

SEROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS PARA O VÍRUS DA HEPATITE E NA REGIÃO NORTE DE PORTUGAL*

(numa população de dadores)

LUCINDA QUEIRÓS, JORGE CONDEÇO, ALZIRA TENDER, MANUELA MATEUS,
AMÉLIA TEIXEIRA, HERMINIA PASCOAL
Instituto Português de Sangue. Centro Regional do Porto. Porto

RESUMO

Os autores realizaram um estudo de prevalência de anticorpos para o Vírus da Hepatite E em dadores na região Norte de Portugal. O estudo realizado foi transversal, descritivo observacional (complementado por inquérito). Foram estudados 1 473 dadores seleccionados aleatoriamente da população de Dadores do Centro Regional de Sangue do Porto, amostra esta estratificada por Distrito. Procedeu-se à pesquisa de anticorpos de VHE utilizando uma técnica de enzimoimunoensaio (EIA). Os resultados reactivos por EIA foram confirmados por Western Blot. A prevalência de anticorpos para o VHE foi de 2,5 %. A idade média dos dadores com e sem anticorpos foi idêntica, verificando-se variações na prevalência por grupo etário compatível com um efeito de coorte. Não foram observadas diferenças em relação ao sexo, nem à distribuição por Distritos, nem à presença de anticorpos para o vírus da Hepatite B. A hepatite E é uma hepatite benigna que cura sem sequelas, sem estado de portador crónico e em que quase todos os doentes apresentam sintomatologia na fase aguda. O valor de prevalência agora encontrado assim como a ausência de sintomatologia clínica nos dadores observados e a normalidade dos marcadores bioquímicos de função hepática indicam não ser preocupante a utilização de sangue e componentes, obtidos a partir desta população. As normas actualmente em vigor emitidas pelo Conselho da Europa não mencionam a pesquisa sistemática do anti-VHE. No entanto considera-se importante a vigilância epidemiológica do VHE tanto do ponto de vista transfusional como de indicador de desenvolvimento higiénico-sanitário de uma população. Torna-se por isso fundamental o desenvolvimento das condições necessárias para que Portugal se venha a aproximar cada vez mais dos restantes países Europeus.

SUMMARY

Serum Prevalence of Antibodies for Hepatitis E Virus in the North of Portugal (in a population of donors)

The authors have undertaken a study in the North of Portugal in what concerns the prevalence of antibodies for HEV donors. This study was transverse through observation and survey. A sample of 1.473 donors was randomly selected from among the population of donors of the Oporto Regional Blood Centre. This sample was representative of the Northern Region and stratified by district. The usual EIA method has been used to search for HEV antibodies. The results, which were repeatedly reactive, have been confirmed by Western Blot. The prevalence of antibodies for Hepatitis E was 2.5%. The test identified a possible cohort effect and the sample

* Projecto de Investigação Subsidiado pela Comissão de Fomento da Investigação em Cuidados de Saúde

showed that the average age of the donors with or without antibodies was identical.

No difference was observed regarding sex, distribution by districts or the presence of antibodies for HB virus. Hepatitis E is benign, without chronic state carrier and almost every patient presents acute symptomatology. The value of prevalence found as well as the absence of clinical symptomatology in the observed donors and the normal state of the hepatic markers, indicate that the use of blood and components obtained from this population should not be a problem. The recommendation proposed by the European Council does not mention the systematic research of HEV. However the epidemiological HEV survey is considered important from the transfusional point of view and as an indicator of the sanitary development of the population. Bearing in mind the developing status of Portugal in this area, it is of utmost importance to create the means to reach European standards.

INTRODUÇÃO

A Hepatite E, anteriormente conhecida como hepatite entérica não A não B,^{1,2} é definida como uma hepatite de transmissão fecal oral, provocando epidemias em países subdesenvolvidos e em vias de desenvolvimento³ sobretudo tropicais e subtropicais, com maior incidência na época chuvosa.

A primeira descrição da hepatite E data de 1955 em Nova Deli⁴, Índia, onde milhares de indivíduos sofreram de sintomatologia de hepatite, pensando-se na altura tratar-se de Hepatite A. Concomitantemente foram identificados surtos na URSS e posteriormente no Nepal, Burma, Algéria e México⁴, sem que se pudesse identificar o agente, que mais tarde foi classificado como o Vírus da Hepatite E (VHE). Este agente etiológico é o mais frequentemente encontrado em Hepatites entéricas Não A Não B, tendo sido o seu genoma sequenciado por um grupo de cientistas liderados por Reyes⁵, em 1990.

A contaminação fecal da água de abastecimento é a principal via de transmissão⁶. A prevalência e a incidência da doença relacionam-se de perto com as condições higiénico-sanitárias das populações (rede de distribuição de água e saneamento) verificando-se a existência de diferenças significativas entre o meio rural e meio urbano⁷. A melhoria dessas condições é assim a medida efectiva para a diminuição daqueles indicadores. A manutenção do reservatório de VHE é desconhecido, embora tenha sido demonstrada a excreção do vírus nas fezes 14 dias após o início dos sintomas, prolongando-se por períodos que podem ir até mais de 50 dias⁸.

A hepatite E é considerada de pouca importância clínica e epidemiológica em países desenvolvidos, com baixas prevalências de hepatite em geral. Os casos existentes são muitas das vezes resultantes do regresso de viajantes de zonas endémicas^{9,10,11} sobretudo de África e Ásia (Fig. 1).

Clinicamente (Fig. 2) o quadro de hepatite E caracte-

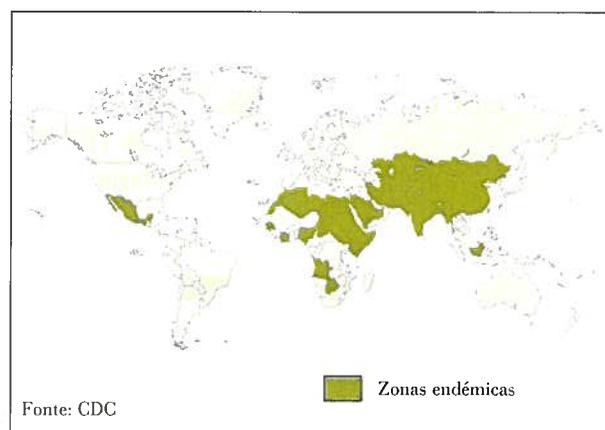


Fig. 1 - Distribuição Geográfica da Hepatite E

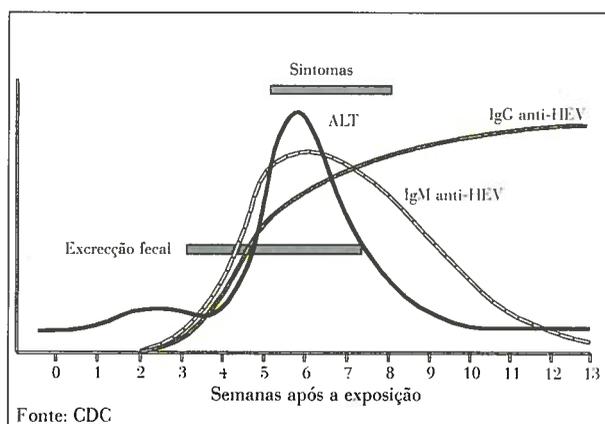


Fig. 2 - Infecção pelo Vírus da Hepatite E (Evolução Serológica Típica)

riza-se por sintomatologia de mal estar, anorexia, náusea, febre, cefaleia e dor abdominal em cerca de 90% dos doentes. Observa-se em quase todos os doentes icterícia e sensibilidade abdominal. O período de incubação da doença é de 15 a 32 dias, atingindo essencialmente adultos jovens, no que se diferencia da Hepatite A. A resposta imunológica à infecção com o VHE, inicia-se com o aparecimento de Ig M e Ig G quase simultaneamente, aparecendo o pico de anticor-

pos entre os 40 e 50 dias. O desaparecimento de Ig M ocorre 2 a 3 meses após. Os títulos de Ig G, com uma pequena queda mantêm-se por um período mais ou menos longo, o que ainda é discutido^{12,13}. Estes títulos parecem protectores para novas infecções e caso a reinfeção ocorra, esta geralmente não provoca doença grave^{14,15,16}. A evolução ocorre geralmente para a cura sem sequelas e sem portadores crónicos no que se assemelha à hepatite A. A taxa de mortalidade descrita para a população geral é de 0,3 a 5%, no entanto em grávidas o prognóstico é mais sombrio atingindo 18-20%^{6,17}, quando a infecção ocorre no 3º trimestre.

O agente pode ser visualizado no exame de fezes por microscopia electrónica como "vírus like particles" de cerca de 27 a 34 nm de diâmetro⁵ sem invólucro, de morfologia esférica e com espículas na superfície. A organização do genoma e do virião fazem pensar que se trata de um vírus semelhante à família dos calicivírus e assim referenciá-lo à família Caliciviridae, embora possua características genéticas únicas não encontradas noutros vírus caliciviridae¹⁸. As proteínas não estruturais exibem sequências semelhantes ao vírus da rubéola e provírus¹⁹.

O diagnóstico pode actualmente ser estabelecido através de microscopia electrónica, imunofluorescência, teste de aglutinação em Latex, testes imunoenzimáticos (EIA), Western Blot e Polymerase Chain Reaction (PCR).

Apesar de todos os conhecimentos que foram progressivamente adquiridos acerca do vírus da hepatite E, continuam a necessitar de avaliação científica, a existência de casos esporádicos de hepatite E em países desenvolvidos em indivíduos que não visitaram zonas endémicas, nem estiveram em contacto com viajantes dessas mesmas zonas e a possibilidade da transmissão por outras vias, nomeadamente a transfusional^{13,20}.

Estudos de prevalência independentes, realizados em várias populações indicam valores muito diferentes (Quadros I e II).

Não existindo ainda em Portugal estudos relativos a este vírus, pareceu pertinente efectuar um estudo que contribuísse para o conhecimento da situação epidemiológica em Portugal e à introdução de medidas adequadas de prevenção se necessário.

OBJECTIVOS

Determinar a prevalência de anticorpos contra o VHE numa população de dadores, estudando comparativamente alguns parâmetros.

Determinar se os valores de prevalência observados são significativamente diferentes dos estudos já realizados em outros países europeus.

Quadro I - Seroprevalência de Anticorpos para o VHE referenciados em estudos independentes

| País | Prevalência (%) |
|---|-----------------------|
| Alemanha ²¹ | 1,4 |
| Manchester ²¹ | 1,3 |
| Marselha ²¹ | 1,3 |
| Holanda ¹³ | 1,8 |
| Itália ²² (dadores/toxicodep.) | (0,74 / 1,94) |
| Espanha ²¹ | 2,2 |
| Suiça ²³ | 3,2 |
| Venezuela ²⁴ (rural/urbana) | (3,9 / 1,6) |
| Turquia ²⁵ | 5,9 |
| Chile ²⁶ | 7,0 |
| Arábia Saudita ⁷ (rural/urbana) | 11,28 (14,9 / 8,4) |

Quadro II - Seroprevalência de Anticorpos para o VHE em dadores Voluntários na Europa²⁷

| País | Prevalência (%) | Tamanho da amostra |
|-------------|-----------------|--------------------|
| Reino Unido | 1,0 | 1 500 |
| Holanda | 1,1 | 1 000 |
| Alemanha | 1,9 | 2 35 |
| França | 1,0 | 1 007 |
| Espanha | 1,9 | 775 |

Determinar as diferenças de prevalência entre sexos, grupos etários e local de residência.

Determinar a associação entre este tipo de hepatite e a presença de marcadores da hepatite B, C e alterações dos valores de alaninaaminotransferase (ALT).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal descritivo e observacional (complementado por inquérito). A população em estudo foi a dos dadores voluntários da região Norte de Portugal, tendo sido estudados 1 473 soros, num período de cerca de 6 meses. Não existindo em Portugal estudos sobre este agente, calculou-se a dimensão da amostra considerando-se como provável a existência de uma prevalência de anticorpos dupla da existente na maior parte dos países Europeus ($p=0.04$), um nível de significância de 95 % e assumiu-se um erro de 1 %.

Procedeu-se posteriormente à estratificação por Distrito da Região Norte tendo em conta os seguintes valores populacionais:

| Distritos | Concelhos | População | % População | N.º da amostra |
|------------------|-----------|------------------|-------------|-----------------|
| Braga | 13 | 752 325 | 24.84 | 365.99 |
| Bragança | 12 | 156 218 | 5.15 | 75.99 |
| Porto | 17 | 1 641 665 | 53.90 | 794.00 |
| Viana do Castelo | 10 | 250 041 | 8.21 | 121.00 |
| Vila Real | 14 | 236 297 | 7.87 | 115.99 |
| Total | 76 | 3 027 810 | 100 | 1 473.00 |

A pesquisa dos anticorpos Ig G para o vírus da hepatite E foi efectuada a partir das amostras sanguíneas colhidas para o rastreio aos dadores, as quais são rotuladas de um modo inequívoco com um número de colheita. Foram analisados todos os soros em cada Distrito até se atingir o número previamente calculado. Procedeu-se ainda à determinação do antígeno HBs, anticorpo HBc, anticorpo HCV e ALT.

A técnica utilizada para a pesquisa destes anticorpos foi uma técnica EIA, baseada em dois antígenos recombinantes SG-3 e 8-5, correspondendo a ORF-2 e ORF-3 respectivamente, da estirpe Burma do VHE, sendo os testes realizados e interpretados de acordo com as indicações do próprio fabricante. Os resultados repetidamente positivos por EIA na mesma amostra, foram confirmados por peptídeos sintéticos com as mesmas proteínas recombinantes. Estas confirmações foram efectuadas no laboratório do fabricante e fornecedor dos Kits (ABBOTT®). Os testes às amostras foram realizados de um modo totalmente automatizado, de acordo com boas práticas laboratoriais.

Os resultados analíticos de rotina foram registados na folha de análises normalmente anexa à ficha de dador e os resultados da pesquisa de anticorpos para o VHE foram registados numa folha criada especificamente para o efeito.

Procedeu-se à sistematização da informação recolhida por transferência para uma base de dados. Foi realizada a análise dos resultados por variável e posteriormente foram testadas as hipóteses formuladas, para um nível de significância de 95%, utilizando-se para o efeito o teste de diferença das médias e de x^2 .

RESULTADOS

Os 1473 dadores apresentavam uma idade média de 37,19 anos ($\pm 11,329$), com um mínimo de 18 e um má-

ximo de 65 anos. A distribuição por grupos etários é apresentada na figura 3.

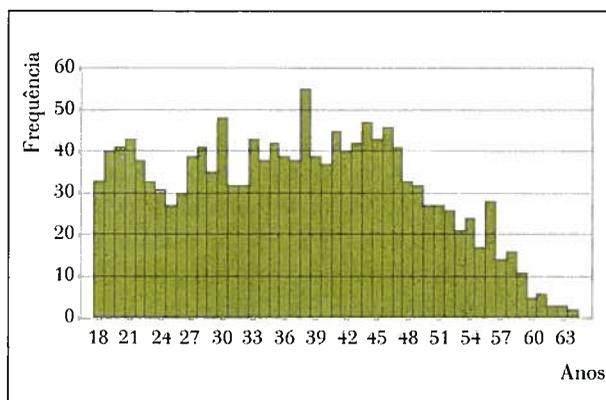


Fig. 3 - Distribuição por idades

Estudaram-se 637 mulheres (43,2%) e 836 homens (56,8%)

A distribuição por distritos dos dadores estudados é apresentada no Quadro III.

Quadro III - Distribuição por distritos dos dadores estudados

| Distritos | N.º | % |
|------------------|-------------|------|
| Bragança | 76 | 5,2 |
| Braga | 366 | 24,8 |
| Porto | 794 | 53,9 |
| Viana do Castelo | 121 | 8,21 |
| Vila Real | 116 | 7,9 |
| Total | 1473 | |

Da história clínica verificou-se que 73 dadores (5,0%) tinham permanecido ou viajado para regiões endémicas de hepatite E (Moçambique, Angola, Guiné e S. Tomé e Príncipe), e que 8 tinham antecedentes transfusionais (0,5 %).

A prevalência de marcadores de Hepatite B no total de dadores estudados foi de 6,4 %. Sendo 0,41% dos casos (6) pertencentes a portadores crónicos de Hepatite B (AgHBs e AgHBs com AcHBc). A distribuição pelos diferentes perfis é apresentada no Quadro IV.

Não se observaram dadores com anticorpos para o vírus da hepatite C.

Os valores de ALT (UI/L) tiveram uma média de 23,69 ($\pm 14,00$), com um mínimo de 4 UI/L e um máximo de 177 UI/L. A distribuição dos valores de ALT é apresentada na Figura 4.

Os resultados da pesquisa de anticorpos para o VHE, permitiu obter uma prevalência de 2,5%. Os resultados da cada uma das fases do estudo são apresentados no Quadro V.

A idade média dos dadores com Anticorpos para o Vírus da Hepatite E foi de 36,49 anos (desvio padrão: 11,35 anos) sendo a dos dadores sem anticorpos de 37,145 (desvio padrão: 10,68 anos).

Quadro IV - Prevalência dos perfis de marcadores de hepatite B

| Marcadores HB | N.º | % |
|-------------------------|-------------|------|
| AcHBc | 9 | 0,61 |
| AcHBc;AcHBs | 77 | 5,23 |
| AcHBs | 2 | 0,14 |
| AgHBs | 1 | 0,07 |
| AgHBs;AcHBc | 5 | 0,34 |
| Total com marcadores HB | 94 | 6,4 |
| Sem marcadores HB | 1379 | 93,6 |
| Total | 1473 | |

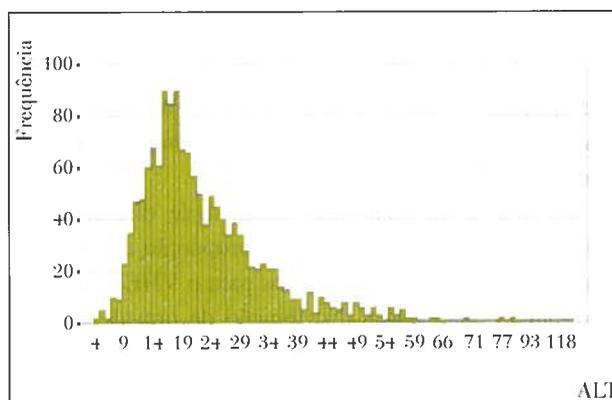


Fig. 4 - Distribuição dos valores de ALT

Quadro V - Fases da pesquisa de anticorpos para o VHE

| | N.º | % |
|------------------------------|-------------|-------|
| Elisa Negativo | 1435 | 97,42 |
| Elisa Positivo / WB Negativo | 1 | 0,07 |
| Elisa Positivo / WB Positivo | 37 | 2,51 |
| Total | 1473 | |

A distribuição e a prevalência por grupos etários é apresentada no Quadro VI com a sua representação na Figura 5.

Não se observaram diferenças estatisticamente significativas neste parâmetro entre os dois grupos.

A distribuição por sexos dos dadores com e sem Anticorpos para o Vírus da Hepatite E é apresentada no Quadro 7.

Não se observaram diferenças estatisticamente significativas neste parâmetro entre os dois grupos.

Quanto à estadia em zonas endémicas não se verificou a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os dadores com e sem anticorpos para o VHE (Quadro VIII).

Quadro VI - Distribuição de prevalência por grupo etário

| Grupos etários | Sem Antc VHE | Com Antc VHE | % |
|----------------|--------------|--------------|------|
| 18-24 | 253 | 6 | 2,37 |
| 25-34 | 354 | 11 | 3,11 |
| 35-44 | 409 | 15 | 3,67 |
| 45-54 | 319 | 1 | 0,31 |
| 55-64 | 99 | 4 | 4,04 |
| 65+ | 2 | 0 | 0,00 |

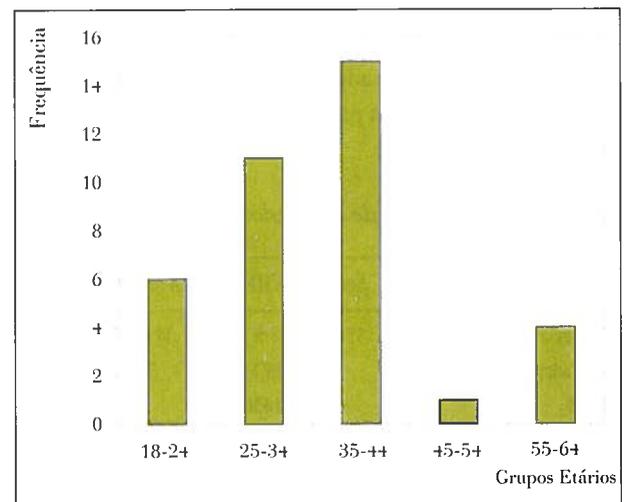


Fig. 5 - Distribuição de anti-HVE por grupos etários

Quadro VII - Distribuição por sexos

| | Masculino | Feminino | Total |
|-------------------------|------------|------------|-------------|
| Sem anticorpos p/ o VHE | 813 | 623 | 1436 |
| Com anticorpos p/ o VHE | 23 | 14 | 37 |
| Total | 836 | 637 | 1473 |

Quadro VIII - Estadia em zonas endémicas

| | N/Endémicas | Endémicas | Total |
|---------------------------|-------------|-----------|-------------|
| Sem Anticorpos para o VHE | 1364 | 72 | 1436 |
| Com anticorpos para o VHE | 36 | 1 | 37 |
| Total | 1400 | 73 | 1473 |

A Distribuição Geográfica dos Dadores com e sem Anticorpos para o Vírus da Hepatite E é apresentada no Quadro IX, tendo-se calculado a partir destes valores as prevalências por distrito.

Quadro IX - Distribuição Geográfica

| Distritos | Sem antic VHE | % | Com antic VHE | % |
|------------------|---------------|-------|---------------|------|
| Bragança | 75 | 98,68 | 1 | 1,33 |
| Braga | 357 | 97,54 | 9 | 2,46 |
| Porto | 774 | 97,48 | 20 | 2,52 |
| Viana do Castelo | 117 | 96,69 | 4 | 3,31 |
| Vila Real | 113 | 97,41 | 3 | 2,59 |
| Total | 1436 | 97,49 | 37 | 2,51 |

Não se observaram diferenças estatisticamente significativas neste parâmetro entre os dois grupos.

A presença de marcadores da Hepatite B nos dadores com e sem Anticorpos para o Vírus da Hepatite E é apresentada no Quadro X:

Quadro X - Presença de marcadores da Hepatite B

| | Sem antic VHE | Com antic VHE | Total |
|------------------------|----------------|---------------|-------------|
| Ausência Marcadores HB | 1345 (93,63 %) | 34 (91,9 %) | 1379 |
| Marcadores HB | 91 (6,38%) | 3 (8,1 %) | 94 |
| Total | 1436 | 37 | 1473 |

Não se observaram diferenças estatisticamente significativas neste parâmetro entre os dois grupos.

Os valores médios de ALT nos dadores com Anticorpos para o Vírus da Hepatite E foi de 24,9189 UI / L (desvio padrão: 11,310 UI / L;) sendo a dos dadores sem Anticorpos de 23,6595 UI / L (desvio padrão: 14,065 UI / L ; mínimo 10 UI / L; Máximo: 177 UI / L). Não se observaram diferenças estatisticamente significativas neste parâmetro entre os dois grupos.

A partir dos dados obtidos no presente estudo e dos já existentes em estudos semelhantes, referidos na introdução, procedeu-se ao cálculo dos intervalos de confiança a 95 % para as prevalências, as quais se apresentam na fig. 6:

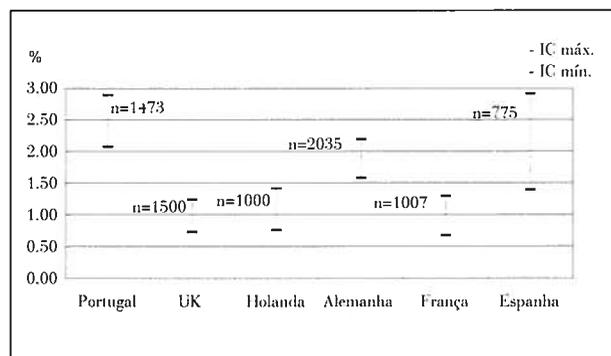


Fig. 6 - Prevalência de anticorpos para o VHE em estudos Europeus independentes

DISCUSSÃO

A prevalência encontrada para o vírus da hepatite E, em dadores de sangue da região Norte de Portugal, foi de 2,5 %. Os estudos realizados em populações semelhantes em alguns países Europeus (Reino Unido, Holanda, Alemanha e França) indicam para estes, prevalências inferiores. Esta diferença de prevalências verifica-se igualmente noutros tipos de hepatites, nomeadamente na Hepatite B, em que a taxa de portadores crónicos em Portugal é de 2 %, enquanto nos países do Norte da Europa é de 0,1 a 0,5 %²⁸, o que pode ser explicado pelos diferentes estádios de desenvolvimento socio-económico.

A ausência de diferenças significativas na distribuição de anticorpos para o VHE por Distritos na região Norte, indica serem as condições higiénico sanitárias mais ou menos uniformes.

Verifica-se de igual modo ausência de diferenças significativas na idade média e na proporção de homens e mulheres, com e sem anticorpos para o VHE. No entanto quando analisada a distribuição de prevalências por grupos etários verifica-se um aumento progressivo da presença de anticorpos até ao grupo 35 - 44 anos, aumento este que também se verifica noutras hepatites de transmissão fecal-oral, havendo no entanto posteriormente um decréscimo e nova subida. Se o aumento da prevalência é esperado, o decréscimo no grupo 35 - 44 poderá estar ligado a um efeito de coorte já observado em outros estudos²⁹. A interpretação destes resultados está limitada pelo estudo se confinar a uma população entre os 18 e 65 anos.

Como já foi referido a hepatite E é uma hepatite benigna, cura sem sequelas, sem estado de portador crónico, em que quase todos os doentes apresentam sintomatologia na fase aguda. O valor de prevalência agora encontrado assim como a ausência de sintomatologia clínica nos dadores observados e a normalidade dos marcadores bioquímicos de função hepática indicam não ser preocupante a utilização de sangue e componentes, obtidos a partir desta população. Em presença de casos clínicos de Hepatite NA NB NC, o diagnóstico de Hepatite E deverá ser um diagnóstico diferencial a ter em conta.

As normas actualmente em vigor emitidas pelo Conselho da Europa³⁰ não mencionam a pesquisa sistemática do anti-VHE. No entanto considera-se importante a vigilância epidemiológica do VHE tanto do ponto de vista transfusional como de indicador de desenvolvimento higiénico-sanitário de uma população. Torna-se por isso fundamental o desenvolvimento das condições necessárias para que Portugal se

venha a aproximar cada vez mais dos restantes países Europeus.

AGRADECIMENTOS

A Dilson Sarmiento do Serviço de Hemoterapia do Hospital Distrital de Viana do Castelo e a Isabel Fernandes do Serviço de Hemoterapia Hospital Distrital de Vila Real na obtenção de amostras.

À ABBOTT® pelo fornecimento dos Kits de pesquisa VHE

BIBLIOGRAFIA

- REYES GR: Hepatitis E virus (HVE) molecular biology and emerging epidemiology. *Prog. Liver Dis* 1993; 11: 203-13.
- REYES GR, HUANG CC: Tam, AW; Purdy, MA: Molecular organization and replication of hepatitis E virus (HVE) *Arch Virol Suppl* 1993; 7: 15-25.
- LOK ASF SOLDEVILLA-PICO: Epidemiology and serologic diagnosis of hepatitis E. *J. Hepatology* 1994; 567-69.
- DANIEL, W. BRADLEY: Hepatitis Non-A, Non-B Viruses become identified as Hepatitis C and E Viruses. *Prog Med Virol Basel, Karger* 1990; 37: 101-135.
- REYES GR, PURDEY MA, KING JP et al: Isolation of cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A non-B hepatitis. *Science* 1990; 247: 1335-39.
- LOVESTAD A: New Knowledge about viral hepatitis". *Tidsskr Nor. Laegeforen.* 1994; 114(30): 3576-8.
- ARIF M, GATTAN I, AL FALEH F, RAMIA S: Epidemiology of hepatitis E virus (HEV) infection in Saudi Arabia. *Ann Trop. Med. Parasitol.* 1994; 88(2):163 - 8.
- NANDA SK, ANSARI IH, ACHARYA SK, JAMEEL S, PAND SK: Protracted viremia during acute sporadic hepatitis E virus infection. *Gastroenterology.* 1995; 108(1): 225-30.
- SKAUG K, HAGEN IJ, VON DER LIPPE B: Three cases of acute hepatitis E virus infection imported in Norway". *Scand J Infect Dis* 1994; 26(2): 137-9.
- COURSAGET P, DEPRIL N, BUISSON Y, MOLINIE C, ROUE R: Hepatitis type E in a French population: detection of anti-HEV by a synthetic peptide base enzyme linked immunoabsorbent assay *Res Virol* 1994; 145(1): 51-7.
- MMWR MORB MORTAL WKLY-REP: Hepatitis E among U.S: travelers, 1989-1992". 1993; 42(1): 1-4.
- CAUHAN A, JAMEEL S, DILAWARI JB, CHAWLA YK, KAUR U, GANGULY NK: Hepatitis E virus transmission to a volunteer. *Lancet*, 1993; 341: 149-50.
- ZAAIGER HL, YIN MF, LELIE PN: Seroprevalence of hepatitis E in the Netherlands. *Lancet* 1992; 340: 681.
- BRYAN JP, TSAREV SA, IQBAL M, TICEHURST J, EMERSON S, AHMED A, DUNCAN J, RAFIQUI AR, MALIH IA, PURCELL RH et al: Epidemic hepatitis E in Pakistan: patterns of serologic response and evidence that antibody to hepatitis E virus protects against disease. *J Infect Dis* 1994; 170(3): 517-21.
- DEGUZMAN LJ, PITRAK DL, DAWSON GJ, SHIN DC, HOLZER TJ, LAYDEN TJ: Diagnosis of acute hepatitis E infection utilizing enzyme immunoassay. *Dig Dis Sci* 1994; 39(8):1691-3.
- ZHAI G, ZANG LF, LIANG RM, ZHANG YH, CAO XY: Immunohistochemical study of hepatitis E virus antigen in liver tissues from patients with hepatitis E. *Chin Med J Engl* 1994; 107(3): 222-4
- BUISSON Y, VAN CUYCK GANDRE H, DELOINCE R: Water and viral hepatitis. *Bull Soc Pathol Exot* 1993; 86 : 479 - 83.
- BRADLEY DW, BEACH MJ, PURDY MA: Molecular characterization of hepatitis C and E virus" *Arch. Virol. Suppl.* 1993; 7: 1-14.
- PURDY MA, KRAWCZYNSKI K: Hepatitis E. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 1994; 23(3): 537-46.
- WANG CH, FLEMMING B: Transmission of hepatitis E virus by transfusion. *Lancet* 1993; 341: 825-6.
- CASTELLA D: Hepatite E . Apresentado em ISBT/SETS Congress, Barcelona , Junho 1993
- ZANETI AR, DAWSON GJ: Hepatitis type E in Italy: a seroepidemiological survey. Study group of hepatitis E. *J Med Virol* 1994; 42(3): 318-20
- LAVANCHY D, MOREL B, FREI PC: Seroprevalence of hepatitis E virus in Switzerland. *Lancet* 1994; 344: 747.
- PUJOL FH, FAVOROV MO, MARCANO T, et al: Prevalence of antibodies against hepatitis E virus among urban and rural population in Venezuela. *J. Med. Virol.* 1994; 42(3): 234-6.
- THOMAS DL, MAHLEY RW, BADUR S, PALAOGLU KE, QUINN TC: Epidemiology of hepatitis E virus infection in Turkey. *Lancet*, 1993; 341(8860): 1561-2.
- IBARRA HV, RIEDEMANN SG, SIEGEL FG, REINHARDT GV, TOLEDO CA, FRÖSNER G: Hepatitis E in Chile". *Lancet* 1994; 344: 1501
- Abbott: Slide Presentation HEV/Feb. 94 / 2.5e Rhein Main Druck
- WHO: Global Blood Safety Initiative. Consensus statement on screening of blood donation for infectious agents transmissible through Blood Transfusion- Global Program on AIDS
- PISANTI FA, COPPOLA A, GALLI C: Association between hepatitis C and hepatitis E viruses in Southern Italy. *Lancet* 1994; 344:746-7.
- Council of Europe: Guide to the preparation, use and quality assurance of Blood components. Council of Europe Press, 1992.