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus* e *Lentivirus*, e a subfamília *Spumaretrovirinae* contém o gênero *Spumavirus*. Os virions são esféricos, envelopados e apresentam 80 a 100 nm de diâmetro. O envelope viral contém projeções ou espículas na superfície, de aproximadamente 8 nm em diâmetro. O core interno contém o nucleocápside viral. O nucleocápside aparentemente esférico é excêntrico para os membros do gênero *Betaretrovirus*, na forma de cone truncado para os do gênero *Lentivirus* e concêntrico para os membros dos demais gêneros. O genoma viral consiste de um dímero de RNA de fita simples de polaridade positiva linear (+ssRNA) e cada monômero apresenta tamanho de 7 a 11 kb. Os monômeros são mantidos juntos por pontes de hidrogênio. Cada monômero é poliadenilado na extremidade 3' e apresenta um cap na extremidade 5'. O RNA viral purificado não é infeccioso. Cada monômero é associado a uma molécula específica de RNA transportador (t-RNA), que é pareado com uma região específica, chamada sítio de ligação do *primer*, localizada perto da extremidade 5' do genoma e envolve 18 bases na extremidade 3' do t-RNA. Os virions apresentam quatro genes principais, que codificam as proteínas virais, na seguinte ordem: 5'-*gag-pro-pol-env*-3'. O gene *env* codifica duas glicoproteínas de envelope, denominadas SU (de superfície) e TM (transmembrânica). O virion apresenta ainda de três a seis proteínas estruturais internas, não-glicosiladas, codificadas pelo gene *gag*. As principais proteínas são: MA (matriz), CA (cápside) e NC (nucleocápside). O gene *pro* codifica as seguintes proteínas: PR (protease), RT (transcriptase reversa) e IN (integrase). Alguns retrovírus contêm genes que codificam proteínas importantes na regulação da expressão gênica e replicação viral.

Os retrovírus são associados a uma variedade de doenças, incluindo leucemias, linfomas, sarcomas e outros tumores de origem mesodermal; carcinomas mamários, de fígado e rim, imunodeficiências, como a Aids (*acquired immuno-deficiency syndrome* ou síndrome da imunodeficiência adquirida) e doenças autoimunes. Alguns retrovírus não são patogênicos. Os retrovírus endógenos são transmitidos por herança dos provírus.

Os vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV, do inglês *Human immunodeficiency virus*) têm uma morfologia distinta dos demais retrovírus, com o *core* viral na forma de cone. Cada monômero que compõe o genoma viral tem 9,3 Kb de tamanho. Além dos genes *gag*, *pro*, *pol* e *env*, o HIV-1 apresenta os seguintes genes adicionais: *vif*, *vpr*, *vpu*, *tat*, *rev*, *nef*, cujos produtos são necessários para regular a síntese e processamento do RNA viral e outras funções na replicação viral. A maioria desses genes é localizada na direção 3' após os genes *gag-pro-pol* e na direção 5' do *env*; o gene *nef* está na extremidade 3' do *env*. O HIV-2 tem ainda um gene adicional, *vpx*. Os vírus do gênero *Lentivirus* não contêm oncogenes. A lista de espécies no gênero reflete diferenças no genoma e na sequência dos produtos gênicos, nas propriedades antigênicas, nas espécies de hospedeiros e na patogenicidade. O gênero contém vários grupos de lentivírus de animais: bovinos (uma espécie), equinos (uma espécie), felinos (duas espécies), ovinos/caprinos (duas espécies), e primatas, onde estão incluídas as espécies de vírus de humanos *Human immunodeficiency virus 1* (HIV-1) e *Human immunodeficiency virus 2* (HIV-2), bem como a espécie *Simian immunodeficiency virus* (SIV), de macacos.

Análises filogenéticas classificam o HIV-1 em três grupos genéticos: M (do inglês *major*), N (do inglês *new*) e O (do inglês *outlier*). No grupo M, as variantes do HIV relacionadas são classificadas em *clades* ou subtipos, designados de A a J. Esses subtipos diferem entre si em aproximadamente 14% nas sequências do gene *gag* e em aproximadamente 30% nas sequências que codificam as proteínas do envelope. No Brasil, a epidemia de HIV foi dominada pelo HIV subtipo B. O subtipo F1 foi inicialmente identificado em Salvador e recombinantes dos subtipos B e F1 foram identificados no Rio de Janeiro. Uma epidemia heterossexual mais recente no sul do Brasil foi caracterizada pela presença do subtipo C. Outros estudos identificaram os subtipos A, B, C, D e F1, bem como formas recombinantes (B/C e B/F1) estão presentes nas amostras brasileiras de HIV.

3.6.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

O HIV é transmitido pela exposição da mucosa oral, retal ou vaginal durante o ato sexual ou amamentação ou por inoculação intravascular, através de

transusão de sangue ou produtos de sangue contaminados, utilização de equipamentos contaminados durante injeção de drogas ou através da circulação materno-fetal. O vírus infecta e mata células que são críticas para a resposta imune efetiva, as células T CD4+ e os macrófagos.

O desenvolvimento da doença após infecção pode variar de pessoa para pessoa. O tempo da infecção aguda até o desenvolvimento da Aids (do inglês, *acquired immunodeficiency syndrome*), definido pela contagem de células CD4+ menor que 200 células/uL, pode ser rápido, seis meses, enquanto são conhecidas pessoas infectadas por mais de 25 anos sem desenvolvimento de sintomas, mesmo sem tratamento com anti-virais.

Os estágios da infecção não-tratada pelo HIV incluem a infecção primária, disseminação do vírus para os órgãos linfóides, latência clínica, expressão elevada do HIV, doença clínica e morte. A duração média entre a infecção primária e a progressão para doença clínica, sem tratamento, é de dez anos e a morte ocorre em dois anos após o aparecimento dos sintomas clínicos.

Após a infecção primária, a replicação viral ocorre e a viremia é detectável por oito a 12 semanas. O vírus é disseminado no organismo e coloniza os órgãos linfóides. Em 50% a 70% dos pacientes, pode aparecer uma síndrome semelhante à mononucleose, três a seis semanas após o contato. O número de células T CD4+ pode diminuir de forma significativa nessa fase. A resposta imune humoral e celular contra o HIV aparece em uma semana a três meses após a infecção, acarretando a queda pronunciada da viremia e recuperação do número de células T CD4+. A imunidade não elimina totalmente a infecção e as células infectadas pelo HIV permanecem nos linfonodos.

Durante o período de latência clínica, a replicação viral continua em altos níveis: a estimativa é de que sejam produzidas e destruídas dez bilhões de partículas de HIV por dia. A meia-vida do vírus no plasma é de aproximadamente seis horas e o ciclo de replicação do vírus, desde a infecção da célula até a liberação da progênie viral, dura em média 2,6 dias enquanto a meia-vida da célula infectada de forma produtiva é de 1,6 dias; os linfócitos CD4+ também têm esse prazo de duração. Considerando-se a rápida multiplicação viral e o erro inerente da transcriptase reversa do HIV, estima-se que cada nucleotídeo do genoma provavelmente sofre mutação diária. Após a latência clínica, o paciente pode desenvolver sintomas constitucionais, como imunodeficiência, e doença aparente, especialmente infecções oportunistas. Os níveis de HIV no plasma elevam-se e as cepas de HIV encontradas nos estágios finais da doença são frequentemente muito mais virulentas e citopáticas que as cepas encontradas no início da doença. A progressão para a Aids em geral

é acompanhada de uma variação de vírus com tropismo para macrófagos e monócitos para vírus com tropismo para o linfócito.

A principal característica das infecções pelo HIV é a depleção de linfócitos T auxiliares, que expressam em sua superfície o marcador fenotípico CD4, que é o receptor principal do HIV. O receptor de quimiocinas CXCR4 atua como co-receptor em linfócitos e o CCR5, em monócitos-macrófagos. Os linfócitos auxiliares têm um papel fundamental na resposta imune e, por isso, as consequências da infecção dessa célula são bastante graves.

Os monócitos-macrófagos dos órgãos linfóides são os principais reservatórios de HIV no organismo, pois são relativamente refratários ao efeito citopático viral. Dessa forma, o vírus pode sobreviver e ser transportado para os vários órgãos do corpo, como pulmões e cérebro. Os órgãos linfóides têm um papel fundamental na infecção pelo HIV, pois geram a resposta imune e o HIV replica-se intensamente nesses órgãos, mesmo durante a fase de latência clínica. A destruição dos tecidos linfóides é o principal mecanismo responsável pela imunodeficiência severa e perda da habilidade de inibição da replicação viral observada no estágio avançado da Aids.

As características clínicas da Aids são a supressão pronunciada do sistema imune e o desenvolvimento de neoplasias, como o sarcoma de Kaposi, um tumor vascular que aparece na pele e mucosas, linfonodos e outros órgãos, e que é associado à co-infecção pelo herpesvírus HHV-8. Podem ainda ocorrer infecções oportunistas severas, como infecções por protozoários, principalmente criptosporídio; por fungos, principalmente *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Pneumocystis jiroveci* (que anteriormente chamava *Pneumocystis carinii* e era considerado protozoário); por bactérias, como *Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, salmonelas, estreptococos e outras e por vírus, como citomegalovírus, herpes simples, varicela-zoster, adenovírus, vírus da hepatite B, entre outros. A infecção por outros vírus DNA, especialmente herpesvírus, pode levar ao aumento da expressão do HIV *in vitro*, sugerindo que as co-infecções virais podem ativar o HIV e acelerar a progressão da doença. Os pacientes com viremia pelo citomegalovírus são duas vezes mais sujeitos à progressão para doença e quatro vezes mais propensos à morte. Para co-infecções pelos vírus das hepatites B e C não foi demonstrada correlação com a progressão para doença.

A carga viral no plasma permanece relativamente constante em um paciente por um longo período de tempo, devido ao equilíbrio entre a produção e a destruição de vírus e é um bom indicador do prognóstico clínico dos pacientes. Quanto maior for a carga viral medida no plasma, maior a probabilidade

de progressão para doença clínica em menos tempo. Na ausência de terapia antiretroviral, indivíduos com níveis de RNA do HIV maiores que 100.000 cópias/mL seis meses após a infecção primária têm dez vezes mais chance de progredir para Aids em cinco anos do que indivíduos com níveis menores de viremia. Para pacientes com infecção estabelecida pelo HIV, uma carga viral de mais de 30.000 cópias/mL é associada com probabilidade cinco vezes maior de progressão para doença em três anos, quando comparados a pacientes com cargas virais estáveis de 3.000 a 10.000 cópias/mL.

A Aids foi inicialmente reconhecida em 1981, quando ocorria em homossexuais do sexo masculino. Atualmente, a doença tornou-se uma epidemia de grandes proporções e em contínua expansão. O Programa Conjunto das Nações Unidas e Organização Mundial da Saúde em HIV/Aids (UNAIDS) calculou que, em 2006, existiam 39,5 milhões de pessoas vivendo com HIV/Aids no mundo, sendo 2,3 milhões de crianças e 1,7 milhões de pacientes na América Latina. Só no ano de 2006, ocorreram 4,3 milhões de novas infecções e 2,9 milhões de pessoas morreram de Aids. A transmissão sexual acontece em mais de 90% das infecções pelo HIV no mundo. Em países em desenvolvimento, essas infecções ocorrem principalmente por contato heterossexual.

No Brasil, a Aids foi identificada pela primeira vez em 1980 e apresentou um crescimento acelerado até 1998, quando foram registrados 25.732 casos novos, com um coeficiente de incidência de 15,9 casos/100 mil habitantes. A partir de então, observa-se uma redução na velocidade de crescimento da epidemia, com uma redução da incidência. No período de 1995 a 1999, observou-se redução de 50% na taxa de letalidade em relação aos primeiros anos do início da epidemia, onde essa taxa era de 100%. Atualmente, verifica-se uma tendência de heterossexualização, feminização, envelhecimento e pauperização da epidemia, aproximando-a cada vez mais do perfil socioeconômico do brasileiro médio. Outro dado não menos preocupante é a crescente incidência da Aids na faixa etária de 13 a 19 anos, em adolescentes do sexo feminino. Tal fato é explicado pelo início precoce da atividade sexual em relação aos adolescentes do sexo masculino, normalmente com homens com maior experiência sexual e mais expostos aos riscos de contaminação por DST e pela Aids.

O Ministério da Saúde, através do Programa Nacional de DST e Aids (PN-DST/Aids) tem como objetivo reduzir a incidência do HIV/Aids e melhorar a qualidade de vida das pessoas vivendo com HIV/Aids. Tem desenvolvido constantes ações preventivas, assegurado diagnóstico e tratamento para todos os pacientes e garantido o controle na transfusão de sangue e hemoderivados.

3.6.3 Diagnóstico laboratorial

A infecção pelo HIV pode ser detectada por três meios: (1) isolamento do vírus; (2) detecção de anticorpos anti-HIV e (3) detecção e quantificação de ácido nucleico ou antígenos virais.

O HIV pode ser cultivado a partir de linfócitos do sangue periférico e o número de células infectadas em circulação varia de acordo com o estágio da doença. A técnica mais sensível para o isolamento do vírus é o co-cultivo das amostras com células mononucleares do sangue periférico, não infectadas e estimuladas com mitógenos. O cultivo do vírus é detectado pelo teste do sobrenadante das culturas após sete a 14 dias para atividade de transcriptase reversa ou para antígenos virais, como o p24. As técnicas de isolamento são demoradas e trabalhosas e têm sido substituídas pelas técnicas de PCR para detecção do vírus em amostras clínicas.

A sorologia é feita normalmente utilizando *kits* comerciais, em geral baseados nas técnicas de ensaio imunoenzimático, do tipo ELISA. Quando esses testes são utilizados na triagem de populações com baixa prevalência de infecção pelo HIV, como, por exemplo, doadores de sangue, um resultado positivo deve ser confirmado por repetição do teste. No Brasil, os laboratórios e unidades hemoterápicas, públicos e privados, adotam, obrigatoriamente, a realização combinada de dois testes distintos, na primeira etapa do teste de qualquer amostra de soro ou plasma. Os dois testes devem ter princípios metodológicos e/ou antígenos distintos (lisado viral, antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos) e pelo menos um dos testes deve ser capaz de detectar anticorpos anti-HIV-1 e anti HIV-2. Os dois testes devem ser realizados simultaneamente. As amostras reagentes aos dois testes devem ser submetidas, em seguida, a um teste confirmatório, que pode ser a reação de imunofluorescência indireta (IFI) ou a técnica de *Western Blot* (WB). As amostras com resultados discordantes ou indeterminados nos dois testes devem ser retestadas, em duplicata, com os mesmos conjuntos diagnósticos. Após a retestagem em duplicata, as amostras reagentes e as amostras com resultados discordantes ou indeterminados também devem ser submetidas a um teste confirmatório (IFI ou WB).

As técnicas de amplificação de ácidos nucleicos, como RT-PCR, NASBA (do inglês, *nucleic acid sequence-based amplification*) e bDNA (do inglês, *branched-chain DNA*), foram desenvolvidas para detecção do RNA viral em amostras clínicas. Esses testes podem ser quantitativos, determinando a carga viral, ou quantidade de RNA viral presente nas amostras clínicas, que tem grande aplicação na avaliação da progressão da doença e na monitoração dos efeitos das terapias antivirais.

A partir de fevereiro de 2002, no Brasil tornou-se ainda obrigatória a inclusão, nos serviços de hemoterapia, dos testes de amplificação e detecção de ácidos nucleicos – NAT (do inglês, *Nucleic acid tests*), para os vírus HIV e para o vírus da hepatite C (HCV), em todas as amostras de sangue de doadores. Considera-se que a incorporação do NAT na triagem laboratorial dos doadores de sangue diminuiu o período de janela imunológica do HIV, de 22 para 12 dias, aumentando assim as chances de identificação de contaminações virais em doações de sangue.

Para detectar as mutações do HIV, utiliza-se a genotipagem do HIV-1, que determina o padrão da mutação responsável pela falha da terapia com anti-retrovirais (ARV), para que, assim, o médico possa recombina ou modificar a terapia de seu paciente e, com isso, impedir o desenvolvimento da Aids.

3.6.4 Principais medidas de controle

Existem inúmeras drogas anti-retrovirais (ARV) aprovadas para o tratamento de infecções pelo HIV. As classes de drogas incluem inibidores nucleotídicos da enzima viral transcriptase reversa, inibidores não nucleotídicos e inibidores de protease. A recomendação atual para o tratamento de pacientes infectados pelo HIV é a utilização de combinações de antivirais, ou coquetel, como é popularmente designado no Brasil. A combinação mais comum contém dois inibidores nucleotídicos de transcriptase reversa e um inibidor de protease. Devido ao alto nível de replicação viral e às possibilidades de erro da transcriptase reversa, a terapia deve ser utilizada para suprimir a replicação viral e prevenir a seleção de mutantes resistentes às drogas. Assim, o tratamento deve ser iniciado logo no início da infecção. A efetividade da terapia deve ser monitorada através da medida da carga viral no plasma. A monoterapia resulta na rápida emergência de mutantes resistentes à droga enquanto a utilização da terapia combinada resultou na redução do RNA viral no plasma de alguns pacientes para níveis não detectáveis por períodos de até um ano.

A utilização da terapia anti-retroviral altamente ativo (HAART – *highly active anti-retroviral therapy*) trouxe grandes benefícios aos pacientes infectados pelo HIV ou com Aids.

No Brasil, o tratamento anti-retroviral é indicado para todos pacientes sintomáticos infectados pelo HIV e para pacientes assintomáticos que apresentam contagem de linfócitos T-CD4+ abaixo de 200/mm³. Quando o paciente assintomático apresenta contagem de linfócitos T-CD4+ entre 200 e 350/mm³ o início da terapia anti-retroviral deve ser considerado conforme a evolução dos parâmetros imunológicos (contagem de linfócitos T-CD4+), viroló-

gicos (carga viral) e outras características do paciente (motivação, capacidade de adesão, comorbidades). Dentro dessa faixa, a monitorização clínico-laboratorial e a reavaliação da necessidade do início da terapia anti-retroviral devem ser mais frequentes, já que a queda dos linfócitos T-CD4+ para menos de 200/mm³ é indesejável, por estar associada a aumento acentuado na incidência de infecções oportunistas e à resposta terapêutica menos duradoura.

Além disso, atualmente são conhecidos vários efeitos colaterais significativos dos anti-retrovirais que não eram evidentes quando se iniciou sua utilização terapêutica: neuropatia, hepatotoxicidade, pancreatite, lipodistrofia, diabetes, dislipidemia, osteoporose e acidose láctica; essas complicações associadas à terapia podem piorar consideravelmente a qualidade de vida do indivíduo infectado pelo HIV.

Com o advento da terapia anti-retroviral potente, as manifestações clínicas da infecção pelo HIV tornaram-se menos frequentes e houve melhora substancial do prognóstico e da qualidade de vida dos indivíduos infectados. Entretanto, a resistência viral, a toxicidade das drogas e a necessidade de alta aderência ao tratamento ainda permanecem como importantes problemas, tornando necessária a avaliação cuidadosa de riscos e benefícios da terapia anti-retroviral no momento de sua indicação. A administração dos antivirais é bastante complicada e cara e pode não ser tolerada por alguns pacientes, podendo levar a falhas terapêuticas significantes. No Brasil, o Ministério da Saúde tem garantido o acesso universal e gratuito ao tratamento anti-retroviral no Sistema Único de Saúde (SUS).

A Coordenação Nacional de DST e Aids do Ministério da Saúde implantou uma Rede Nacional para executar e interpretar testes de genotipagem, conhecida como Rede Nacional de Genotipagem (RENAGENO). A Rede tem por objetivo detectar a ocorrência de resistência genotípica do HIV-1 aos anti-retrovirais e selecionar a terapia de resgate mais adequada aos pacientes atendidos no Sistema Único de Saúde.

Ainda não existe qualquer tipo de quimioprofilaxia absolutamente segura em caso de exposição ao HIV, o que reforça a necessidade do rigoroso estabelecimento de normas universais de biossegurança para diminuir o risco dessa exposição. A exposição ocupacional ao HIV deve ser tratada como emergência médica, uma vez que a quimioprofilaxia deve ser iniciada o mais rapidamente possível, idealmente até duas horas após o acidente e no máximo até 72 horas.

O AZT reduz significativamente a transmissão do HIV da mãe para a criança. A terapia da mãe durante a gravidez e o processo de nascimento reduz o risco de transmissão perinatal em 65% a 75%. Esse tratamento é efetivo na transmissão vertical em todos os níveis de carga viral materna.

Vários estudos estão sendo realizados para o desenvolvimento de vacinas contra o HIV, tanto vacinas preventivas, ministradas a indivíduos não infectados para prevenir a infecção ou doença, quanto vacinas terapêuticas, para o tratamento de indivíduos infectados, aumentando a imunidade anti-HIV, diminuindo o número de células infectadas. O desenvolvimento de vacinas é difícil, porque o HIV sofre mutações frequentes, não é expresso em todas as células que infecta, e não é completamente eliminado pela imunidade do indivíduo após a infecção primária. Os isolados do HIV apresentam grande variação, principalmente nas proteínas do envelope, que pode propiciar a emergência de mutantes resistentes à neutralização. Têm sido estudadas vacinas de subunidades, produzidas com proteínas recombinantes, ministradas com o auxílio de adjuvantes ou de vetores virais heterólogos. O principal problema no desenvolvimento de vacinas contra o HIV é a falta de um modelo animal apropriado. Os únicos animais suscetíveis ao HIV são os chimpanzés, que só desenvolvem viremia e anticorpos e não desenvolvem imunodeficiência. O modelo que utiliza o vírus símio SIV em macacos, que desenvolvem a doença, pode ser melhor para a avaliação de vacinas, apesar do pouco conhecimento disponível sobre a imunologia de macacos, tornando difícil a interpretação dos resultados.

Sem drogas ou vacinas que possibilitem a eliminação do vírus, a melhor forma de evitar a disseminação do HIV é a manutenção de um estilo de vida que minimize ou elimine os fatores de risco de infecção. Assim, o ideal é testar todos os doadores de sangue, para anticorpos, antígenos e ácido nucleico, o que praticamente elimina a transmissão por transfusão sanguínea. A educação de grupos de risco deve envolver mudanças de comportamento, tanto no uso de preservativos nas relações sexuais, na eliminação do uso compartilhado de seringas e agulhas por usuários de drogas endovenosas, e na educação dos indivíduos infectados para evitar a transmissão do HIV.

3.7 Vírus T-linfotrópicos humanos (HTLV-1 e HTLV-2)

3.7.1 Agente

O genoma dos vírus T-linfotrópicos humanos HTLV-1 e 2, pertencentes ao gênero *Deltaretrovirus*, espécies *Primate T-lymphotropic virus 1*, que inclui o vírus T-linfotrópico humano tipo 1 (HTLV-1, do inglês *Human T-lymphotropic*

virus 1) e *Primate T-lympho-tropic virus 2*, que inclui o HTLV-2 (*Human T-lymphotropic virus 2*) tem tamanho de 8,3 kb e, além dos genes *gag*, *pro*, *pol* e *env*, inclui dois genes não-estruturais, denominados *tax* e *rex*, envolvidos na regulação da síntese e processamento dos RNA virais. Os vírus *Primate T-lymphotropic virus 1* são diferenciados dos *Primate T-lymphotropic virus 2* com base em diferenças filogenéticas. O papel do HTLV-2 em doenças humanas ainda precisa ser melhor estabelecido, mas há evidências de que pode estar associado com doenças neurológicas e possivelmente, doenças linfoproliferativas. Recentemente foram descritos dois novos vírus, os HTLV-3 e HTLV-4, que não foram associados a doenças em humanos.

3.7.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

Os HTLVs são estudados por sua associação com neoplasias e neuropatologias e por sua capacidade de transformar células T primárias em cultura. A leucemia de linfócitos T do adulto (LLTA ou, em inglês, ATL – *adult T-cell leukemia*) foi descrita pela primeira vez no Japão e é encontrada em todo o mundo. A maioria dos indivíduos infectados com HTLV-1 é portador assintomático.

A transmissão do HTLV ocorre por três mecanismos: transmissão sexual, transmissão através de sangue ou produtos de sangue e transmissão vertical. A transmissão por contato sexual ocorre através de células infectadas pelo HTLV presentes no sêmen. A transmissão através de sangue ou produtos de sangue só ocorre com produtos que envolvem a transfusão de linfócitos íntegros do doador, pois o vírus não é transmitido por fluídos corporais livres de células. As mães infectadas podem transmitir o vírus para o feto ou para o recém-nascido, pela passagem de linfócitos maternos infectados através da placenta ou do leite materno.

Quando os linfócitos infectados pelo HTLV estão presentes em níveis que podem ser detectados através da técnica de *Southern Blotting*, as sequências virais estão presentes na forma integrada, em geral de forma monoclonal do sítio de integração. A infecção inicial pelo HTLV resulta em transformação policlonal de uma população celular, que depende da oncoproteína viral *tax*, e um processo de seleção resulta na evolução de clones que podem desenvolver para células malignas.

A leucemia de linfócitos T do adulto (LLTA) apresenta as seguintes fases: (1) estado de portador assintomático; (2) estado pré-leucêmico (pré-LLTA); (3) LLTA crônica; (4) linfoma (e) leucemia aguda.

Na fase aguda e também na pré-LLTA e LLTA crônica, o genoma viral está presente na forma de provírus em todas as células tumorais, mas a expressão de genes virais nas células não ocorre.

O HTLV-1 também pode causar, após um longo período de incubação, uma síndrome de desmielienização conhecida como paraparesia espástica tropical ou mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP, do inglês *HTLV-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis*). A HAM/TSP é caracterizada por uma paraparesia crônica e progressiva com distúrbio esfíncteriano, perda sensorial, ausência de compressão de coluna espinhal e soropositividade para anticorpos contra HTLV-I. A patogênese dessa virose não é muito conhecida, e envolve fenômeno de ativação imune contra a presença de antígenos do HTLV-I, conduzindo a um processo inflamatório de desmielinização, principalmente na medula espinhal torácica. As principais características neurológicas da TSP/HAM consistem em contrações e fraqueza nos membros inferiores, distúrbios urinários, e perturbações sensoriais a nível torácico. Em pacientes com HAM/TSP, a integração viral é policlonal; assim, a doença não é consequência do desenvolvimento de clones malignos, como ocorre na LLTA.

As infecções pelo HTLV-1 têm distribuição universal. As mais altas prevalências ocorrem em populações de usuários de drogas injetáveis e receptores de sangue ou hemoderivados. Taxas elevadas de infecção são encontradas na América do Sul, América Central e África subsaariana. O número de pessoas no mundo infectadas pelo HTLV foi estimado em 15 a 25 milhões. A grande distribuição do HTLV no mundo e o fato de a infecção pelo HTLV estar difundida em populações que aparentemente não têm nenhuma inter-relação fizeram com que alguns epidemiologistas concluíssem que esse vírus está infectando seres humanos há muito mais tempo que o HIV. O Brasil é considerado área endêmica para o HTLV-1, com infecções em 0,5% dos indivíduos testados na Região Sul e 1,5% no Nordeste.

A infecção pelo HTLV-2 também ocorre de forma universal, especialmente em usuários de drogas injetáveis, mas seu papel como causa de doenças não está estabelecido, devido ao pequeno número de doenças associadas à infecção por esse vírus.

O HTLV é transmitido da mesma forma que o HIV, ou seja, por meio dos fluidos corpóreos, como esperma, secreções vaginais, sangue, da gestante para o feto e da mãe à criança durante a amamentação.

3.7.3 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial dos vírus HTLV-1 e 2 depende da detecção do anticorpo específico no soro dos pacientes. Os métodos mais utilizados são a reação imunoenzimática do tipo ELISA e a aglutinação de partículas. Os resultados positivos têm que ser confirmados com testes mais específicos, como *Western Blot*, radioimunoprecipitação ou reação em cadeia pela polimerase (PCR). Mais recentemente, antígenos recombinantes do HTLV-I, -II e gp 21 foram incorporados ao ELISA, melhorando a especificidade e a sensibilidade.

Como alguns pacientes podem desenvolver anticorpos de forma tardia após a infecção, pode ser utilizada a detecção do DNA viral nas amostras. Em pacientes com LLTA, a maioria dos linfócitos apresenta o provírus, que é detectado por técnicas do tipo *Southern Blot*. Em pacientes assintomáticos, apenas uma pequena proporção das células está infectada com o vírus e a detecção por *Southern Blot* é dificultada. Atualmente, a técnica mais utilizada na detecção do DNA proviral é a PCR, utilizada de forma direta em amostras de sangue ou outros tecidos. A amplificação por PCR é também o melhor método para diferenciar infecções pelos HTLVs 1 e 2, que é mais difícil por técnicas sorológicas.

Estudos de variabilidade molecular dos genomas completos de HTLV-1 indicam que os isolados têm pouca variabilidade em seu genoma (0,5 a 3%). Apesar dos genomas conservados, o HTLV-1 é classificado filogeneticamente em três linhagens: Melanésia, África Central e Cosmopolita. Estudos demonstraram que a maioria dos pacientes de São Paulo pertence ao tipo Cosmopolita, apesar de outros subtipos também estarem presentes nessa população.

A análise molecular dos isolados de HTLV-II mostra a existência de quatro subtipos IIa, IIb, IIc, and IId. No Brasil, o HTLV tipos I e II co-circulam e apresentam aproximadamente 65% de homologia, o que resulta em alta reatividade cruzada em testes sorológicos; foram identificados os subtipos IIa e IIb.

3.7.4 Principais medidas de controle

A leucemia de linfócitos T do adulto (LLTA) é uma doença altamente maligna e a sobrevivência média é medida em meses. Como apenas 1% dos indivíduos infectados progride da forma assintomática para a doença, os casos assintomáticos não devem ser tratados e o tratamento é reservado para formas agudas e subagudas da LLTA. Já foi relatado o uso de medicações de ação antiviral, imunomodulatória e imunossupressora, como deoxicofurcina, clorodeoxiadenosina, alfa-interferon, alfa-interferon e zidovudine em com-

binação com alfa-interferon, mas a maioria dos estudos foi feita de forma não controlada e não existe um tratamento de escolha.

A melhor forma de prevenção das infecções pelo HTLV é o controle de sangue e produtos de sangue, a prevenção da transmissão sexual com uso de preservativo e a educação de usuários de drogas injetáveis.

Pessoas infectadas com HTLV-I são aconselhadas a dividir essa informação com o seu médico ou dentista; não doar sangue, leite materno, sêmen, órgãos do corpo ou outros tecidos; não compartilhar agulhas ou seringas com outras pessoas; não amamentar as crianças e a considerar o uso de preservativos de látex para prevenir a transmissão sexual.

Alguns fatores determinam que uma vacina contra o HTLV pode ter sucesso: o vírus tem uma variabilidade antigênica pequena, a imunidade natural ocorre em humanos e vacinas experimentais com antígenos do envelope viral tiveram sucesso em modelos animais, mas até o momento não existem vacinas contra esse vírus.

3.8 Referências Bibliográficas

Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Jawetz Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*, 23th ed. McGraw-Hill Companies, Inc, Stanford, 2004.

Casseb J, Penalva-de-Oliveira AC. *The pathogenesis of tropical spastic paraparesis/human T-cell leukemia type I-associated myelopathy*. *Braz J Med Biol Res*, 33:1395-1401, 2000.

King, A.M.Q., Lefkowitz, E., Adams. M.J., Carstens, E.B. (eds) *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, San Diego, 2012.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, Skalka AM. *Principles of Virology*. Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses. 2nd ed. ASM Press, Washington DC, 2003.

Knipe, DM, Howley, PM, Griffin, DE, Lamb, RA, Martin, MA et al. *Fields Virology*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007.

Ministério da Saúde. Portal da Saúde. *Tópicos em Saúde: Aids*. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=1443 (acesso 17/04/2007).

Novoa P, Oliveira ACP, Vergara MPP, Duarte AJS, Casseb J. TI: Molecular characterization of human T-cell lymphotropic vírus type 2 (HTLV-II) from people living in urban areas of Sao Paulo city: Evidence of multiple subtypes circulation. *J. Med. Virol.* 79: 182-187, 2007.

Queiroz AT, Mota-Miranda AC, Oliveira T, Moreau DR, Uripia Cde C, Carvalho CM, Galvao-Castro B, Alcantara LC. Re-mapping the molecular features of the human immunodeficiency vírus type 1 and human T-cell lymphotropic vírus type 1 Brazilian sequences using a bioinformatics unit established in Salvador, Bahia, Brazil, to give support to the viral epidemiology studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 102(2):133-9, 2007.

Rácz, ML. Retrovírus. IN Trabulsi, LR & Alterthum, F, eds. *Microbiologia*. 5a ed. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, 2008.

Rácz, ML. Hepatites virais. IN Trabulsi, LR & Alterthum, F, eds. *Microbiologia*. 5a ed. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, 2008.



Capítulo 4: Herpesvírus

Maria Lucia Rácz

4.1 Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde pelos herpesvírus

Os herpesvírus são bastante comuns em nosso meio. Mais de 90% dos adultos já foi infectado por pelo menos um herpesvírus. Cada vez mais, pacientes de hospitais são sujeitos à imunossupressão, por causa de doenças ou terapias e, então, são cada vez mais suscetíveis a infecções relacionadas à assistência à saúde pelos herpesvírus, provenientes de reativação viral ou contaminação hospitalar.

São vários os tipos de doenças causadas por esse grupo de vírus, entre eles o herpes labial, o herpes genital, a varicela (catapora) e o herpes zoster (cobreiro), a mononucleose infecciosa e outras.

A maioria das infecções relacionadas à assistência à saúde pelos herpesvírus são de origem endógena, isto é, são causadas por vírus latentes do próprio paciente. As infecções relacionadas à assistência à saúde de origem exógena geralmente são transmitidas pelos profissionais de saúde ou outras pessoas que entrem em contato com o paciente.

Os herpesvírus podem afetar hospedeiros imunocompetentes e imunocomprometidos nos ambulatórios e clínicas hospitalares. O vírus herpes simples tipo 1, por exemplo, pode ser de aquisição nosocomial, por exemplo, em profissionais de enfermarias respiratórias, durante sucção de pacientes entubados colonizados pelos vírus e excretando herpesvírus nas secreções orofaríngeas, e normalmente é manifestado pela paroníquia herpética. Os vírus podem ainda ser transmitidos através de fômites – superfícies porosas e não porosas ou objetos que podem ser contaminados com micro-organismos patogênicos e servir como veículos na transmissão (aparelhos de sucção, broncoscópios, etc). O citomegalovírus e o herpes simples podem causar

pneumonias em pacientes de hospital. As infecções com risco de vida são mais frequentemente associadas ao citomegalovírus.

4.2 Características gerais dos herpesvírus

Os herpesvírus pertencem à família *Herpesviridae*, que compreende três subfamílias *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*. Os vírus que causam doenças em humanos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Vírus da família *Herpesviridae* que causam doenças em humanos

Subfamília	Gênero	Vírus
<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Simplexvirus</i>	Herpes simples tipos 1 e 2 (HHV-1, HHV-2)
	<i>Varicellovirus</i>	Vírus da varicela-zoster (HHV-3)
<i>Betaherpesvirinae</i>	<i>Cytomegalovirus</i>	Citomegalovírus (HHV-5)
	<i>Roseolovirus</i>	Vírus do exantema súbito (HHV-6, HHV-7)
<i>Gammaherpesvirinae</i>	<i>Lymphocryptovirus</i>	Vírus Epstein-Barr (HHV-4)
	<i>Rhadinovirus</i>	Vírus do sarcoma de Kaposi(HHV-8)

Os virions têm estruturas complexas e são esféricos. A partícula viral compreende o core, o capsídeo, o tegumento e o envelope. O core consiste do genoma viral, uma fita única de dsDNA, de 175 a 240 kbp, empacotado em um capsídeo pré-formado, que é preenchido por um líquido cristalino. Nos herpesvírus humanos do tipo 1 o capsídeo apresenta um diâmetro de 125 nm, composto por 12 pentâmeros e 150 hexâmeros. A estrutura do tegumento, que contém inúmeras proteínas, não é bem definida, mas existe uma evidência de simetria nas proximidades do capsídeo. O envelope viral é uma bicamada lipídica, contendo 10 ou mais glicoproteínas, e é intimamente associado com a superfície externa do tegumento. O tamanho da partícula viral pode variar de 120 a 260 nm, dependendo da espessura de tegumento. O genoma dos herpesvírus pode codificar para 70 a 200 proteínas. A composição proteica das partículas virais é variável, dependendo da espécie viral. O HHV-1, o herpesvírus mais estudado, contém mais de 30 polipeptídeos.

Mais de 200 herpesvírus já foram identificados em diferentes espécies animais, como bovinos, símios, caninos, caprinos, ovinos, equinos e outros mamíferos, e também em aves, anfíbios, peixes e invertebrados. Na espécie humana, oito herpesvírus são reconhecidos como patogênicos (Tabela 1).

4.3 Herpesvírus humanos tipos 1 e 2 (HHV-1, HHV-2)

4.3.1 Agente

O vírus do herpes simples é classificado nas espécies *Human herpesvirus 1* (HHV-1) e *Human herpesvirus 2* (HHV-2), de humanos. Os vírus também são denominados herpes simplex 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2).

4.3.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

A transmissão do HSV depende de contato íntimo e pessoal entre um indivíduo suscetível e um indivíduo excretando vírus. O vírus deve entrar em contato com as superfícies mucosas ou pele não íntegra, para que a infecção seja iniciada. Após a infecção da orofaringe, causada pelos HSV-1, o gânglio trigêmeo fica colonizado e abriga os vírus latentes. A aquisição da infecção pelo HSV-2 é consequência da transmissão por contato sexual. Os vírus replicam na pele da região genital, perigenital ou anal, colonizando o gânglio sacro. Após a infecção primária, os vírus migram pelos axônios até os gânglios sensitivos regionais, onde permanecem em latência, em equilíbrio com a célula hospedeira.

Para indivíduos suscetíveis, a primeira exposição ao HSV resulta em infecção primária, cuja epidemiologia é distinta da infecção recorrente. Um reaparecimento do HSV, ou infecção recorrente, resulta em um número limitado de lesões vesiculares nos lábios ou nos genitais. O herpes simples também apresenta duas propriedades biológicas importantes, que influenciam a doença humana: a neurovirulência, ou capacidade do vírus invadir e replicar no sistema nervoso central, e a latência, que normalmente ocorre nos neurônios sensoriais.

Os sintomas clínicos da infecção primária pelo HSV-1 podem variar desde infecções inaparentes até infecções com combinações dos seguintes sintomas: febre, lesões vesiculares e ulcerativas, gengivoestomatite, edema, linfadenopatia localizada, anorexia e mal-estar. O período de incubação é de 2 a 12 dias, com média de 4 dias. A duração da doença clínica pode ser de duas a três semanas. Se a primo-infecção ocorrer mais tardiamente, é comum a faringite herpética, associada a doença semelhante à mononucleose. As lesões orolabiais recorrentes apresentam-se com sintomas prodrômicos de dor, queimação, coceira ou formigamento, que ocorre por aproximadamente seis horas antes do aparecimento das lesões. As vesículas persistem por aproximadamente 48 horas, progredindo para pústula e crosta em 72 a 96 horas. A cura total ocorre em 8 a 10 dias. Os fatores para a recorrência podem incluir febre, estresse, imunossupressão e exposição à luz ultravioleta.

A infecção primária ocorre frequentemente em crianças menores de cinco anos de idade e é, na maior parte das vezes, assintomática; a infecção primária é rara em crianças de menos de seis meses de idade, pois os anticorpos maternos conferem proteção. Pode ainda ocorrer a gengivoestomatite herpética.

O maior reservatório de HSV-1 são as infecções latentes, que são reativadas, dando origem ao herpes labial. A infecção recorrente pode ser assintomática em 1% das crianças e 1 a 5% dos adultos com infecção latente.

O herpes genital pode ser causado pelos HSV-1 e HSV-2, sendo mais comum o HSV-2. A infecção pelo HSV-2 é em geral adquirida por contato sexual. A infecção genital pelo HSV-1 é frequentemente menos severa e menos propensa a recorrência.

A infecção primária pelo herpes genital apresenta características clínicas mais severas. Máculas, pápulas, seguidas por vesículas, pústulas e úlceras são frequentes na mucosa infectada. A infecção primária é associada a grande quantidade de replicação viral e a período de excreção que pode durar três semanas. A severidade da infecção primária e sua associação com complicações são estatisticamente maiores em mulheres do que em homens, por razões desconhecidas. Em mulheres com infecção primária, as lesões aparecem de forma bilateral na vulva, com envolvimento cervical. As lesões são muito dolorosas e são associadas a adenopatia inguinal, e podem envolver a vulva, períneo, nádegas, cérvix e a vagina. As complicações são a meningite asséptica, que ocorre em aproximadamente 25% dos casos. No homem, a infecção primária é associada a lesões vesiculares, na glândula ou no corpo do pênis. A preexistência de anticorpos contra o HSV-1 parece ter um efeito na severidade da doença primária do HSV-2, mas não previne a infecção. O herpes genital recorrente é a forma mais leve da doença. Um número limitado de lesões aparece no corpo do pênis ou na vulva, durando aproximadamente 7 a 10 dias. Nas recorrências, o vírus é excretado por 2 a 5 dias e em concentrações menores que na infecção primária. Quanto mais severa a infecção primária, maior a probabilidade de ocorrência de reativações, tanto sintomáticas quanto assintomáticas. Quanto à frequência de recorrência do herpes genital, aproximadamente 90% dos pacientes infectados apresentam uma ou mais recorrências/ano. As mulheres são mais suscetíveis à infecção que os homens e em 70% dos casos, a transmissão ocorre através de um indivíduo assintomático. A infecção pelo HSV-2, por ser ulcerativa, é associada ao risco aumentado de infecção pelo HIV e pelo HTLV.

A infecção genital de mulheres grávidas pode ter como consequência graves riscos para o feto e o recém-nascido. Fatores associados com a gravidez podem aumentar o risco de infecções graves tanto para mãe como para o feto. Se a mãe adquirir a infecção primária genital antes de 20 semanas de gestação, pode abortar e se essa for adquirida durante o último trimestre da gestação, a transmissão para o feto pode acontecer em 30 a 50% dos casos. A infecção recorrente é associada a um risco de transmissão de 3% ou menor. A infecção do recém-nascido pode ocorrer no útero, durante o parto ou pode ser pós-natal. A infecção no útero ocorre como consequência de infecção transplacentária ou infecção ascendente. A forma mais comum de infecção, que ocorre em 75 a 80% dos casos de herpes neonatal é o contato do recém-nascido durante o parto, com secreções maternas infectadas. A infecção pós-natal ocorre em 10% dos casos; parentes ou funcionários hospitalares com herpes orolabial podem atuar como reservatório para a infecção de recém-nascidos. A infecção neonatal é em geral sintomática e letal. Pode ocorrer doença localizada da pele, olhos, ou boca, encefalite com ou sem envolvimento da pele e infecção disseminada, atingindo vários órgãos, incluindo o sistema nervoso central, pulmão, fígado, adrenais, pele, olhos e boca. A infecção intrauterina pode levar à microcefalia ou hidrocefalia e a ceratoconjuntivite também é característica. A infecção disseminada leva aos piores prognósticos. Os sinais e sintomas incluem irritabilidade, convulsões, dificuldade respiratória, icterícia, choque e, frequentemente, exantemas vesiculares, que são patognomônicos da infecção. Aproximadamente 75% dos casos de infecção disseminada apresenta encefalite. A mortalidade excede 80% e os sobreviventes em geral, apresentam retardo psicomotor, microcefalia, coriorretinite, cegueira ou deficiências de aprendizado.

A ceratoconjuntivite viral causada pelo HSV-1 pode ocorrer a qualquer momento após o nascimento. A infecção ocular pelo HSV-1 pode ser associada a conjuntivite unilateral ou bilateral, fotofobia, lacrimejamento, edema da pálpebra, e lesões dendríticas características, que pode levar à ulceração da córnea. A doença pode durar um mês, mesmo com tratamento com antivirais.

O HSV pode ainda causar eczema herpético ou infecções nos dedos (paroníquia herpética), que são particularmente problemáticas para os profissionais de saúde, e infecções do sistema nervoso central, como encefalite herpética ou meningite asséptica.

Pacientes imunocomprometidos, por imunossupressão ou doenças como o HIV apresentam risco maior de infecções severas pelo HSV.

4.3.3 Diagnóstico laboratorial

O isolamento do vírus continua sendo o método de diagnóstico definitivo, mas a detecção molecular do DNA viral, através da reação em cadeia pela polimerase (PCR) tem sido bastante utilizada.

Se as lesões na pele estiverem presentes, as vesículas devem ser raspadas e transferidas para os meios apropriados de transporte viral. O material deve ser conservado em gelo, para inoculação nas culturas celulares apropriadas para demonstração do efeito citopático, que aparece em 24 a 48 horas após a inoculação.

O vírus pode ainda ser isolado de outros materiais, como fezes, urina, material de nasofaringe e conjuntiva. Os resultados das culturas virológicas devem ser avaliados juntamente com os dados clínicos para definir a extensão da doença em recém-nascidos e imunossuprimidos.

Na ausência de facilidades para o isolamento de vírus, o exame citológico das células do cérvix materno ou da pele, boca ou conjuntiva da criança pode ser utilizada em um diagnóstico presuntivo. Esses métodos têm sensibilidade de 60 a 70% e portanto, não devem ser utilizados como único método de diagnóstico no herpes neonatal. Deve ser obtido um esfregaço do material celular que deve ser imediatamente fixado em etanol refrigerado. A lâmina deve ser corada pelos métodos de Papanicolau, Giemsa ou Wright e observada ao microscópio para a detecção de inclusões intranucleares ou células gigantes multinucleadas.

O diagnóstico sorológico pode ser útil no diagnóstico de gestantes com infecção primária. Os testes mais utilizados são a fixação do complemento, hemaglutinação passiva, neutralização, imunofluorescência, e ensaio imunoenzimático do tipo ELISA. Existem no mercado atualmente testes comerciais capazes de diferenciar os tipos de HSV.

A experiência com a PCR indica que esse teste é útil para o diagnóstico de encefalite herpética e de lesões na pele e mucosas, tanto orolabiais quanto genitais. A sensibilidade do método é de 95% e a especificidade, 100%. Resultados falso-negativos podem ocorrer pela presença de hemoglobina ou inibidores no material testado.

4.3.4 Principais medidas de controle

Têm sido utilizados vários antivirais no tratamento do herpes simples. Uma das drogas antivirais mais utilizadas em casos de infecção por herpes simplex é o aciclovir (ACV), análogo da deoxiguanosina, que consiste de uma

guanidina ligada a uma molécula acíclica semelhante ao açúcar, disponível comercialmente sob forma de pomada, comprimido ou injetável. A ação antiviral é baseada na sua fosforilação inicial pela timidina quinase viral, codificada pelo herpesvírus e, após mais duas fosforilações pelas quinases celulares, o composto trifosfatado causa inibição da DNA polimerase viral. O aciclovir é fosforilado pela timidina quinase do herpesvírus com eficiência 200 vezes maior que pelas quinases celulares. Quando o aciclovir é incorporado à cadeia de DNA, a síntese do mesmo é terminada. Um éster do aciclovir, o valaciclovir, tem maior biodisponibilidade oral e, uma vez ingerido, é rapidamente convertido em aciclovir, e é efetivo no tratamento por via oral.

O aparecimento de resistência ao aciclovir e seus derivados é, na maioria das vezes, devido a mutações na timidina quinase viral. Nesse caso, podem ser utilizados outros antivirais com mecanismo de ação diferente, como o foscarnet e o cidofovir.

Existem diversas maneiras de prevenir a infecção pelos HSV. A quimioterapia antiviral de gestantes é eficiente na prevenção de herpes neonatal. A educação também tem papel importante, especialmente na prevenção do herpes genital, pela utilização de preservativos.

A vacinação é o método ideal de prevenção das infecções virais. As infecções por herpesvírus apresentam um problema sério para esse tipo de prevenção, pela existência de infecções recorrentes na presença de imunidade humoral. As vacinas em desenvolvimento utilizam a aplicação de técnicas moleculares para preparação de antígenos, como a produção de proteínas virais recombinantes, de vírus atenuados por deleções no DNA e de vírus recombinantes.

4.4 Vírus da varicela-zoster (HHV-3)

4.4.1 Agente

O agente etiológico da varicela (catapora) e do herpes-zoster é o vírus da espécie *Human herpesvirus 3* do gênero *Varicellovirus*. Existe um só tipo sorológico do vírus de varicela-zoster (VZV).

4.4.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

A infecção primária pelo VZV é iniciada pela inalação de gotículas respiratórias ou pelo contato com fluídos vesiculares infectados. O VZV difere dos demais herpesvírus pois sua disseminação é respiratória, possibilitando o contágio pelo ar. Após a transmissão e um período de incubação de 10 a 21 dias, o vírus é disseminado para os linfonodos regionais resultando na viremia

primária, e infectando as células do sistema reticulo-endotelial, seguido pela viremia secundária, resultando na infecção de células epiteliais da pele. O vírus apresenta tropismo para as células T, células epiteliais cutâneas e células da raiz do gânglio dorsal. Na varicela, as células da epiderme tornam-se os locais principais da replicação viral. As lesões são iniciadas pela vasculite do endotélio dos pequenos vasos sanguíneos, enquanto a presença de células epiteliais aumentadas de tamanho, multinucleadas com inclusões eosinófilas intranucleares é típica do segundo estágio das lesões, o maculo-papular. As lesões evoluem para vesículas, e depois para ulcerações e necrose da derme. Os virions podem ser detectados nos queratinócitos e no fluido vesicular. Na ausência de controle pela resposta imune do hospedeiro infectado, o VZV produz infecção disseminada que pode envolver os pulmões, provocando pneumonia viral, fígado, causando hepatite, sistema nervoso central, em geral causando meningoencefalite, e outros órgãos.

Os sintomas de febre, mal-estar, cefaleia, e dor abdominal frequentemente ocorrem por 24 a 48 horas antes do aparecimento do exantema. Febre, irritabilidade, letargia e anorexia permanecem por 24 a 72 horas após aparecimento do exantema. O exantema se inicia na face ou tronco. As lesões cutâneas consistem em máculas que evoluem rapidamente para vesículas, que geram um prurido intenso. Após 24 a 48 horas, o fluido vesicular torna-se turvo e as crostas aparecem. Lesões de membranas mucosas da orofaringe, conjuntiva e vagina são comuns. As lesões novas aparecem durante 3 a 6 dias e a varicela subclínica é muito rara.

A latência do VZV é estabelecida durante a infecção primária. O vírus atinge os tecidos nervosos por via hematogênica ou por transporte neural. O vírus estabelece latência nos gânglios dorsais. A persistência do VZV difere dos demais herpesvírus humanos pois não existem episódios frequentes de reativação assintomática. A reativação apresenta-se tipicamente como herpes-zoster, um exantema vesicular em geral confinado à distribuição de um ou mais nervos sensoriais. As lesões na pele são semelhantes à varicela e são precedidas por dor e prurido. A cura demora em geral duas semanas, podendo acontecer em até quatro a seis semanas. Pode ainda acontecer a neuralgia pós-herpética, caracterizada pela hipersensibilidade da pele ao toque e a mudanças de temperatura, persistindo por vários meses.

Em indivíduos imunocomprometidos, o exantema é em geral mais extenso, e a replicação cutânea é acompanhada por viremia. Novas lesões aparecem por até sete dias.

A reinfecção por VZV parece ocorrer raramente.

4.4.3 Diagnóstico laboratorial

Historicamente, o diagnóstico diferencial mais importante para a varicela é a varíola ou a vacínia generalizada após a vacinação contra varíola. A varíola foi extinta do mundo, mas sua possível reaparição, através de ataques terroristas, levou ao aumento da importância desse diagnóstico diferencial.

Na maioria das infecções pelo VZV, o diagnóstico laboratorial não é necessário, mas as técnicas de diagnóstico rápido são úteis para decidir sobre o tratamento com antivirais, especialmente em pacientes de alto risco.

O diagnóstico é feito pela detecção direta de vírus, por cultivo, detecção de antígenos ou de ácido nucleico viral. O vírus pode ser isolado durante a infecção primária ou durante a reativação, mas os títulos são mais altos durante a infecção primária. O VZV é mais difícil de cultivar que o HSV. O vírus cresce em culturas de fibroblastos humanos ou células de rim de macaco e requer 4 a 8 dias para tornar-se detectável. O método de *shell-vial* pode aumentar a sensibilidade do isolamento e permite uma identificação de amostras em um a três dias.

O diagnóstico rápido pode ser feito por imunofluorescência, utilizando células da base das lesões em lâminas de microscópio. O material é seco ao ar, fixado com acetona e os anticorpos monoclonais marcados com fluoresceína são adicionados.

Alguns laboratórios utilizam a reação em cadeia pela polimerase (PCR), comum ou em tempo real, para detectar o VZV. Essa técnica deve tornar-se o método de preferência, pois é rápida e altamente sensível.

A sorologia às vezes é útil quando amostras adequadas não são obtidas para cultivo a detecção de antígeno. A detecção de soroconversão (aumento de título de pelo menos quatro vezes entre o soro das fases aguda e convalescente) é a melhor evidência sorológica, mas a detecção de anticorpos IgM específicos também confirma a infecção recente. Esse tipo de anticorpo pode estar presente tanto na infecção primária quanto no herpes-zoster. A sorologia pode ser feita por imunofluorescência, ensaio imunoenzimático, e reação de aglutinação do látex.

4.4.4 Principais medidas de controle

O aciclovir e drogas relacionadas são eficientes no tratamento das infecções pelo vírus varicela-zoster. O vírus também possui uma timidina quinase capaz de fosforilar o aciclovir e o penciclovir. As infecções por vírus resistentes podem ser tratadas com o foscarnet, análogo do pirofosfato. O cidofovir,

um novo nucleosídeo acíclico, também possui atividade antiviral contra as amostras de VZV resistentes ao aciclovir. Dois tipos de pró-drogas, o valaciclovir, que é metabolizado para aciclovir e o famciclovir, que é convertido para penciclovir, são úteis no tratamento, por via oral, do herpes-zoster, pois são melhor absorvidos pelo trato gastrointestinal do que o aciclovir e o penciclovir.

A terapia com aciclovir diminui a severidade clínica da varicela em crianças imunocomprometidas e também diminui a doença cutânea, reduzindo o risco de infecções bacterianas secundárias. O aciclovir oral pode diminuir os sintomas de varicela em crianças saudáveis, adolescentes e adultos se administrado até 24 horas após o aparecimento das lesões.

O aciclovir é eficiente contra o herpes-zoster recorrente tanto em indivíduos saudáveis como em imunocomprometidos, por causa do risco de infecção disseminada. O medicamento pode reduzir a dor neuropática, mas não tem efeito na neuralgia pós-herpética, sugerindo que os dois tipos de dor apresentam mecanismos diferentes.

A prevenção da transmissão do vírus varicela-zoster é, na maioria das vezes, difícil, pois os pacientes são infecciosos por 24 a 48 horas antes do início dos sintomas. O tratamento de pacientes com varicela em hospitais deve ser feito em isolamento, em salas com filtração de ar.

A imunoglobulina humana antivaricela-zoster pode ser obtida do soro de humanos com altos títulos de anticorpos. A profilaxia com anticorpos é recomendada para imunização passiva de indivíduos com alto risco de doença séria, expostos a pessoas com varicela ou herpes-zoster. A imunoglobulina deve ser ministrada preferencialmente até 48 horas após a exposição e não elimina a possibilidade de infecção primária. A profilaxia com anticorpos não reduz o risco de reativação em populações de alto risco e não altera a severidade da varicela ou herpes-zoster.

A vacina atenuada contra a varicela é a primeira vacina contra um herpesvírus humano e está licenciada para uso clínico em vários países. O vírus vacinal Oka é derivado de um isolado clínico, atenuado por diversas passagens em culturas celulares. Nos Estados Unidos, é recomendada como vacina de rotina na infância e para a imunização de crianças maiores e adultos suscetíveis. A vacina é imunogênica quando administrada juntamente com a vacina tríplice viral, contra sarampo, caxumba e rubéola.

No Brasil, tanto a imunoglobulina anti-varicela zoster quanto a vacina fazem parte dos imunobiológicos de uso especial nos Centros de Referência do Ministério da Saúde. A vacina é indicada nos seguintes casos: imunocomprometidos, nas indicações da literatura: leucemia linfocítica aguda e tumores sólidos em remissão (pelo menos 12 meses), desde que apresentem 1200 linfócitos/mm³, sem radioterapia; caso estejam em quimioterapia, suspendê-la sete dias antes e sete dias depois da vacinação; profissionais de saúde, pessoas e familiares suscetíveis à doença e imunocompetentes que estejam em convívio domiciliar ou hospitalar com pacientes imunocomprometidos; pessoas suscetíveis à doença que serão submetidas a transplante de órgãos (fígado, rins, coração, pulmão e outros órgãos sólidos), pelo menos três semanas antes do ato cirúrgico; pessoas suscetíveis à doença e imunocompetentes, no momento da internação em enfermaria onde haja caso de varicela; vacinação antes da quimioterapia, em protocolos de pesquisa.

4.5 Vírus Epstein-Barr (HHV-4)

4.5.1 Agente

O vírus Epstein-Barr (EBV) faz parte da espécie *Human herpesvirus 4* do gênero *Lymphocryptovirus*. É conhecido também como herpesvírus humano tipo 4 e é o agente etiológico da mononucleose infecciosa.

4.5.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

O vírus Epstein-Barr apresenta duas características relacionadas ao hospedeiro humano. O vírus é disseminado na espécie humana e mais de 90% dos adultos apresentam anticorpos para o antígeno viral do capsídeo. O vírus persiste para a vida inteira no hospedeiro imune e pode ser recuperado *in vitro* a partir de linfócitos circulantes e lavagens faríngeas do indivíduo soropositivo.

O vírus é disseminado por contato oral, estabelece focos de replicação na orofaringe, possivelmente envolvendo o epitélio da língua ou o epitélio oral, e a infecção é facilitada pela ligação inicial do vírus a células B adjacentes. Ao mesmo tempo, o vírus coloniza o sistema de células B, tornando-se latente.

Pelo menos 25% das infecções confirmadas pela sorologia em adolescentes e adultos apresentam um quadro de mononucleose infecciosa. Os sintomas podem variar de febre baixa até várias semanas de faringite e mal-estar geral. Após o pico dos sintomas de mononucleose, o número de células B positivas para EBV e a carga viral nas células mononucleares do sangue periférico diminui nas duas a três semanas seguintes, mas os níveis de excreção pela

garganta permanecem elevados por muitos meses. Após a resolução da infecção primária, as células B de memória formam um reservatório de células em latência, evadindo o sistema imune; nos portadores assintomáticos essas células positivas para EBV, que permanecem em latência, quando recebem um sinal de diferenciação, podem ativar a replicação viral lítica. Assim, os portadores continuam a secretar baixos níveis de vírus infeccioso, que podem ser detectados em lavados de garganta e em saliva, apesar de apresentarem anticorpos específicos.

Atualmente, esses agentes estão também associados a outras doenças: doença linfoproliferativa pós-transplante, linfomas de células B em pacientes com Aids, tumores do músculo liso, a leucoplasia pilosa oral, carcinoma de nasofaringe, carcinoma gástrico, linfoma de Burkitt, linfoma de Hodgkin e leiomioma.

O linfoma de Burkitt (BL) é o câncer infantil mais comum na África Equatorial, apresentando-se em locais não usuais, como a mandíbula, a órbita ocular ou os ovários. Todas as células dos tumores abrigam um EBV epissômico monoclonal. A associação do EBV com linfomas de Burkitt esporádicos, que ocorrem em outras partes do mundo, inclusive na América do Sul, é menos consistente. Uma terceira forma de linfoma de Burkitt emergiu após a epidemia de Aids, e é denominado Aids-BL, causando aproximadamente 30% dos casos de linfomas em pacientes com Aids. Nesse caso, 30 a 40% das células tumorais são positivas para EBV.

O EBV tem sido ainda encontrado nos linfomas de Hodgkin e a evidência de que esse vírus pode ser a causa desse tipo de linfoma é forte, mas circunstancial. O EBV também é encontrado em células do carcinoma de nasofaringe.

A associação do EBV com a síndrome da fadiga crônica não foi comprovada e atualmente encontra-se descartada.

Em pacientes submetidos a transplantes e a terapia imunossupressora, pode ocorrer a doença linfoproliferativa associada ao EBV, em geral até um ano após o transplante. Pacientes infectados com HIV também apresentam alto risco de desenvolvimento de linfomas de células B, associados, em 50% dos casos, ao EBV.

4.5.3 Diagnóstico laboratorial

O cultivo do EBV pode ser obtido por inoculação em culturas em suspensão de linfócitos do cordão umbilical. A evidência para presença do EBV é a imortalização das células e a demonstração de antígenos nas células imorta-

lizadas. Esse procedimento não é prático para a maioria dos laboratórios de diagnóstico, que utilizam principalmente os testes sorológicos.

A maioria dos casos de mononucleose pode ser diagnosticada com base na presença de linfócitos atípicos no sangue periférico e com presença de anticorpos heterófilos, anticorpos da classe IgM que aglutinam eritrócitos de carneiros, bois e cavalos.

A sorologia específica para EBV consiste em testes que medem os anticorpos para antígenos do capsídeo viral (VCA – do inglês *viral capsid antigen*), antígenos precoces (EA – do inglês *early antigens*) ou antígenos nucleares (NA – do inglês *nuclear antigens*). Os testes, originalmente baseados na imunofluorescência, estão cada vez mais sendo substituídos pelos ensaios imunoenzimáticos com proteínas recombinantes ou antígenos sintéticos. A detecção do anticorpo da classe IgM contra o VCA é útil para definir a infecção aguda, pois esse é detectável no início do aparecimento dos sintomas e permanece apenas por alguns meses. O anticorpo anti-VCA do tipo IgG pode ser utilizado para determinar o estado imune do paciente. Os anticorpos anti-EA aparecem em poucas semanas mas não são detectados em todos os pacientes. Os anticorpos anti-NA aparecem mais tardiamente e permanecem por toda a vida.

Em pacientes com Aids, com suspeita de linfoma, a reação em cadeia pela polimerase (PCR) é útil para detectar o DNA viral no líquido cefalorraquidiano. O diagnóstico da doença linfoproliferativa pós-transplante é confirmado pela demonstração de antígenos ou ácido nucleico do EBV em amostras obtidas por biópsia de tecidos linfóides. Devem ser utilizadas técnicas quantitativas, pois muitas vezes o DNA do EBV é detectado no sangue periférico de transplantados, sem significar a doença linfoproliferativa. Os pacientes com alta carga viral são os que apresentam a doença ou têm maior probabilidade de desenvolvê-la. Os testes sorológicos não são adequados para esse diagnóstico.

4.5.4 Principais medidas de controle

O amplo espectro de doenças causadas pelo EBV enfatiza a importância do desenvolvimento de vacinas profiláticas ou de estratégias terapêuticas que tenham como alvo as lesões positivas para o vírus.

Vacinas têm sido desenvolvidas com base na glicoproteína gp350 do envelope viral, mas a conclusão, através de modelos animais, é que os anticorpos neutralizantes e imunidade mediada por células contra um único compo-

nente do envelope não parecem ser eficientes para imunizar os indivíduos contra agentes transmitidos por via oral, como o EBV.

Vacinas terapêuticas, para aumentar a resposta de células T em pacientes com tumores associados ao EBV, têm como alvo os antígenos virais expressos no tumor. Na maioria das vacinas testadas foram utilizados vetores virais recombinantes, como vacínia e adenovírus, expressando proteínas do EBV.

4.6 Citomegalovírus (HHV-5)

4.6.1 Agente

O citomegalovírus humano (HCMV) pertence à espécie *Human herpesvirus 5* do gênero *Citomegalovirus*. O genoma desse vírus é composto de 241 kbp, com capacidade de codificar pelo menos 166 proteínas. À microscopia eletrônica, o vírus é maior que os demais herpesvírus, e mede de 200 a 300 nm, com um envelope mais irregular. As células infectadas aumentam de tamanho, por isso o nome cito (célula) megaló (grande). Os vírus replicam-se de forma lenta em culturas celulares e permanecem associados à célula. Os citomegalovírus são espécie-específicos.

4.6.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

O HCMV é o único herpesvírus humano que apresenta transmissão intraplacentária natural. Essa transmissão pode ocorrer com maior frequência durante a infecção primária. O vírus é transmitido através de contato direto com secreções infectadas. A saliva é uma fonte comum de infecção de adultos e a excreção persistente na urina é importante fonte de transmissão entre crianças e de crianças para adultos. O leite materno também transmite o CMV, bem como as secreções cervicais e seminais, consideradas fontes de vírus na transmissão sexual.

A resposta imune ao citomegalovírus é de grande amplitude, durável, mas não previne a reinfecção.

O HCMV é o clássico agente de infecção oportunista, onde a infecção primária ou a reativação geram doença na ausência de imunidade suficiente. A doença ocorre em indivíduos com resposta imune deficiente, como pacientes de Aids e transplantados, ou ausente, como na infecção congênita.

A infecção primária, após a transmissão direta, inicia-se tipicamente com a replicação viral no epitélio mucoso na porta de entrada. A fase sistêmica da infecção depende da viremia associada a leucócitos, que pode durar vá-

rios meses. O vírus alcança as glândulas salivares, onde o vírus é excretado e transmitido para outros hospedeiros. O vírus também é excretado em altos títulos na urina, leite materno e secreções genitais. A viremia continua por um longo período de tempo, após o aparecimento da imunidade, durando meses em adultos e anos em crianças pequenas, por causa da resposta imune celular pouco eficiente nessas últimas.

Como em todas as infecções por herpesvírus, a latência do HCMV é mantida em todos os indivíduos que sofrem a infecção primária. A propensão do vírus à reativação após imunossupressão ou imunodeficiência é um fator importante nas doenças associadas ao citomegalovírus.

A infecção no hospedeiro imunocompetente é em 90% dos casos subclínica, embora possa apresentar uma doença aguda semelhante à mononucleose em 10% dos indivíduos.

As crianças infectadas de forma congênita, quando sintomáticas, o que ocorre em 5 a 10% dos casos, podem apresentar sintomas não neurológicos, como púrpura, hepatoesplenomegalia, icterícia, anemia hemolítica e pneumonia e sintomas neurológicos, como calcificação intra-cranial, microcefalia, audição deficiente, coriorretinite e convulsões. A doença congênita pode ser severa, levando à hospitalização prolongada e à morte em aproximadamente 10% dos casos, e em 90% dos casos sintomáticos ocorrem sequelas neurológicas, como retardo mental, paralisia cerebral, perda de audição e de visão. Aproximadamente 7 a 25% dos casos de infecções congênitas não sintomáticas levam a sequelas, principalmente perda de audição. A infecção materna durante os primeiros meses de gestação tem maior probabilidade de gerar sequelas. O tipo de infecção materna, primária ou recorrente, também pode ser um determinante importante do resultado. A infecção primária tem maior probabilidade de ocasionar infecção congênita sintomática de maior gravidade, mas alguns autores não associam o tipo de infecção materna com a gravidade da doença congênita.

Em crianças prematuras de baixo peso, a infecção adquirida pelo HCMV, especialmente através de transfusões de sangue ou do leite materno, pode ocasionar uma síndrome clínica com hepatoesplenomegalia, linfocitose atípica, trombocitopenia e deficiência respiratória, semelhante à infecção congênita, mas com menor probabilidade de sequelas.

O HCMV é um dos patógenos oportunistas mais comuns que complicam o cuidado com pacientes imunocomprometidos. A infecção pode ser resultante da reativação do vírus latente, reinfeção do paciente ou infecção primária.

Transfusões ou transplantes de órgão podem transmitir o citomegalovírus e a severidade da infecção é diretamente proporcional ao grau de imunodepressão. As infecções mais severas ocorrem em pacientes de transplantes alogênicos de células-tronco e em pacientes com Aids com baixas contagens de CD4+. A doença também ocorre em pacientes que recebem drogas imunossupressoras para o tratamento de câncer ou doença vascular do colágeno e em imunodeficiências congênitas. A infecção é em geral subclínica e quando ocorre doença a severidade pode variar desde uma doença febril limitada e breve até uma doença em múltiplos sistemas, que pode ser fatal ou debilitante. As doenças mais comuns causadas pelo HCMV são a pneumonite, lesões gastrointestinais, hepatite, retinite, pancreatite, miocardite e, mais raramente, encefalite. A infecção pelo citomegalovírus também aumenta o risco de infecções oportunistas bacterianas ou fúngicas. Em pacientes com Aids, as doenças mais comuns pelo HCMV são a retinite, esofagite e colite. A tratamento da Aids com antivirais reconstitui o sistema imune e diminui a possibilidade de infecção pelo HCMV.

O HCMV é transmitido pelo contato direto com fluidos corporais de pessoas excretando o vírus, e não parece ocorrer por transmissão aérea ou através de aerossóis. Após a aquisição inicial, o vírus infeccioso está presente na urina, saliva, lágrima, sêmen e secreções cervicais por meses ou anos. As formas de exposição mais frequentes são a atividade sexual e o contato com crianças.

Apesar da excreção do citomegalovírus ser comum em pacientes de hospitais, os funcionários dos hospitais não parecem ter o risco aumentado de infecção pelo HCMV. Esse fato sugere que as medidas de controle de infecção adotadas na rotina dos hospitais são efetivas na prevenção de infecções pelo citomegalovírus.

O HCMV é único entre os herpesvírus pelo fato de que a transmissão vertical da mãe para o feto ou recém-nascido é comum e desempenha um papel importante na manutenção da infecção na população. O citomegalovírus é transmitido por três vias: transplacentária, intraparto ou através do leite materno. As infecções congênitas podem ser adquiridas em infecções primárias ou recorrentes. A transmissão durante o parto é devida à excreção local do vírus, na vagina ou cérvix. Se o vírus estiver presente no trato genital materno no momento do parto, a transmissão ocorre em 50% dos casos. A via mais comum de transmissão entre mãe e filho é através do leite materno, devido à presença de vírus. Aproximadamente 25% das crianças amamentadas por mães soropositivas infectam-se até a idade de um ano. Em países com alta prevalência de mães soropositivas que amamentam, 50% das crianças adquirem o HCMV antes de um ano de idade. Crianças pequenas que adquirem

o citomegalovírus da mãe, normalmente excretam o vírus por vários anos e tornam-se importantes fontes de vírus para outras crianças e para adultos.

Através da epidemiologia molecular dos isolados de HCMV, os seguintes fatos foram comprovados laboratorialmente: transmissão vertical de vírus reativados; transmissão do vírus de criança para criança e de crianças para os pais; disseminação do vírus de crianças para funcionários de creches; disseminação nosocomial do vírus em berçários; aquisição do vírus do doador para os pacientes transplantados; reinfeção por vírus diferentes em pacientes imunocomprometidos, em crianças saudáveis, em mulheres sexualmente ativas e em mães de recém-nascidos com infecção congênita. Em alguns casos, os testes moleculares também são capazes de excluir uma determinada fonte de infecção em hospitais.

4.6.3 Diagnóstico laboratorial

As técnicas de cultivo são o padrão, mas estão sendo rapidamente substituídas pelas técnicas de detecção de antígenos ou de ácido nucleico são mais rápidas, mais sensíveis e mais fáceis de quantificar.

Quando necessário, o vírus pode ser cultivado em culturas celulares de fibroblastos humanos e requer sete a 21 dias para exibir o efeito citopático. A técnica de *shell-vial* utilizando imunofluorescência, é importante pois permite um resultado em 24 a 48 horas. A interpretação do cultivo viral requer cuidados, porque o vírus é frequentemente excretado na saliva e urina de indivíduos assintomáticos.

O teste de antigenemia pp65, disponível comercialmente, é utilizado para o diagnóstico rápido de infecção pelo HCMV. Nesse teste, os leucócitos são separados das demais células sanguíneas colocados em lâminas de microscópio e o antígeno é detectado com um anticorpo monoclonal antiproteína pp65, a fosfoproteína da matriz do HCMV. Os resultados são rápidos, a sensibilidade do método é maior que a do cultivo celular, a reação pode ser feita de forma quantitativa e existe uma forte correlação com a presença de infecção clínica significativa.

A detecção do DNA do HCMV pode ser feita através da reação em cadeia pela polimerase (PCR) ou sistemas de captura híbrida disponíveis comercialmente. Os testes são normalmente realizados em amostras de sangue, para o diagnóstico de infecção ativa pelo vírus. A detecção de DNA em amostras de indivíduos soropositivos normais não é comum, e o resultado positivo sugere infecção clinicamente significativa, atual ou no passado recente. Os testes de carga viral são mais fáceis de interpretar do que os testes qualitativos,

e têm se tornado o teste padrão de diagnóstico da infecção ou do resultado do tratamento.

A sorologia tem menor valor diagnóstico, mas é útil na determinação do diagnóstico de infecção em hospedeiros normais, com suspeita de mononucleose. O teste mais frequentemente empregado é o ensaio imunoenzimático do tipo ELISA. Se o teste de anticorpos heterófilos for negativo, assim como os testes de IgM para o vírus Epstein-Barr, deve ser utilizado o teste de IgM para HCMV. A sorologia deve ser ainda empregada em bancos de sangue. A legislação brasileira para bancos de sangue exige que seja efetuada sorologia para CMV em todas as unidades de sangue ou componentes destinados aos seguintes pacientes: (a) submetidos a transplantes de órgãos com sorologia para CMV não reagente; (b) recém-nascidos com peso inferior a 1.200g ao nascer, de mães CMV negativo ou com resultados sorológicos desconhecidos. A realização dessa sorologia não é obrigatória, se for transfundido sangue desleucocitado nesses grupos de pacientes. As bolsas reagentes ao CMV devem ser identificadas como tal.

4.6.4 Principais medidas de controle

Existem quatro antivirais aprovados para tratamento de doenças por citomegalovírus em pacientes imunocomprometidos: ganciclovir (administração intravenosa ou oral), valganciclovir (oral), foscarnet (intravenosa) e cidofovir (intravenosa). As drogas são tóxicas e devem ser utilizadas com cautela. Em pacientes infectados pelo HIV, a profilaxia com ganciclovir é recomendada para adultos, adolescentes e crianças com baixas contagens de linfócitos CD4+.

Existem indicações para o tratamento com antivirais de infecções graves e de infecções congênitas pelo HCMV, mas ainda não foi aprovado nenhum antiviral para essa finalidade.

As drogas antivirais são normalmente utilizadas na medicina dos transplantes, para prevenir e tratar a infecção pelo CMV humano. As dosagens variam de acordo como tipo de transplante.

Mutações no HCMV após tratamento prolongado com antivirais ocorrem, tornando o vírus resistente aos antivirais. A resistência aos antivirais deve ser considerada em pacientes que não respondem ao tratamento.

A prevenção da infecção materna que leva à infecção congênita por citomegalovírus deve ser uma meta importante, mas é difícil de alcançar: a infecção na comunidade é muito comum e, na maior parte das vezes, silenciosa, e re-

sulta na excreção do vírus por meses ou anos. Na maioria dos países, o teste de HCMV não faz parte dos procedimentos de rotina em gestantes.

Existem ainda muitas dúvidas sobre a eficiência da imunoglobulina hiperimune, com altos níveis de anticorpos anti-HCMV.

Não existe nenhuma vacina licenciada para a prevenção da infecção por citomegalovírus. Têm sido avaliadas vacinas de vírus atenuados, proteínas recombinantes e vacinas de DNA.

4.7 Herpesvírus humanos tipos 6 e 7 (HHV-6, HHV-7)

4.7.1 Agente

Esses vírus foram inicialmente denominados vírus linfotrópico B humanos, mas posteriormente descobriu-se que esse vírus infectam principalmente células T. Pertencem ao gênero *Roselovirus*, espécies *Human herpesvirus 6* e *Human herpesvirus 7*. Os isolados do HHV-6 são classificados em duas variantes, HHV-6A e HHV-6B. O último é o principal causador do exantema súbito ou *roséola infantum*, também chamada quarta doença. Nenhuma doença foi associada ao HHV-6A. O HHV-7 também causa exantema súbito e tem sido associado com convulsões febris em crianças pequenas.

4.7.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

Os vírus HHV-6 e HHV-7 são muito comuns no mundo e a infecção ocorre durante a infância. Seu modo de transmissão não é ainda bem determinado. Na infância ocorre a transmissão horizontal pessoa-pessoa, através de contato íntimo; a saliva foi sugerida como veículo da transmissão do HHV-6. Esse vírus está presente nas secreções genitais de mulheres grávidas, sugerindo a transmissão ao recém-nascido durante o parto. A transmissão intrauterina também é possível, porque é comum a reativação do vírus durante a gravidez. O HHV-7 pode ser isolado da saliva de adultos saudáveis e pode também ser transmitido por contato próximo no ambiente familiar. As infecções congênitas por HHV-7 não foram detectadas.

O HHV-6 possivelmente inicia a infecção através do trato respiratório, incluindo as tonsilas ricas em linfócitos. Infecta uma variedade de células, tanto *in vitro* (linfócitos B e T do sangue periférico, fibroblastos, megacariócitos, células do glioblastoma, e outras), quanto *in vivo* (células do fígado, sistema nervoso central, glândulas salivares e células endoteliais). O HHV-6 parece estabelecer sua latência em monócitos/macrófagos e células tronco CD34+.

O HHV-7 infecta, *in vivo*, os linfócitos CD4+, o provável local da infecção latente e células epiteliais da glândula salivar, local de infecção produtiva e excreção. Células expressando o antígeno estrutural do HHV-7 foram encontradas nos pulmões, pele e glândulas mamárias e, com frequência reduzida, no fígado, rins e tonsilas.

O exantema súbito é uma doença comum na infância. Os sintomas clássicos incluem febre súbita, que dura alguns dias, seguida imediatamente por uma erupção que inicia-se no tronco e faces e se propaga para os membros, quando a febre cessa. A infecção pode também ser assintomática. Na maioria dos casos, o exantema súbito é uma doença benigna. Em adultos, a infecção primária pode causar uma doença semelhante à mononucleose. O exantema súbito é causado pelo HHV-6B e em menor frequência, pelo HHV-7. Sintomas mais severos podem ocorrer na forma de convulsões febris, em geral autolimitadas e benignas.

A reativação do vírus latente é comum em transplantados e pode ser assintomática ou estar associada a encefalites, supressão da medula óssea, gastro-duodenite, colite, pneumonite e exantemas. O HHV-6 foi também associado a rejeição do transplante renal em pacientes infectados, que não tinham anticorpos antes do transplante. O HHV-6 é considerado um co-fator nas infecções pelo HIV, pois os dois vírus podem infectar células CD4+ e existe a hipótese de que o HHV-6 contribua para a imunodeficiência.

O período de incubação da doença varia de uma a duas semanas. A soroprevalência do HHV-6 diminui em crianças de zero a cinco meses de idade, quando os anticorpos maternos desaparecem e, iniciando aos seis meses de idade, aumenta rapidamente, e a maioria das crianças são positivas aos dois anos de idade. A infecção primária pelo HHV-6 causa aproximadamente 20% de todos os casos de febre aguda em crianças entre 6 a 12 meses de idade e é geralmente causada pelo HHV-6B e não pelo HHV-6A. Não é conhecido o período de soroconversão para a variante 6A, que frequentemente é isolada de adultos, mas essa parece ocorrer depois da aquisição da variante B, sem manifestações clínicas.

A infecção pelo HHV-7 parece ocorrer mais tardiamente, também declina por causa dos anticorpos maternos e aumenta rapidamente até os quatro anos de idade.

A soroprevalência de anticorpos anti-HHV-6 varia de 70 a 100% em diversos países. No Brasil, anticorpos foram detectados em 76.5% dos brasileiros e 77.2 % dos imigrantes japoneses testados.

4.7.3 Diagnóstico laboratorial

O exantema súbito e outros sintomas associados à infecção primária por HHV-6 e HHV-7 são leves e autolimitados e, por isso, o diagnóstico laboratorial não é indicado.

Em caso de complicações neurológicas, esses vírus devem ser incluídos no painel de agentes testados, especialmente se a criança foi vacinada recentemente. A evidência de infecção ativa inclui a detecção do vírus em culturas de células, de antígenos líticos em linfócitos circulantes, de transcritos dos genes do ciclo lítico por RT-PCR, ou de DNA viral em fluidos acelulares como plasma e soro.

O cultivo é feito em linfócitos obtidos do cordão umbilical. Os anticorpos podem ser detectados em crianças com infecção aguda, e a soroconversão confirma o diagnóstico de infecção aguda. A detecção de anticorpos da classe IgM contra os HHV-6 e HHV-7 também pode ser útil. A interpretação dos resultados de testes sorológicos em crianças menores de seis meses pode ser complicada pela presença de anticorpos maternos. As reações sorológicas cruzadas entre os HHV-6 e HHV-7 ocorrem e devem ser consideradas nessa interpretação.

O reação em cadeia pela polimerase (PCR) é o método mais prático de diagnóstico das infecções por HHV-6 e HHV-7, mas deve ser interpretada com cuidado, pois esses vírus podem permanecer no sangue por meses após uma infecção aguda. O DNA dos HHV-6 também foi detectado no líquido céfalo-raquidiano de crianças com infecção aguda, mas o significado desse encontro não foi determinado. Para fazer um diagnóstico de infecção recente, em uma amostra única, devem ser comparados os resultados da PCR e sorologia – resultados positivos pela PCR e negativos pela sorologia são indicativos de infecção primária; PCR quantitativo em sangue total – a infecção aguda pode ser associada a maiores níveis de DNA que a reativação; detecção de HHV-6 por PCR em plasma – pode ser mais comum na infecção primária quando comparada à reativação e PCR em amostras de sangue e saliva: o DNA do HHV-6 presente no sangue e não na saliva pode ser indicativo dos primeiros dias de infecção. Nos adultos imunocomprometidos, a presença de DNA de HHV-6 e HHV-7 normalmente indica reativação. Para detectar infecções clinicamente significantes é importante a detecção de altos níveis na PCR quantitativa ou de DNA viral no plasma. Esses resultados podem ocorrer na ausência de manifestações clínicas aparentes. A Tabela 2 apresenta os resultados esperados nos testes de diagnósticos dos HHV-6 e -7.

Tabela 2 Testes diagnósticos para os Herpesvírus humanos HHV-6 e HHV-7

Tipo de infecção	PCR em sangue total	PCR no plasma	PCR na saliva	HHV-6
Primária, infecção aguda	Positiva, alto nível	Positiva	Negativa	Negativa
Primária, estágio convalescente	Positiva	Negativa	Positiva	Positiva
Reativação	Positiva	Positiva ou negativa	Positiva	Positiva

4.7.4 Principais medidas de controle

O ganciclovir, fosfonoformato (foscarnet) e o cidofovir são inibidores potentes da replicação dos roseolovírus *in vitro*; a aciclovir e outros inibidores dependentes da timidina quinase viral não têm efeito. Não existe nenhum antiviral licenciado para o tratamento das infecções por HHV-6 e HHV-7.

4.8 Herpesvírus associado ao Sarcoma de Kaposi (HHV-8)

4.8.1 Agente

Esses vírus são os herpesvírus mais recentemente descritos e foram inicialmente descobertos com base em sua associação com o sarcoma de Kaposi, um neoplasma endotelial. Pertencem ao gênero *Rhadinovirus*, espécie *Human herpesvirus 8*.

4.8.2 Principais vias de transmissão e características clínicas

O sarcoma de Kaposi (KS) é a principal manifestação da infecção pelo HHV-8, ou herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi (KSHV) e não é um câncer por muitos critérios. Diferentemente de tumores clássicos, que são compostos predominantemente de um único tipo de células, as lesões do KS apresentam muitos tipos celulares, de origem endotelial sendo a principal a célula fusiforme. Existe uma correlação estrita entre a soroprevalência de anticorpos contra o KSHV e o risco de adquirir KS. Apesar da infecção pelo vírus ser necessária, não é suficiente para a doença, e co-fatores são necessários para a tumorigênese. A infecção pelo HIV é um co-fator, mas o mecanismo pelo qual o HIV contribui para o KS não é conhecido. Sem a infecção pelo HIV, co-fatores são necessários, mas ainda não foram determinados. O sarcoma de Kaposi pode ocorrer em muitos tecidos, mas é, na maior parte das vezes, localizado na pele, envolvendo a derme. O comportamento clínico do KS clássico em adultos imunocompetentes é indolente e os indivíduos frequentemente apresentam sobrevivência prolongada, não necessitando de tratamento. Em imunocomprometidos, o KS pode ser muito mais agressivo, com disseminação para estruturas reticulares, trato gastrointestinal e pulmões,

em adição à pele. O envolvimento pulmonar apresenta um prognóstico grave, com morte frequente por falência respiratória.

A apresentação clínica do KS é muito variável, desde doença mínima até um crescimento explosivo resultando em alta mortalidade. As lesões na pele, a manifestação mais frequente do KS, aparecem nos pés, pernas, face, especialmente no nariz, e na genitália. Essas lesões são papulares, e medem de alguns milímetros a centímetros de diâmetro. As lesões podem progredir para lesões similares a placas, afetando a derme e também podem tornar-se tumores ulcerados. A disseminação extracutânea é comum: KS na cavidade oral ocorre em um terço dos pacientes e o envolvimento gastrointestinal é encontrado em 40% dos pacientes. O KS pulmonar também é comum, e apresenta-se com dificuldade respiratória, febre, tosse, hemoptise e dor no peito.

O genoma do KSHV foi também identificado em duas doenças de células B: o linfoma de efusão primário, uma doença maligna clássica, de origem clonal, rara em pacientes terminais de Aids, caracterizada pela proliferação de células B em cavidades serosas (pleura, pericárdio e peritônio) e a doença de Castleman, uma lesão rara, linfoproliferativa, policlonal que ocorre em pacientes HIV-positivos e HIV-negativos. São descritas duas formas clínicas, uma localizada, envolvendo um único nódulo, em pacientes HIV-negativos e não ligadas aos KSHV. A segunda forma clínica, a doença de Castleman multicêntrica é uma doença sistêmica agressiva, caracterizada por febre, suores, perda de peso, linfadenopatia e esplenomegalia, que ocorre em pacientes positivos para o HIV. A raridade das duas doenças tornou difícil a comprovação de suas causas, mas a maioria dos pesquisadores aceita as relações com o KSHV. A infecção pelo KSHV começa, como em todos os herpesvírus, com uma infecção primária do hospedeiro suscetível. A latência é estabelecida, principalmente em células B, das quais a reativação da replicação intermitente pode ocorrer. Todas as doenças clínicas descritas resultam de infecções por um longo tempo, e demoram meses ou anos para aparecer. Na maioria dos indivíduos, o estado de latência é assintomático, caracterizado apenas por anticorpos para proteínas virais. A reativação periódica da replicação viral na orofaringe, com liberação de vírus pela saliva, ocorre com frequência, mas, em geral, sem sintomas clínicos e exerce um papel importante na transmissão do vírus na população.

Algumas infecções são de aquisição vertical, através do contato com pais infectados, mas a maioria é adquirida por transmissão horizontal, geralmente intrafamiliar, durante a infância. Após a puberdade, a soroprevalência continua a aumentar de forma lenta, através da idade adulta, um padrão que su-

gere a transmissão heterossexual ineficiente. O encontro de infecção pré-puberdade de forma extensa indica a transmissão não sexual; por analogia com o vírus Epstein-Barr, a troca de saliva deve ser a forma principal de infecção.

Não foi determinado ainda se o HHV-8 pode ser transmitido através de transfusão de sangue. A transmissibilidade desse vírus por essa via pode ser limitada pela íntima associação do vírus com as células e a baixa frequência de vírus circulante em indivíduos soropositivos assintomáticos.

4.8.3 Diagnóstico laboratorial

A reação em cadeia pela polimerase (PCR) foi desenvolvida para a detecção do HHV-8 em sangue periférico, que é associada à progressão tanto do Sarcoma de Kaposi quanto da doença de Castleman multicêntrica.

Nos testes sorológicos disponíveis para o diagnóstico de HHV-8, a especificidade e/ou sensibilidade são muito variáveis, dependendo do antígeno utilizado e não avaliam a replicação viral ativa. Anticorpos para o antígeno associado à latência (*latency-associated nuclear antigen* – LANA) são altamente específicos para a infecção pelo KSHV, mas são negativos em 20% dos pacientes com infecção confirmada. Teste utilizando antígenos líticos, como a ORF65 e K8.1 são mais sensíveis, mas apresentam alta taxa de resultados falso-positivos. Assim, nenhum teste com antígeno recombinante tem especificidade e/ou sensibilidade para utilização no diagnóstico clínico de rotina.

4.8.4 Principais medidas de controle

Antes da existência de terapia anti-retroviral altamente efetiva (HAART – *highly active antiretroviral therapy*), a prevalência do Sarcoma de Kaposi era 20.000 vezes maior em pacientes com Aids do que na população em geral. As terapias levaram a um declínio substancial na prevalência do KS relacionado à Aids e pacientes em tratamento apresentam menor morbidade e mortalidade, com doença menos agressiva. A situação contrasta com áreas geográficas onde as terapias não são disponíveis, como a África, onde o KS atinge proporções epidêmicas e pacientes tem um tumor de rápida progressão, resultando em expectativa de vida de menos de seis meses.

Os pacientes com KS devem receber terapia antiretroviral, que é associada tanto à redução da incidência quanto à regressão em tamanho e número de lesões existentes. Os efeitos da HAART no KS são multifatoriais e incluem a inibição da replicação do HIV, diminuição da proteína Tat, que transativa o HHV-8, melhora da resposta imune contra o HHV-8 e, possivelmente, atividade anti-angiogênica pela inclusão de inibidores da protease.

Terapias locais (radioterapia, quimioterapia intra-lesão, tratamento com *laser*, tratamento fotodinâmico, e cirurgia para excisão dos tumores) podem ser úteis no tratamento de lesões maciças e localizadas, mas são limitadas pelo fato de não afetarem o desenvolvimento de novas lesões em áreas não tratadas.

A quimioterapia sistêmica é indicada em pacientes com doença avançada e/ou de progressão rápida. Duas antraciclinas de administração lipossomal – doxorubicina peguilada lipossomal e daunorubicina lipossomal e o paclitaxel (um taxano que previne o crescimento de células neoplásicas por inibição da despolimerização dos microtúbulos) são os únicos agentes terapêuticos sistêmicos aprovados para uso no tratamento do KS.

Os tratamentos que têm como alvo o KSHV podem, em teoria, ser efetivos contra o KS, mas nenhum tratamento desse tipo está disponível atualmente, porque as drogas anti-herpesvírus inibem a infecção lítica e não a latente. Essas drogas podem ter um efeito preventivo no desenvolvimento do KS. O risco de desenvolver KS em homens com Aids mostrou uma redução de 46 a 60% em pacientes tratados com ganciclovir e foscarnet para prevenir a retinite por citomegalovírus.

4.9 Referências Bibliográficas

Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Jawetz Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*, 23th ed. McGraw-Hill Companies, Inc, Stanford, 2004.

Di Lorenzo G, Konstantinopoulos PA, Pantanowitz L, Di Trollo R, De Placido S, Dezube BJ. *Management of Aids-related Kaposi's sarcoma*. *Lancet Oncol*. 2007 Feb; 8(2):167-76.

King, A.M.Q., Lefkowitz, E., Adams. M.J., Carstens, E.B. (eds) *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, San Diego, 2012.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, Skalka AM. *Principles of Virology. Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses*. 2nd ed. ASM Press, Washington DC, 2003.

Knipe, DM, Howley, PM, Griffin, DE, Lamb, RA, Martin, MA et al. *Fields Virology*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007.

Linhares, MI, Eizuru Y, Tateno S & Minamishima Y. *Seroprevalence of human herpesvirus 6 infection in Brazilian and Japanese populations in the north-east of Brazil*. *Microbiol. Immunol*. 35:1023-1027, 1991.

Rácz, ML. *Virologia geral*. IN Trabulsi, LR & Alterthum, F, eds. *Microbiologia*. 5a ed. Editora Atheneu. Rio de Janeiro, 2008.



**Acesse o site
da ANVISA**

Baixe o leitor de QR
Code em seu celular e
fotografe este código

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa
SIA Trecho 5 - Área especial 57 - Lote 200
CEP: 71205-050
Brasília - DF
Telefone: 61 3462 6000

www.anvisa.gov.br
www.twitter.com/anvisa_oficial
Anvisa Atende: 0800-642-9782
ouvidoria@anvisa.gov.br