MARIANA PINHEIRO ALVES VASCONCELOS

**Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes com diagnóstico de hepatite
delta acompanhados em unidade de referência no estado de Rondônia**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cássia Jacintho
Mendes Corrêa

São Paulo
2018

MARIANA PINHEIRO ALVES VASCONCELOS

**Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes com diagnóstico de hepatite
delta acompanhados em unidade de referência no estado de Rondônia**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cássia Jacintho
Mendes Corrêa

São Paulo
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Vasconcelos, Mariana Pinheiro Alves

Caracterização clínica e epidemiológica de
pacientes com diagnóstico de hepatite delta
acompanhados em unidade de referência no estado de
Rondônia / Mariana Pinheiro Alves Vasconcelos. --
São Paulo, 2018.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientadora: Maria Cássia Jacintho Mendes Corrêa.

Descritores: 1.Co-infecção 2.Vírus da hepatite B
3.Vírus da hepatite delta 4.HDV 5.Epidemiologia
6.Diagnóstico 7.Métodos não invasivos

USP/FM/DBD-473/18

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Aos pacientes com Hepatite Delta...

AGRADECIMENTOS

À Professor Dra. Cássia Mendes Corrêa, pela confiança de uma orientação a distância, pelos inúmeros ensinamentos. Por querer saber de mim antes de perguntar pela dissertação.

Ao Professor Dr. Juan Villalobos Salcedo, por sempre ter acreditado e deixado suas portas abertas, mesmo quando eu estava do outro lado do Atlântico.

Ao Professor Dr. Rui Tato Marinho, por todos os cafés que me trouxeram um ensinamento sem fim e muito amor à Hepatologia.

Aos que contribuíram imensamente nos meus conhecimentos na Hepatologia, meus queridos portugueses, Professora Dra. Narcisa Fatela, Professor Dr. Fernando Ramalho, Dra. Joana Carvalho, Dra. Élia Mateus, Dr. João Machado, Dra. Milena Mendes, Dra. Ana Caldeira, Dr. Eduardo Pereira, Dra. Joana Carvalho e Branco, e o inglês mais simpático de Londres, Professor Dr. Douglas Macdonald.

Aos amigos do CEPEM, Lourdes, Eugênia, Deusilene, Alcione, Suyane e Luan, pela dedicação aos pacientes com hepatites virais.

À Érica do CEP/CEPEM pela ajuda e disponibilidade.

Aos amigos Maria Moraes e Antônio Carlos, do Ambulatório de Hepatites, por terem transformado uma relação profissional em amizade sincera.

À Roseli e Letícia da pós graduação da FMUSP, pela gentileza e paciência de sempre.

Aos meus alunos da FIMCA e futuros colegas de profissão, um dos principais motivos desse mestrado.

Aos meus amigos, de perto, de longe e de muito longe, por estarem sempre ao meu alcance. Em especial nessa dissertação minha amiga-irmã Mirella Alves, por ser um exemplo a seguir, pelo apoio incondicional e torcida a cada crédito que eu conseguia cumprir e cada passo, mesmo cambaleando, que eu conseguia dar. À Mariana Lindenberg, nossa irmã número 2, por ter lido e corrigido minha revisão bibliográfica sobre hepatite delta, sem nem mesmo saber o que é hepatite delta. À minha amiga Daiana Perce, por não ter medido esforços. À minha JoO.

Aos meus irmãos, por serem minhas metades melhoradas, bem melhoradas. Ao Cá por ser um exemplo de garra e força, por fingir que entende meus longos fins de semana estudando, mofando. À Zeta, por ser minha maior inspiração pessoal, por ser minha maior conselheira, por não medir esforços nunca, por me aturar e fingir que entende quando eu não respondo o whatsapp.

Aos meus pais, Lindomar e Carla, por assinarem abaixo de todas minhas decisões e me ensinarem que saudade deve ser um sentimento pequeno para quem quer crescer. Obrigada por tentarem entender minhas ausências nos cafés, almoços e viagens. Por me ensinarem o real significado de bondade e amor.

À Deus, por não me deixar dúvidas da sua existência.

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento dessa publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3^a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação: 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journal Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de símbolos

Lista de figuras

Lista de quadros

Lista de gráficos

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	18
1.1 O vírus da Hepatite Delta	18
1.2 Epidemiologia	20
1.2.1 No mundo	20
1.2.2 No Brasil	22
1.3 Genótipos	24
1.4 Transmissão	26
1.5 Evolução Clínica	28
1.6 Diagnóstico	28
1.6.1 Sorológico	28
1.6.2 Biologia molecular	29
1.6.3 Biópsia hepática	30
1.7 Avaliação do grau de fibrose hepática	31
1.7.1 Biópsia hepática	31
1.7.2 Elastografia hepática	31
1.7.3 Escores para mensuração de fibrose hepática	32
1.8 Tratamento	34
2. JUSTIFICATIVA	37
3. OBJETIVOS	38
4. METODOLOGIA	39
4.1. Desenho e população do estudo	39
4.2. Local do estudo	39
4.3. Seleção da Amostra	40
4.3.1. Critérios de inclusão	41
4.3.2. Critério de exclusão	41
4.4. Coleta de dados e variáveis do estudo	41
4.4.1. Variáveis sociodemográficas	41
4.4.2 Variáveis laboratoriais	42
4.4.3 Variáveis clínicas	43
4.4.4. Avaliação do estadiamento da doença hepática	43
4.4.5. Caracterização de doença hepática avançada	44
4.5. Banco de dados	45

4.6. Análise dos dados	45
5. ASPECTOS ÉTICOS	47
6. RESULTADOS.....	48
6.1 Características sociodemográficas.....	48
6.2 Características laboratoriais	51
6.3 Marcadores sorológicos	52
6.4 Caracterização genotípica	53
6.5 Caracterização por exame de imagem	54
6.6 Avaliação da fibrose hepática por biópsia	55
6.7 Terapêutica.....	56
6.8 Adesão ao seguimento.....	57
6.9 Caracterização da doença hepática avançada.....	57
6.10 Avaliação da população pediátrica	60
6.11 Avaliação da fibrose hepática por métodos não invasivos	62
6.11.1 Métodos não invasivos	62
6.11.2 Acurácia dos métodos não invasivos com relação à biópsia hepática.....	63
7. DISCUSSÃO	68
8. CONCLUSÃO.....	81
9. ANEXOS	82
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
Apêndice	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFP	Alfafetoproteína
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
ALT	Alanina aminotransferase
APRI	<i>Aspartato aminotransferase to platelet ratio index</i>
AST	Aspartato aminotransferase
AUROC	<i>Area under receiver operating characteristic</i>
BCLC	<i>Barcelona Clinic Liver Cancer</i>
Bx	Biópsia
CAAE	Certificado de apresentação para apreciação ética
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementar
Céls	Células
CEMETRO	Centro de Medicina Tropical de Rondônia
CEPEM	Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia
Cols	Colaboradores
DHC	Doença hepática crônica
dl	Decilitro
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DFS	<i>Delta Fibrosis Score</i>
EASL	<i>European Association for the Study of the Liver</i>
EDA	Endoscopia digestiva alta
EH	Encefalopatia hepática
ELF	<i>Enhanced Liver Fibrosis</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FIB-4	<i>Fibrosis index based on the four factors</i>
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
g	Grama
GGT	Gamaglutamiltransferase
HAART	Terapia Antirretroviral Altamente Efetiva
HBcAg	Antígeno core da hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície da hepatite B
HBV	Vírus da hepatite B
HCC	Carcinoma hepatocelular
HCV	Vírus da hepatite C
HDA	Hemorragia digestiva alta
HDAg-L	Antígeno da hepatite delta - <i>Large</i>
HDAg-S	Antígeno da hepatite delta - <i>Small</i>
HDC	Hepatite Delta crônica
HDV	Vírus da hepatite Delta
HIDIT	<i>Hep-Net-International Delta Hepatitis Trial</i>
HIV	Vírus da imunodeficiência adquirida
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN	Interferon
IL	Interleucina
INR	Índice internacional normalizado
IPEPATRO	Instituto de Pesquisas em Patologias Tropicais de Rondônia
kDa	KiloDalton
kg	Kilograma

kPa	Kilopascals
Lacen:	Laboratório Central
LSN	Limite superior da normalidade
MELD	<i>Model for end-stage liver disease</i>
µg	Micrograma
ml	Mililitro
mm	Milímetro
MS	Ministério da Saúde
NK	Natural killer
nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial de Saúde
<i>p</i>	Probabilidade de significância
PBE	Peritonite bacteriana espontânea
PCR	Reação de polimerização em cadeia
PELD	<i>Pediatric end-stage liver disease</i>
PMN	Polimorfonucleares
PNHV	Programa Nacional de Hepatites Virais
PNI	Programa Nacional de Imunizações
PTR	Proteína terminal da transcriptase reversa
RNA	Ácido ribonucleico
RNAm	Ácido ribonucleico mensageiro
RNM	Ressonância magnética
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
RVFT	Resposta virológica ao final do tratamento
RVS	Resposta virológica sustentada
SBH	Sociedade Brasileira de Hepatologia
Sem	Semana
Sinan	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
TC	Tomografia computadorizada
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF	Fator de necrose tumoral
TP	Tempo de protrombina
TR	Transcriptase reversa
TS	Tempo de sangramento
TT	Tempo de trombina
TTPA	Tempo de protrombina parcial ativada
Tx	Transplante
UI	Unidade internacional
USP	Universidade de São Paulo
VP	Veia porta
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo
WGO	<i>World Gastroenterology Organization</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca registrada
/	Divisão
<	Menor que
>	Maior que
×	Multiplicação (vezes)
√	Raiz quadrada
*	Asterisco
=	Igual
≥	Maior ou igual
≤	Menor ou igual
+	Soma (mais)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do HDV	19
Figura 2 - Representação esquemática da replicação viral do HDV	20
Figura 3 - Representação esquemática da evolução do HDV	24
Figura 4 - Fluxograma do tratamento para Hepatite Delta	27
Figura 5 - Fluxograma sugerido para o tratamento da Hepatite Delta.....	36
Figura 6 - Marcadores de resposta terapêutica.....	36
Figura 7 - Mapa do Brasil com destaque para o Estado de Rondônia	40
Figura 8 - Fluxograma dos pacientes matriculados no ambulatório do CEPEM conforme as etiologias das hepatites virais	48
Figura 9 - Mapa dos Municípios do Estado de Rondônia. Distribuição da prevalência de HDV segundo o Município	51
Figura 10 - Fluxograma de caracterização dos genótipos do HDV	53
Figura 11 - Fluxograma dos pacientes com hepatite Delta submetidos a biópsia hepática para caracterização do atual grau de fibrose	55
Figura 12 - Fluxograma dos pacientes atendidos no CEPEM, com ênfase nos sinais de doença hepática avançada e doença hepática descompensada.....	58
Figura 13 - Fluxograma de distribuição dos pacientes com idade inferior ou igual a 18 anos conforme a forma clínica e evolução da doença hepática	62
Figura 14 - Fluxograma dos pacientes com hepatite Delta incluídos para avaliação de métodos não invasivos de análise da fibrose hepática	63

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Escores para avaliação não invasiva de fibrose hepática	33
Quadro 2 - Marcadores sorológicos dos pacientes no momento da matrícula	53
Quadro 3 - Área sob a curva para os escores não invasivos (AST/ALT, APRI e FIB-4) de acordo com os graus de fibrose hepática por biópsia	67

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Casos de hepatite D segundo região e ano de notificação	22
Gráfico 2 - Curva de ROC dos marcadores não invasivos, razão AST/ALT, APRI e FIB-4 para detecção de fibrose significativa ($F \geq 2$).....	65
Gráfico 3 - Curva de ROC dos marcadores não invasivos, razão AST/ALT, APRI e FIB-4 para detecção de fibrose avançada ($F \geq 3$	65
Gráfico 4 - Curva de ROC dos marcadores não invasivos, razão AST/ALT, APRI e FIB-4 para detecção de cirrose ($F = 4$).....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características epidemiológicas dos pacientes com hepatite Delta.....	50
Tabela 2 - Características laboratoriais dos pacientes com Hepatite Delta.....	52
Tabela 3 - Características dos pacientes com HDV genótipo I.	54
Tabela 4 - Características de exames de imagem dos pacientes com HDV	54
Tabela 5 - Classificação das biópsias hepáticas segundo a classificação de METAVIR.....	56
Tabela 6 - Principais esquemas terapêuticos utilizados no tratamento dos pacientes com hepatite Delta	56
Tabela 7 - Complicações da doença hepática descompensada	60
Tabela 8 - Características epidemiológicas da população de pacientes com idade inferior ou igual a 18 anos	61
Tabela 9 - Avaliação da fibrose hepática por biomarcadores.....	63
Tabela 10 - Estratificação da fibrose hepática conforme a classificação de METAVIR	64

RESUMO

Vasconcelos MPA. *Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes com diagnóstico de hepatite delta acompanhados em unidade de referência no estado de Rondônia* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

Introdução: No mundo especula-se que 15 a 20 milhões tenham infecção crônica pelo HDV. No Brasil, a área endêmica de hepatite Delta corresponde aos estados da Amazônia Ocidental, incluindo Rondônia. Hepatite Delta é a mais grave e com mais rápida evolução para cirrose dentre as hepatites virais. Poucos estudos avaliaram os aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais de uma coorte de pacientes em nosso país e no mundo. **Objetivos:** Em uma coorte de pacientes acompanhados em um serviço de referência: 1. Avaliar as características demográficas, epidemiológicas e clínicas; 2. Avaliar a frequência de doença hepática avançada; 3. Avaliar as características da população atendida com idade ≤ 18 anos; 4. Avaliar a acurácia de escores não invasivos (razão AST/ALT, APRI e FIB-4) na determinação dos diferentes graus de fibrose. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal, descritivo, de uma coorte de pacientes retrospectivamente identificadas no ambulatório especializado em hepatites virais, pertencente ao Centro de Pesquisa em Medicina Tropical do Estado de Rondônia (CEPEM), situado na cidade de Porto Velho, com diagnóstico de infecção pelo HDV. Foram incluídos todos os pacientes com diagnóstico dessa infecção por sorologia (ELISA) ou por biologia molecular (HDV-RNA reagente), matriculados e atendidos neste serviço entre novembro de 1996 a março de 2015. **Resultados:** Dentre 4.101 pacientes diagnosticado com HBV, 224 (5,5%) apresentavam coinfeção com o HDV, e 205 foram incluídos nas análises. Dentre eles, 132 (64,4%) eram do sexo masculino, com idade média de 35,1 anos. O contato familiar foi o fator de exposição para infecção pelo VHB/VHD mais frequente. A determinação do genótipo do HDV foi obtida em 78 pacientes, destes 74 (94,9%) eram genótipo III e 4 (5,1%) genótipo I. Noventa e dois (44,9%) pacientes apresentavam evidência de doença hepática avançada. Dentre os pacientes incluídos 22 (10,7%) tinham idade ≤ 18 anos, sendo que 6 (27,3%) apresentavam sinais e sintomas de doença hepática avançada ou fulminante à primeira consulta. Métodos não invasivos foram calculados e comparados à biópsia hepática em 50 pacientes. A razão AST/ALT não teve valor significativo para avaliar fibrose em nenhum dos estágios. APRI e FIB-4 tiveram melhor desempenho para avaliar fibrose significativa ($\geq F2$), com acurácia de 86 e 80, respectivamente. **Conclusões:** 1. O HDV representa importante agravo de saúde pública em Rondônia com frequência expressiva entre pessoas do sexo masculino e população indígena; 2. A presença da infecção pelo HDV esteve associada a expressivo número de complicações hepáticas e foi frequente causa de óbito na população analisada, particularmente entre adultos jovens; 3. Entre pacientes com idade ≤ 18 anos a hepatite delta esteve associada a significativa morbidade e mortalidade e a falta de adesão dessa população pareceu contribuir para esse tipo de desfecho; 4. A utilização dos métodos não invasivos (APRI e FIB-4) foi capaz de identificar pacientes com fibrose significativa entre indivíduos infectados com HDV na Amazônia brasileira, podendo, apesar de todas as limitações destes métodos servir como alternativa para avaliação de fibrose hepática significativa, na ausência de outros métodos mais efetivos.

Descritores: co-infecção; vírus da hepatite B; vírus da hepatite delta; HDV; epidemiologia; diagnóstico; métodos não invasivos.

ABSTRACT

Vasconcelos MPA. *Clinical and epidemiological characterization of patients with diagnosis of delta hepatitis accompanied in a reference unit of Rondônia state* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade São Paulo"; 2018.

Introduction: In the world, it is speculated that 15 to 20 million people have chronic HDV infection. In Brazil, the endemic area of hepatitis Delta corresponds to the states of the Western Amazon, including Rondônia. Hepatitis Delta is the most serious and most rapidly evolving cirrhosis among viral hepatitis. Few studies have evaluated the epidemiological, clinical, and laboratory aspects of a cohort of patients in our country and around the world.

Objectives: In a cohort of patients followed at a referral service: 1. Evaluate demographic, epidemiological and clinical characteristics; 2. Assess the frequency of advanced liver disease; 3. Evaluate the characteristics of the population served with age ≤ 18 years; 4. To evaluate the accuracy of non-invasive scores (AST/ALT ratio, APRI and FIB-4) in determining the different degrees of fibrosis. **Methods:** This is a cross-sectional, descriptive study of a cohort of patients retrospectively identified in the ambulatory specialized in viral hepatitis, belonging to the Research Center of Tropical Medicine of Rondônia State (CEPEM), located in the city of Porto Velho. All patients diagnosed with this serological method (ELISA) or molecular biology (HDV-RNA), enrolled in this service between November 1996 and March 2015, were included. **Results:** Out of 4,101 patients diagnosed with infection by HBV, 224 (5.5%) had coinfection with the hepatitis delta virus, and 205 were included in the analyzes. Among them, 132 (64.4%) were males, with a mean age at the time of enrollment of 35.1 years. Family contact was the most frequent exposure factor for HBV/HDV infection. It was identified seventy-eight patients (94.9%) of genotype III and four (5.1%) of genotype I. Ninety-two (44.9%) patients had evidence of advanced liver disease. Among the patients included, 22 (10.7%) were aged ≤ 18 years, and 6 (27.3%) had signs and symptoms of advanced or fulminant liver disease at the first visit. Noninvasive methods were calculated and compared to liver biopsy in 50 patients. The AST/ALT ratio had no significant value for evaluating fibrosis in any of the stages. APRI and FIB-4 had better performance to evaluate significant fibrosis ($\geq F2$), with the accuracy of 86 and 80 respectively. **Conclusions:** 1. The hepatitis delta virus represents an important public health problem in the State of Rondônia, affecting both adults and children, with significant frequency among males and the indigenous population; 2. The presence of HDV infection was associated with a significant number of hepatic complications and was a frequent cause of death in the analyzed population, particularly among young adults; 3. Among patients aged ≤ 18 years, delta hepatitis was associated with significant morbidity and mortality and the lack of adherence of this population to follow-up seemed to contribute to this type of outcome; 4. The use of the non-invasive APRI and FIB-4 methods were able to identify patients with significant fibrosis among individuals infected with HDV in the Brazilian Amazon, although all limitations of these methods may serve as an alternative for the evaluation of significant hepatic fibrosis in the absence of other more effective methods

Keywords: co-infection; hepatitis B virus; hepatitis delta virus; HDV; epidemiology; diagnosis; non-invasive methods.

1. INTRODUÇÃO

1.1 O vírus da Hepatite Delta

O vírus da hepatite Delta (HDV) foi descrito pela primeira vez em 1977 na cidade de Turim, na Itália, por Rizzetto e colaboradores ao analisarem biópsias hepáticas de portadores crônicos do HBV (1). Um sistema antígeno-anticorpo denominado “Sistema Delta” (Delta/anti-Delta) foi observado no sangue e no fígado através da imunofluorescência indireta. Seus anticorpos eram encontrados apenas nos pacientes com antígenos de superfície para o vírus da hepatite B (HBsAg) (1).

O HDV pertence à família *Deltaviridae* e ao gênero *Deltavirus*, medindo aproximadamente 35 - 40nm de diâmetro. Após desnaturação seu RNA apresenta-se como uma pequena fita simples de polaridade negativa. O RNA do HDV é envolvido com cerca de 200 moléculas do antígeno da hepatite delta (HDAg), formando uma única partícula viral, a ribonucleoproteína (2). Devido a este pareamento intramolecular do RNA com moléculas do HDAg (aproximadamente 70%), o genoma apresenta um formato estrutural em bastão de cadeia dupla (3, 4). Esta partícula viral é envolvida pelas proteínas de superfície do HBV (HBsAg-S, HBsAg-M e HBsAg-L) (Figura 1).

O antígeno delta pode ter duas formas de proteínas, HDAg-S (*small*), composta por 195 resíduos de aminoácidos com 24 kDa, e HDAg-L (*large*), com 214 resíduos de aminoácidos com 27 kDa. A HDAg-S é fundamental durante a replicação do RNA, enquanto a HDAg-L é utilizada na montagem e brotamento da partícula viral, junto com as 3 proteínas do envelope do HBV, exercendo um efeito negativo sobre a replicação viral (2, 5, 6).

Figura 1 – Representação esquemática do HDV. Vírus da hepatite D envolto pelo antígeno de superfície do HBV. HBsAg externo em preto. Com distribuição periférica L (preS1 ou *large*), M (preS2 ou *middle*) e S (*small*) as três proteínas de superfície. Na porção central, o HDAg, HDAg-S e HDAg-L (azul) e o RNA de fita simples helicoidal (vermelho).

O HDV é descrito como um vírus RNA defectível, ou seja, seu genoma é incapaz de completar o ciclo biológico na célula. Quando em coinfecção com o HBV (vírus auxiliar) utiliza o seu DNA e envoltório de lipoproteína do HBsAg para completar seu ciclo biológico, incluindo a replicação, que no caso é limitada aos hepatócitos (1, 5). Estudos mais recentes apontam para a possibilidade do HDV requerer apenas o envelope proteico, não sendo diretamente dependente do *hepadnavirus* para replicação (7).

Há três tipos de RNA do HDV, o RNA genômico, o RNA antigenômico, complementar ao RNA genômico e o RNA mensageiro (3, 8, 9).

O HDV, envolto pelo envelope viral do HBV entra na célula hepática através da interação com um receptor comum, o NTCP (*sodium taurocholate cotransporting polypeptide*), na membrana do hepatócito reconhecido pelo domínio pré-S1 do HBsAg-L (9, 10). No citoplasma do hepatócito o HDV não revestido pelo envelope viral do HBV é translocado para o núcleo do hepatócito, onde ocorrerá a replicação, com interceptação do RNA polimerase I e II do hospedeiro. Nos nucléolos, a polimerase I tem papel na transcrição do antigenoma em genoma. No nucleoplasma a polimerase II catalisa a transcrição do

genoma para antigenoma e a transcrição do RNAm (2). O RNA antigenômico serve como modelo para a replicação do RNA genômico (Figura 2).

Figura 2 – Representação esquemática da replicação viral do HDV. 1. Ligação da porção pré-S1 do HBsAg-L com o receptor do hepatócito. 2. Entrada do HDAg no citoplasma do hepatócito, perdendo a camada externa de HBsAg. 3. Translocação do HDAg e RNA genômico do citoplasma para o núcleo. 4. O genoma é transcrito no núcleo para as formas antigenoma e RNAm. 5. RNAm é transportado ao citoplasma, encontrando o retículo endoplasmático para formar novos HDAg. 6. Novas moléculas de antígenos retornam ao núcleo, onde o S-HDAg dá suporte à replicação. HDAg se associa a novos RNA genômico transcritos para formar novas ribonucleoproteínas. 7. O antígeno *large* do HDV interage com a molécula de HBsAg para se encapsular. 8. Junção das partículas de HDAg para formar um novo HDV. 9. Sai do hepatócito para reinfectar novas células.

1.2 Epidemiologia

1.2.1 No mundo

Especula-se que entre 15 e 20 milhões de pessoas tenham infecção crônica pelo HDV (9, 11, 12). No mundo, aproximadamente 5% dos carreadores do HBV estão coinfectados como HDV (11). Oriente Médio, África Central, Sul da Europa, região do

Mediterrâneo, parte da Ásia, Bacia Amazônica, incluindo Colômbia e Venezuela são tradicionalmente conhecidas como regiões endêmicas de portadores de HDV (8, 9, 13).

Estudos prévios na Mongólia mostraram alta prevalência de HDV nos pacientes HBsAg positivos, variando em aproximadamente 60 – 80%, que pode estar relacionado a alta taxa de carcinoma hepatocelular na região (14, 15). Porém, a infecção pelo HDV é incomum em países vizinhos como Vietnã (16), Indonésia (17) e China, mesmo com os altos índices de HBV nesses países.

Um estudo de revisão sistemática sobre a prevalência do HDV foi realizado em 22 países na região leste do Mediterrâneo, revelando uma prevalência de HDV de 15% em pacientes HBsAg positivos assintomáticos, com taxas maiores em países africanos, como Egito, Sudão, Tunísia e Somália (18).

Em regiões como o norte da Europa e os Estados Unidos, infecção pelo HDV é limitada a grupos de risco, como usuários de drogas endovenosas (UDEV) e hemofílicos (19, 20). Nos EUA há alta prevalência de anti-HDV em UDEV HBsAg positivos, em torno de 40% (21).

Na Europa, a Itália apresentou importante queda na prevalência do HDV, sendo 24,6% em 1983 (22), 23% em 1987 (23), 14% em 1992 (24) e 8,3% em 1997 (25). Declínio descrito também na Espanha (26), Turquia (27) e Taiwan (28). Contudo estudo realizado na Itália em 2006 mostrou prevalência de 8,1%, semelhante a 1997, mostrando que apesar da infecção pelo HDV ter tido declínio importante nesta região, a partir de 1997 parece manter-se estável (29). Em algumas regiões a prevalência de HDV continua em crescimento, por exemplo, em Londres a prevalência em 1980 era de 2,6%, passando para 8,5% em 2005 (30, 31). A Alemanha teve um declínio até 1997, porém a partir de 1999 teve aumento de 6,8% para 8 – 14% (32). O não declínio nesses países pode estar relacionado a migração de jovens provenientes de países com alta prevalência, como norte da África, Turquia e leste Europeu (33).

1.2.2 No Brasil

De acordo com o último Boletim Epidemiológico sobre hepatites virais, do Ministério da Saúde do Brasil (2018), no período de 1999 a 2017, foram notificados 3.833 casos confirmados de hepatite D no país, sendo predominantemente na Região Norte, com 75%. Dos 3.833 casos, 57,7% são do sexo masculino. Um fator importante, é que a razão de sexos vem diminuindo, em 2001 era de 2,3 passando para 1,5 em 2017. Com relação a distribuição por idade a maior prevalência foi na população de adultos jovens, com 51,6% na faixa etária entre 20 a 39 anos. Quanto à etnia, 56,2% dos casos são pardos, 17,3% brancos, 7,1% indígenas, 5,0% negros e 1,5% amarelos. Entre 2000 e 2016 foram notificados 735 óbitos por hepatite D, dos quais 51,8% na Região Norte (Gráfico 1) (34).

A bacia amazônica ocidental, incluindo Brasil, Peru, Equador, Venezuela e Colômbia, representa uma das mais altas taxas de infecção pelo HBV no mundo (35). No Brasil, essa área corresponde aos estados do Acre, Amazonas, Rondônia e Roraima, com prevalência importante na população indígena (36).

Gráfico 1 – Casos de hepatite D segundo região de residência e ano de notificação. Brasil, 2007 a 2017.

FONTE: Casos de hepatites virais: Sinan/SVS/MS (34).

Braga et al. (2004), em estudo de prevalência do HBV em Lábrea, Amazonas, 11 anos após a introdução da vacina contra HBV na região, mostrou uma prevalência do HBsAg de 3,3% e do anti-HBc de 49,9% (37). Entretanto, em estudo anterior a introdução da vacina contra hepatite B, a prevalência de HBsAg nessa região do Amazonas foi descrita como de 16,7% (36). Apesar da prevalência do HBsAg ter tido queda importante na região, ainda é considerada de moderada endemicidade para o HBV.

No estado do Amazonas, as bacias dos rios Juruá, Solimões e Purus são áreas de alta endemicidade para o HBV e o HDV, representando um importante problema de saúde pública, com casos graves, incluindo hepatite fulminante. Um recente estudo nessa região descreveu que quase um terço (29,5%) dos pacientes com HBV eram coinfectados com HDV (35). Resultados semelhantes também foram descritos em Lábrea por Braga et al. (2004), em indivíduos HBsAg reagentes, a prevalência de anti-HDV foi de 30% (37). Posteriormente, Braga e colaboradores descreveram uma prevalência de anti-HDV acima de 40% nos portadores crônicos de HBV (38). Fonseca et al. (1988) obteve resultados semelhantes, antes da introdução da vacina para hepatite B e descreveu no estado do Amazonas uma prevalência de anti-HDV de 34,4% nos pacientes cronicamente infectados com o HBV (36). No Brasil, fora da região amazônica, poucos estudos de prevalência do HDV se têm feito, porém mostram uma prevalência muito baixa.

Em pacientes coinfectados com HIV no Brasil, estudos mostram uma frequência significativamente mais baixa que em pacientes não coinfectados com o HIV, ao contrário do que descrevem em outros países, onde a prevalência pode chegar a 50% nessa população. Estudo de prevalência do HDV em pacientes coinfectados com HIV-HBV no estado de São Paulo, mostrou taxa de 1,2% de HDV, apenas um paciente com anti-HDV positivo dos 81 com hepatite B crônica (39). Dados semelhantes são descritos mesmo em áreas endêmicas, como na Amazônia Ocidental, onde foi descrito uma prevalência 34,4% na população geral e prevalência significativamente menor, de 9,4% nos pacientes com HIV/HBV (39, 40, 41).

1.3 Genótipos

Análises envolvendo a genética do HDV revelaram 8 diferentes genótipos, I a VIII (42, 43), com ampla e variável distribuição mundial (9). Os genótipos são fatores que podem ter influência sobre a evolução da doença, aumentando a gravidade das manifestações clínicas e a evolução para hepatite fulminante (44, 45). A sequência do nucleotídeo do HDV varia de 5 – 14% entre o mesmo genótipo e de 23 – 34% entre genótipos diferentes (46).

O genótipo I é o único que possui uma ampla distribuição mundial, sendo o mais frequente e com alta prevalência na Europa e América do Norte (47). O genótipo II é mais prevalente no leste asiático (48), como Japão (49), Taiwan (50) e Rússia (51). O genótipo III está restrito a América do Sul, predominantemente na região Amazônica (52, 53). O genótipo IV foi descrito no Japão (54) e Taiwan (48). Os genótipos V, VI, VII e VIII foram identificados em africanos (13, 42) (Figura 3).

FONTE: Hughes, Lancet, 2011 (9).

Figura 3 – Mapa *Mundi* da distribuição dos genótipos e prevalência conforme a região. Caracterização da prevalência segundo as cores: vermelha – alta; rosa – intermediária; cinza – baixa; azul – muito baixa; branca – sem dados.

Na cidade de Letícia/Colômbia, na região amazônica e fronteira com o estado brasileiro do Amazonas foi analisado 5 pacientes com HDV, sendo todos genótipo III (55).

No Brasil, o vírus da hepatite delta é endêmico na região da Amazônia ocidental, sendo predominantemente pelo genótipo III. Gomes-Gouvêa (2009) analisou o sequenciamento genético do HDV em 14 pacientes dos estados do Pará e Amapá sendo todos do genótipo III (56). Cicero et al (2016) analisou amostras de 4 cidades e 3 diferentes estados da região amazônica, Rio Branco/AC, Cruzeiro do Sul/AC, Manaus/AM, Porto Velho/RO, sendo todos genótipo III (57). Estudo do sequenciamento genético específico do estado de Rondônia foi descrito por Botelho e colaboradores (2014), onde 48 (92,3%) eram genótipo III e 4 (7,7%) eram genótipo I (58).

Ao contrário da maioria dos estudos descritos, Paraná et al (2006) avaliou 40 pacientes com HDV no estado do Acre e Rondônia, sendo 22 (55%) genótipo I e 18 (45%) genótipo III, porém a metodologia não especifica quantos pacientes eram do estado de Rondônia ou do Acre (53).

Em 2011, no estado do Maranhão, uma região considerada não endêmica para o HDV no Brasil, Barros et al descreveu uma população de 133 pacientes carreadores crônicos do HBsAg (60). Nesta população, 5 (3,8%) tiveram o anti-HDV positivo, destes, 3 foram positivos para o HDV RNA. Verificou-se que 2 pacientes, naturais e residentes nesta região, tiveram seu genótipo identificado e suas sequências de nucleotídeos foram similares em 78,8% e 87,7% com os HDV genótipo VIII previamente descritos e com 89,4% de similaridade entre si. Sendo, portanto, a primeira vez que a infecção pelo genótipo VIII foi descrita em população não africana (60).

Mendes-Corrêa et al (2011) analisou o anti-HDV em 86 pacientes coinfectados com HIV/HBV no estado de São Paulo. Destes, foi identificado apenas um paciente (1,2%) com anti-HDV positivo, sendo este genótipo I (39).

Em um único indivíduo pode ocorrer infecção mista por diferentes genótipos, podendo ocorrer predominantemente em pacientes com alto risco de múltiplas exposições

(61). Vários estudos epidemiológicos têm sido realizados em busca da real prevalência dos diferentes genótipos do HDV.

1.4 Transmissão

A via de transmissão mais efetiva do HDV é a via parenteral, através de contato com sangue, em usuários de drogas endovenosas, pelo compartilhamento de agulhas e transfusão de sangue (cada vez menos comum). Em regiões de alta endemicidade, a transmissão vertical e horizontal, principalmente na infância pode ocorrer, assim como, a transmissão intrafamiliar também pode ser notada (35). Embora a transmissão por via sexual seja descrita, é menos comum que na monoinfecção pelo HBV (62).

A infecção pelo vírus da hepatite delta pode ocorrer sob a forma de coinfecção com o HBV ou sob a forma de superinfecção com o HBV (43).

A coinfecção é caracterizada pela infecção aguda simultânea do HBV com o HDV em indivíduo suscetível a ambos os vírus. A infecção pelo HDV, nesta situação, tem início apenas depois do HBV ter infectado os hepatócitos (63). Como o HBV é essencial para o HDV, a taxa de progressão para cronicidade da hepatite delta é similar à taxa de progressão da hepatite B aguda, ou seja, entre 2-5% (64, 65). O período de incubação da hepatite D é dependente dos títulos de inóculo do HBV que determinam o tempo de incubação da hepatite B (5). A hepatite aguda pode se apresentar como monofásica (um pico) e bifásica (dois picos distintos), sendo o primeiro pico dependente dos títulos de HBV e o segundo pico dos títulos de HDV (43). Tem cura espontânea em mais de 95% dos casos, sendo uma importante causa de hepatite grave ou fulminante (66) (Figura 4).

A superinfecção se caracteriza pela infecção pelo HDV em um indivíduo cronicamente infectado pelo HBV. Pode causar hepatite aguda fulminante e as taxas de cronicidade são superiores a 80%. A superinfecção está associada a um aumento do risco de desenvolvimento precoce de cirrose e carcinoma hepatocelular (1, 67, 68). Possui

aspecto clínico variado, apesar de geralmente causar uma hepatite aguda mais grave e com um período de incubação relativamente curto. Nos pacientes portadores assintomáticos do HBsAg pode levar a um quadro de hepatite aguda, já nos pacientes com hepatite B crônica, pode levar a exacerbação dos sintomas, com descompensação hepática. Os pacientes que tiveram superinfecção evoluem para hepatite crônica em aproximadamente 90% dos casos (43).

FONTE: Adaptado de Oliveira & Smedile, Semin Liver Dis, 2012 (69).

Figura 4 – Representação esquemática da evolução do HDV (coinfecção e superinfecção).

A hepatite delta, seja na forma de coinfecção ou superinfecção, constitui uma das mais frequentes causas de hepatites fulminantes conhecidas (43). Estudo realizado em Samara, na Rússia, revelou que, dentre 27 casos de hepatite viral fulminante, 13 estiveram associados à infecção pelo vírus da hepatite delta (70). Alguns outros estudos, em diferentes países da América do Sul, revelam que a hepatite aguda pelo HBV e HDV (coinfecção ou superinfecção) configuram as principais causas de hepatite aguda grave na região amazônica (71, 72).

1.5 Evolução Clínica

A forma crônica da hepatite delta é a mais grave e rapidamente progressiva de todas as hepatites virais crônicas. Leva a cirrose em aproximadamente 70% dos casos, em 5 a 10 anos, acometendo geralmente uma faixa etária jovem. Após 1 a 2 anos do episódio de hepatite D aguda, 15% evoluem para cirrose. O risco de desenvolver cirrose é 3 vezes maior na infecção pelo HDV que na monoinfecção pelo HBV (43, 73).

A hepatite delta fulminante tem uma evolução dramática, com prognóstico geralmente muito ruim. A apresentação clínica de doença fulminante ocorre entre 4 a 30 dias após o início dos sintomas de hepatite delta aguda (74). Os níveis das transaminases podem ser altos, porém com a ocorrência de necrose maciça do fígado, esses níveis tendem a diminuir rapidamente. O mesmo ocorre com a replicação do HDV e sua carga viral, já que poucos são os hepatócitos viáveis. A única alternativa terapêutica nestes casos é o transplante hepático e caso ele não ocorra nos primeiros 10 dias após a instalação do quadro agudo, a mortalidade pode atingir 80% dos casos (43).

1.6 Diagnóstico

1.6.1 Sorológico

Todo paciente HBsAg positivo, principalmente em áreas endêmicas, deve ser submetido a pesquisa de anticorpos contra o HDAg. O anti-HDV IgM pode não ter conotação de fase aguda, podendo persistir em pacientes com hepatite delta crônica ou reaparecer em recaída após terapia. Porém o anti-HDV IgM pode estar correlacionado com atividade inflamatória, com significativo aumento dos níveis de ALT e com atividade histológica (75). Embora o anti-HDV positivo indique infecção pregressa, não é confirmatório de infecção ativa, já que estes testes sorológicos são uma forma de detecção indireta do

vírus. Portanto, torna-se fundamental a pesquisa do HDV RNA, que caso seja negativo, pode significar infecção em recuperação ou cicatriz sorológica (32, 76).

O diagnóstico do tipo de infecção pelo HDV, se coinfeção ou superinfecção, é importante, sendo imprescindível a pesquisa dos anti-HBc total e IgM/IgG. Em caso de infecção aguda pelo HBV, com anti-HBc IgM, anti-HDV total e/ou IgM reagentes, se estará diante de uma coinfeção. Caso a infecção pelo HBV seja crônica, com anti-HBc IgG, anti-HDV total e/ou IgM reagentes se caracterizará como uma superinfecção pelo HDV (69).

Anticorpos totais contra o HDV podem ser detectados pelo método ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), um teste imunoenzimático que se baseia na reação antígeno-anticorpo. Esse tipo de ensaio competitivo mensura todos os tipos de anticorpos contra o HDV. O anti-HDV pode persistir por anos como cicatriz sorológica em pacientes superinfectados que clarearam a infecção pelo HDV, porém mantem HBsAg reagente (69). O anti-HDV IgM pode persistir na hepatite crônica pelo HDV ou reaparecer após recaída do tratamento (65). Anti-HDV IgM pode ainda ser um substituto para determinar replicação do HDV, caso a pesquisa de HDV RNA não esteja disponível. Alguns autores sugerem que níveis de anti-HDV IgM estejam associados a atividade histológica e que a diminuição e o desaparecimento do anti-HDV IgM na hepatite delta crônica pode vir a ser um preditor de remissão da doença, seja espontânea ou induzida por terapia (69, 75).

1.6.2 Biologia molecular

A identificação do HDV RNA pode ser realizada por técnicas moleculares, sendo a mais utilizada para esse processo a reação em cadeia da polimerase (PCR). Com o advento da PCR o DNA pode ser multiplicado artificialmente, um mecanismo de síntese artificial de DNA num processo em cadeia que imita a replicação do DNA através de uma DNA polimerase. Como o RNA é o material genético do HDV, é aplicada uma variação da PCR, chamada TR-PCR, transcrição reversa da PCR. A reação não parte de um molde de

DNA diretamente extraído da amostra, o HDV fornece o RNA que é então convertido em DNA complementar (cDNA) através da transcrição reversa antes de submeter a uma PCR (58).

O diagnóstico de infecção ativa pelo HDV tem mais acurácia quando realizado por detecção do HDV RNA no soro ou no plasma utilizando a TR-PCR em tempo real qualitativa ou quantitativa. Essa técnica de quantificação não é internacionalmente padronizada, apresenta desempenho limitado e não é disponível em ensaios comerciais (77, 78). Dessa forma, muitos laboratórios têm desenvolvido TR-PCR em tempo real “caseiros” (*in house*) (79).

Infecção ativa pelo HDV deve ser sempre confirmada através da presença do HDV RNA. Caso o HDV RNA seja positivo o tratamento desta infecção deve ser indicado. De forma geral, os TR-PCR em tempo real conhecidos apresentam alta sensibilidade, sendo apropriado para detecção e quantificação do HDV (79). Katsoulidou, et al (2013) descreveu uma sensibilidade da TR-PCR de 95% com o limite de detecção de 43,2 (16,5 – 584,1) cópias/ml e de 50% para 2,18 (0,46 – 4,75) cópias/ml (79). Este método é útil no monitoramento da eficácia terapêutica, e pode auxiliar na compreensão da fisiopatologia da infecção pelo HDV, assim como pode auxiliar na avaliação clínica da doença hepática grave (79).

1.6.3 Biópsia hepática

O antígeno da hepatite delta, HDAg é expresso no núcleo das células hepáticas, onde podem ser detectados por imunohistoquímica. Com o advento dos ensaios moleculares para detecção do HDV RNA sérico, realizar biópsia hepática, um método invasivo, para realizar a imunohistoquímica se tornou um método diagnóstico ultrapassado, além de apresentar menor sensibilidade que os testes moleculares. O HDAg é detectável apenas transitoriamente em amostras de sangue coletadas no início da hepatite, antes do

aparecimento dos anticorpos (8, 69) motivo pelo qual não é utilizado rotineiramente no diagnóstico.

1.7 Avaliação do grau de fibrose hepática

1.7.1 Biópsia hepática

Apesar de ser um método invasivo, com possíveis complicações inerentes ao procedimento e com necessidade de internação hospitalar, a biópsia hepática com avaliação anatomo-patológica é o padrão ouro para avaliação da fibrose. Em 1996, Bedossa e colaboradores descreveram para hepatite C a classificação METAVIR, no qual avalia a atividade inflamatória e fibrose de acordo com características histopatológicas previamente estabelecidas (80). Posteriormente utilizado nas outras etiologias de doença hepática e sendo atualmente a classificação mais utilizada.

Nos últimos anos a biópsia hepática, que até então era a única ferramenta para avaliar o grau de fibrose, vem perdendo força com a introdução dos métodos não invasivos.

1.7.2 Elastografia hepática

Os métodos não invasivos para estimar o grau de fibrose hepática em substituição a biópsia têm sido cada vez mais estudados nas hepatites virais. Dentre eles, a elastografia hepática é o método com o maior número de artigos publicados, sendo referenciado pelos principais *guidelines* internacionais para estratificação dos graus de fibrose hepática nas hepatites B e C. Assim como faz parte das recomendações brasileiras, porém poucos estudos têm sido descritos na hepatite Delta (81).

Na hepatite B a elastografia hepática deve ser avaliada em conjunto com as transaminases (ALT). O padrão flutuante da inflamação hepática, típica da história natural da hepatite B crônica, pode ter interferência no resultado em KPa da elastografia (82). Poucos dados publicados se têm em pacientes com HDV, Romeo et al, realizou elastografia hepática em 11 pacientes com HDV sem evidências clínicas ou histológicas de cirrose, e nenhum mostrou valores iguais ou maiores a 11.9 kPa (65).

No entanto, esses métodos têm um alto custo limitando o uso em algumas regiões com alta prevalência de HDV como a região amazônica no Brasil, onde são necessários métodos baratos e fáceis de aplicar (83).

1.7.3 Escores para mensuração de fibrose hepática

Métodos não-invasivos foram testados para prever fibrose hepática em doença hepática crônica e muitos estudos foram publicados. A maioria deles foi descrita pela primeira vez em HCV e posteriormente foi aplicada em pacientes com HBV. Infelizmente, existem poucos dados relativos ao HDV. Alguns testes não-invasivos utilizam análises caras e não rotineiras, tornando difícil a sua utilização em áreas endêmicas para HDV, que são regiões de pouca infraestrutura e com população de baixa renda, como a região Amazônica. Essa área do país tem uma importante dificuldade de acesso aos procedimentos de média e alta complexidade, portanto essas áreas precisam de métodos baratos e de fácil aplicação (Quadro 1).

Quadro 1 – Escores para avaliação não invasiva de fibrose hepática.

Métodos não invasivos	Parâmetros/Variáveis
Delta Fibrosis Score (83)	Idade, albumina, GGT e colinesterase
SHASTA (125)	AST, ALT, albumina, bilirrubina total, ácido hialurônico e ykl-40
Fibrotest (59)	Idade, sexo, apolipoproteína A1, haptoglobina, ALT, GGT, alfa-2-macroglobulina e bilirrubina total
Fibrometer (126)	Idade, alfa-2-macroglobulina, ácido hialurônico, contagem de plaquetas, AST, tempo de protrombina e ureia
Hepascore (127)	Idade, sexo, alfa-2-macroglobulina, GGT, bilirrubina total e ácido hialurônico
Enhanced Liver Fibrosis (128)	Idade, ácido hialurônico, procolágeno PIIIP (<i>aminoterminal peptide of type III procollagen</i>) e metaloproteinase
Razão AST/ALT (87)	AST e ALT
FIB-4 (86)	Idade, contagem de plaquetas, ALT e AST
Forns (129)	Idade, contagem de plaquetas, GGT e colesterol total
APRI (85)	AST e contagem de plaquetas

Delta Fibrosis Score é até o momento o único escore descrito especificamente em pacientes com hepatite delta, em uma coorte europeia com HDV genótipo I. Porém a utilização da colinesterase como variável torna este escore difícil de ser aplicado na região amazônica, onde predomina o genótipo III (83).

Escores como, por exemplo, a relação AST/ALT, o APRI (*aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index*) e o FIB-4 (*fibrosis index based on the four factors*) são de baixo custo, utilizando exames laboratoriais realizados rotineiramente e seus cálculos são facilmente aplicáveis através de modelos matemáticos simples. Tendo em vista o baixo custo e a simplicidade o Ministério da Saúde do Brasil incorporou recentemente os escores APRI e FIB-4 como alternativas a mensuração da fibrose hepática avançada nos pacientes com monoinfecção pelo HCV (84).

O escore APRI foi descrito pela primeira vez em pacientes monoinfectados pelo HCV, consistindo em dois resultados laboratoriais (AST e plaquetas). Wai et al (2006), após

análises de correlação de variáveis laboratoriais e os diferentes graus de fibrose desenvolveu a fórmula $((AST \text{ (U/L)} / (LSN \text{ de AST})) / \text{plaquetas} (10^9/L)) \times 100$ (85).

FIB-4 foi primeiramente descrito para predizer fibrose hepática em pacientes coinfectados HIV/HCV, utilizando como base a relação entre 4 coeficientes (idade, AST, plaquetas, ALT). A partir dessas variáveis foi desenvolvida a fórmula $FIB-4 = \text{idade (anos)} \times AST \text{ (U/L)} / \text{plaquetas} (10^9/L) \times (ALT \text{ (U/L)})^{1/2}$ (86).

Razão AST/ALT foi descrita em 1998 por Sheth e colaboradores, como um método não invasivo para determinar o grau histopatológico relativamente a fibrose e atividade necroinflamatória em pacientes com hepatite C. Posteriormente foi tentado reproduzir em outras etiologias, mas com menor sensibilidade e especificidade (87, 88).

Portanto, os escores têm sido usados para avaliar a fibrose em outras doenças do fígado, mas o conhecimento sobre esses métodos não-invasivos em HDV ainda é muito limitado.

1.8 Tratamento

O tratamento adequado para hepatite delta crônica, ainda é tema bastante controverso, pois até a presente data, nenhum medicamento comprovou-se com boa eficácia no tratamento desta patologia. O interferon alfa no momento é a única terapia licenciada para o tratamento da hepatite D crônica (89, 90), sendo o interferon peguilado a apresentação mais utilizada. No entanto, apenas aproximadamente 25% dos pacientes que utilizam esse medicamento mantêm resposta viral sustentada (RVS) após um ano de tratamento (91). Os níveis de transaminases nestes casos normalizam em apenas 40 – 70% dos pacientes tratados e recaída ocorre em 60 – 97% dos casos (92). Considera-se RVS, carga viral do HDV indetectável 6 meses, após a interrupção do tratamento (91).

Alguns estudos foram desenvolvidos na tentativa de se encontrar uma terapêutica mais eficaz que a monoterapia com interferon. Porém estes estudos não foram

animadores mostrando que monoterapia com lamivudina, entecavir, adefovir, tenofovir, famciclovir e ribavirina ou terapia combinada com interferon e um nucleotídeo não se mostrou mais eficaz que a monoterapia com interferon (93-96).

Atualmente estão sendo exploradas opções terapêuticas alternativas em ensaios clínicos, os inibidores de prenilação são promissores e foram avaliados em pacientes com infecção por HDV crônica. Lonafarnib mostrou uma redução dose-dependente de níveis de RNA de HDV em pacientes após 28 dias de terapia (97). O inibidor de entrada de HBV myrcludex B também está sendo desenvolvido. Bogomolov e colaboradores (2016) descreveram o myrcludex B em pacientes com infecção crônica por hepatite D isoladamente ou em combinação com Peg-INF alfa 2a em comparação com pacientes tratados apenas com Peg-INF alfa 2a (98). Myrcludex B monoterapia foi associada com HDV RNA e HBV DNA diminuição e melhora dos níveis de ALT após 24 semanas de tratamento. O efeito antiviral foi mais pronunciado em combinação com Peg-INF alfa 2a (98). Estudos recentes que comparam os efeitos antivirais de Peg-INF alfa, Peg-INF lambda e entecavir em camundongos quiméricos de fígado humanos demonstraram que Peg-INF alfa e Peg-INF lambda reduziram a viremia do HDV, níveis séricos de HBsAg e níveis intra-hepáticos de RNA HDV genômico e antigenômico (99).

A duração da terapêutica também é controversa, não parecendo haver diferença entre um ou dois anos de tratamento em termos de RVS (91, 100, 101). De acordo com o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite B e coinfeções (2016), pacientes com viremia do HDV e transaminases elevadas devem iniciar tratamento com peg-interferon alfa associado a tenofovir ou entecavir por 48 semanas. Nos casos que após um ano de terapia ainda mantiverem níveis detectáveis de HDV RNA está indicado prolongar a terapêutica por mais 48 semanas, principalmente com valores de transaminases elevados (81). Estratégias semelhantes também foram sugeridas previamente por outros autores (91). Sugerimos um fluxograma, baseado na revisão bibliográfica sobre o tema (Figura 5).

Figura 5 – Fluxograma sugerido para o tratamento da hepatite delta.

O melhor marcador do sucesso terapêutico seria o clareamento do HBsAg, porém esse dado é raro na prática clínica (102). Sendo, portanto, a melhor forma de prever a resposta virológica sustentada a manutenção dos níveis de HDV RNA indetectáveis (91). O sucesso terapêutico pode estar relacionado com a diminuição dos níveis de HDV RNA e HBsAg (mesmo sem sua indetectabilidade) e normalização da ALT, estando associado com redução dos eventos relacionados a doença hepática (103, 104) (Figura 6).

Figura 6 – Marcadores de resposta terapêutica.

2. JUSTIFICATIVA

O vírus da hepatite delta apresenta ampla distribuição mundial e é endêmico na região da Amazônia Ocidental. Representa a forma mais grave de hepatite crônica de etiologia viral (43).

É uma importante causa de hepatite fulminante e carcinoma hepatocelular, particularmente na região da Amazônia Ocidental do Brasil, onde a doença é endêmica.

Poucos estudos avaliaram os aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais de uma coorte de pacientes em nosso país. No sentido de contribuir para uma melhor compreensão sobre a hepatite delta em nosso meio, propusemos a realização do presente estudo. O entendimento da realidade dessa doença pode contribuir para que políticas de saúde voltadas à prevenção da hepatite delta sejam mais efetivamente implementadas.

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral:

- Avaliar as características demográficas, epidemiológicas e clínicas de uma coorte de pacientes com hepatite delta acompanhados em um serviço de referência.

Objetivos Secundários:

- Avaliar a frequência da presença de doença hepática avançada;
- Avaliar as características da população atendida com idade ≤ 18 anos;
- Avaliar a acurácia de alguns métodos não invasivos na determinação dos diferentes graus de fibrose hepática identificados nesta população;

4. METODOLOGIA

4.1. Desenho e população do estudo

Trata-se de um estudo transversal, descritivo, com amostra de conveniência, de uma coorte de pacientes retrospectivamente identificados com diagnóstico de infecção pelo vírus da hepatite delta.

A população do estudo foi composta por pacientes acompanhados no Ambulatório Especializado em Hepatites Virais do Estado de Rondônia, matriculados entre novembro de 1996 a março de 2015. Dentre estes pacientes, foram selecionados aqueles com diagnóstico de hepatite delta.

Os pacientes selecionados, foram identificados a partir de “Livros de Registros” dos pacientes matriculados no ambulatório, que contêm informações gerais relativas a esses pacientes: nome completo, data de matrícula, data de nascimento, etiologia da hepatite viral. Utiliza-se um código alfanumérico, com as iniciais HRO (hepatites Rondônia) e um número atribuído, de acordo com a ordem de matrícula.

4.2. Local do estudo

O estudo foi realizado no Ambulatório Especializado em Hepatites Virais, pertencente ao Centro de Pesquisa em Medicina Tropical do Estado de Rondônia (CEPEM), situado na cidade de Porto Velho, Rondônia, Brasil. Desde 1996 o CEPEM é um centro de pesquisa integrado ao Centro de Medicina Tropical de Rondônia (CEMETRON). Em Rondônia, o CEMETRON é o único hospital terciário especializado em infectologia e doenças tropicais e o CEPEM o único centro de Referência em Hepatites Virais.

O estado de Rondônia, localizado na região Norte do país, está inserido na Amazônia Legal e situado na Amazônia Ocidental (Figura 7). De acordo com o censo demográfico do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) a população do estado

é de 1.562.409, sendo a população estimada para 2018 de 1.562.409. É o terceiro estado mais populoso da Região Norte. Possui 52 municípios, sendo o município mais populoso a capital Porto Velho (105).

O estado de Rondônia possui 4% da população indígena da Região Norte do país, com 13.076 pessoas, destas 9.217 residindo em terras indígenas e 3.859 fora de terras indígenas. A maior concentração é no estado do Amazonas (54%), Roraima (16%) e Pará (15%).

Figura 7– Mapa do Brasil com destaque para o Estado de Rondônia.

4.3. Seleção da Amostra

Foram incluídos os pacientes que apresentaram os seguintes critérios de inclusão e exclusão, a saber:

4.3.1. Critérios de inclusão

- Pacientes matriculados no Ambulatório Especializado em Hepatites Virais do Estado de Rondônia entre novembro de 1996 a setembro de 2015;

- Pacientes com diagnóstico sorológico de infecção pelo HBV;

- Pacientes com diagnóstico sorológico de infecção pelo HDV;

O critério diagnóstico de hepatite delta foi o estabelecido pelo Ministério da Saúde do Brasil (81): Presença de HBsAg e anti-HDV total reagentes ou HDV RNA. Todos os pacientes com marcador sorológico anti-HDV reagente encaminhados de outro serviço, realizavam obrigatoriamente teste confirmatório no laboratório do CEPEM ou LACEN (Laboratório Central).

4.3.2. Critérios de exclusão

- Pacientes com diagnóstico sorológico não confirmado após testes confirmatórios.

- Pacientes com prontuários danificados que impossibilitavam a coleta de dados.

4.4. Coleta de dados e variáveis do estudo

Mediante a listagem de pacientes com diagnóstico de hepatite delta, obtida através do serviço de registro de pacientes foi realizado levantamento dos prontuários médicos e coleta de dados clínicos e laboratoriais. A coleta de dados foi realizada através de um questionário padronizado (ANEXO I).

As variáveis selecionadas para análise foram agrupadas em diferentes categorias.

4.4.1. Variáveis sociodemográficas

- Sexo;
- Idade (em anos) no momento da matrícula no ambulatório;

- Idade (em anos) na última consulta;
- Idade (em anos) no momento da biópsia;
- Etnia;
- Naturalidade;
- Procedência;
- Fatores de transmissão (usuários de drogas endovenosas, diálise, múltiplos parceiros, história familiar de hepatopatia).

4.4.2 Variáveis laboratoriais

- 1- Hematológicas: hemoglobina (g/dL), neutrófilo (%), plaquetas (/L);
- 2- Bioquímicas: INR (*international normalized ratio*), albumina (g/dL), creatinina (mg/dL), glicemia de jejum (mg/dL), AST (U/L), ALT (U/L), sódio (mmol/L), bilirrubina total (mg/dL), alfafetoproteína (ng/ml);
- 3- Métodos sorológicos: HBsAg, anti-HBs, anti-HBc total, anti-HBc IgM, HBeAg, anti-HBe, anti-HDV IgG, anti-HCV e anti-HIV;
- 4- Biologia molecular: carga viral do HBV (PCR), carga viral do HDV (PCR "*in house*"), genotipagem do HBV, genotipagem do HDV;
- 5- Exames de imagem, EDA e biópsia hepática.

As variáveis laboratoriais hematológicas e bioquímicas foram analisadas referentes aos resultados dos últimos exames encontrados em prontuário.

A maioria dos marcadores sorológicos para hepatite B e delta foram realizados no laboratório de virologia do CEPEN utilizando a técnica de ELISA, a partir de 2002 eles estão sendo realizados no LACEN/RO utilizando a mesma técnica (kit DiaSorin). Os marcadores sorológicos utilizados nesse estudo foram primeiros marcadores registrados no ambulatório no momento da matrícula ou no momento do diagnóstico.

Para o PCR “*in house*” do HDV foi baseado em uma transcrição reversa-PCR em tempo real quantitativa (HDV RT-qPCR). Para a determinação da carga viral foram produzidos dois calibradores padrão, um cDNA HDV clonado em plasmídeo e um transcrito de RNA HDV. Para a determinação do genótipo do HDV foi utilizada a técnica de reação enzimática baseada em polimorfismo (RFLP) e posterior sequenciamento (58). Para este estudo foi utilizado o resultado do primeiro PCR realizado durante o acompanhamento.

4.4.3 Variáveis clínicas

- 1- Relativas à presença de comorbidades (malária, HIV, HCV);
- 2- Relativas aos sinais e sintomas de doença hepática avançada (ascite, esplenomegalia, circulação colateral, antecedente de encefalopatia hepática, hemorragia digestiva alta);
- 3- Relativas às intercorrências clínicas e internações;
- 4- Relativas ao tratamento;
- 5- Relativas à adesão do paciente.

Definiu-se como adesão ao seguimento clínico a ocorrência de pelo menos uma consulta ao ano, após o momento da matrícula.

As variáveis clínicas acima mencionadas e incluídas no estudo foram aquelas descritas em prontuário e observadas a qualquer tempo durante o seguimento clínico do paciente.

4.4.4. Avaliação do estadiamento da doença hepática

Em relação ao estadiamento da fibrose hepática, foram considerados os resultados obtidos através da biópsia hepática, de acordo com a classificação de METAVIR *Cooperative Study Group* (80).

Foram considerados os resultados de biópsia realizados nos últimos 5 anos de seguimento clínico, ou os resultados obtidos em qualquer momento do seguimento, quando o resultado era superior/igual a F3.

Biópsias hepáticas descritas no laudo como “inconclusivas” pelo patologista foram excluídas. A principal razão foi o número reduzido ou inexistente de espaços porta.

Todos os pacientes submetidos à biópsia hepática e que realizaram exames laboratoriais em período não superior a 6 meses a partir do momento da biópsia, tiveram também seu estadiamento de fibrose hepática também avaliado através da aplicação dos métodos não invasivos (razão AST/ALT, APRI e FIB-4). Os resultados obtidos pelos diferentes métodos foram então comparados.

4.4.5. Caracterização de doença hepática avançada

Neste estudo considerou-se presença de doença hepática avançada, em todos os pacientes que apresentassem em algum momento do seguimento:

- 1- Diagnóstico de cirrose hepática através de biópsia hepática OU
- 2- Endoscopia digestiva alta com presença de varizes esofágicas OU
- 3- Em exame ultrassonográfico de abdômen, a presença de pelo menos duas alterações das características do parênquima hepático (nodular, heterogêneo, diminuição do tamanho) OU
- 4- Em exame ultrassonográfico de abdômen, a presença de pelo menos uma alteração das características do parênquima hepático (nodular, heterogêneo, diminuição do tamanho) associada a presença de pelo menos uma alteração sugestiva de presença de hipertensão portal (ascite, circulação colateral, esplenomegalia, veia porta com diâmetro maior que 12mm).

Nesse estudo, características clínicas, como icterícia, hepatomegalia, esplenomegalia, não foram utilizados isoladamente como preditores de doença avançada.

Tais características poderiam ser consideradas como fator confundidor com outras doenças endêmicas na região amazônica.

4.5. Banco de dados

Os dados obtidos tendo como base uma ficha de informações previamente estabelecida (ANEXO I), foram transcritos para banco de dados informatizado, utilizando o programa EpiData Versão 3.0. Todos os dados inseridos foram conferidos pelo pesquisador executante após sua inserção.

4.6. Análise dos dados

As informações contidas no banco de dados do EpiData foram exportadas para o programa de estatística IBM® SPSS® Versão 24. Os gráficos foram desenvolvidos utilizando o programa GraphPad PRISM® versão 6.0.

Para as variáveis categóricas foram utilizadas análises de frequência, incluindo a porcentagem. Para as variáveis contínuas foram utilizadas análises descritivas e realizados testes estatísticos, paramétricos e não paramétricos.

Os parâmetros epidemiológicos, hematológicos e os escores testados foram comparados para os estádios de fibrose utilizando a ANOVA. Nas variáveis binárias (sexo) foram utilizadas o teste Qui-quadrado para determinar as diferenças significativas.

A razão AST/ALT e os escores APRI e FIB-4 foram comparados com os estádios de fibrose nas biópsias hepáticas e foram desenhadas as curvas *receiver-operating-characteristic* (ROC). Adicionalmente, foram calculadas as áreas sob a curva (AUROC), *p* valor e os intervalos de confiança de 95%. Após a realização das curvas, foram calculados os pontos de corte para a medida que maximiza a taxa de verdadeiros positivos (sensibilidade) e minimiza a taxa de falsos positivos (1-especificidade), ou seja, a

combinação de sensibilidade e 1-especificidade que mais se aproxima do canto superior esquerdo. Para os casos com significância ($p < 0,05$) na curva ROC, utilizando-se pontos de corte e tabulação cruzada, foram calculados sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) (106).

5. ASPECTOS ÉTICOS

A consulta dos prontuários dos pacientes foi iniciada após aprovação do presente estudo pelo Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do CEPEN/IPEPATRO sob protocolo número CAAE 46077215.9.0000.0011 (ANEXO III). E posteriormente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Paulo.

Os pacientes com acompanhamento regular assinaram o TCLE (ANEXO II). Por se tratar de estudo que envolve apenas a análise de prontuários, foi solicitada dispensa da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) nas situações que sua aplicação não foi possível.

6. RESULTADOS

6.1 Características sociodemográficas

No momento da pesquisa, março de 2015, foram identificados 6.116 pacientes matriculados no ambulatório de referência em hepatites virais do estado de Rondônia. Destes, 5.876 (96,1%) pacientes com diagnóstico confirmado de hepatites virais. Os restantes 240 (3,9%) não foram identificados como portadores de hepatite viral, sendo de outra etiologia, mais frequentemente autoimune.

Dos 4.101 pacientes com infecção pelo HBV, 224 (5,5%) tinham coinfecção com o vírus da hepatite D. Com base nessa primeira seleção, os prontuários clínicos foram separados e revisados os marcadores sorológicos. Após confirmação do diagnóstico de hepatite delta, conforme os critérios anteriormente descritos, foi realizada revisão completa do prontuário clínico, de acordo com a ficha de coleta de dados previamente estabelecida, sendo incluídos 205 pacientes para o atual estudo (Figura 8). Dezenove pacientes foram excluídos, 11 por não terem sorologias que confirmassem o diagnóstico e oito por terem os prontuários danificados ou não encontrados. Os 205 pacientes analisados e incluídos tinham uma média de 9 consultas, com desvio padrão de 9,1, variando de 1 a 54.

Figura 8– Fluxograma dos pacientes matriculados no ambulatório do CEPEM conforme as etiologias das hepatites virais.

Dos 205 pacientes selecionados, 132 (64,4%) eram do sexo masculino e 73 (35,6%) do sexo feminino. A idade média no momento da matrícula foi de 35,1 anos (6 – 71), sendo 22 (10,7%) pacientes com idade ≤ 18 anos. A idade média na última consulta foi

de 39,5 anos (10 – 78). Com relação ao grupo étnico, a amostra foi predominantemente parda (N=121/59%), seguido de indígena (N=34/16,6%), caucasiano (N=19/9,3%) e negro (N=14/6,8%), sendo esse dado não referido em 17 casos (8,3%). O contato familiar foi o fator de exposição mais relevante, sendo que 94 (45,9%) referiam contato familiar com hepatite B crônica e 25 (12,2%) referiam contato familiar com o HDV. Outros fatores de risco como o uso de drogas endovenosas ilícitas, hemodiálise, tatuagem, prática sexual com pessoas do mesmo sexo, foram praticamente ausentes na casuística analisada. As coinfeções HDV-HCV e HDV-HIV foram observadas em apenas 1,0% dos pacientes, respectivamente. Observou-se uma alta prevalência de infecção prévia por malária, chegando a atingir mais de 2/3 da população estudada (70,3%), em muitos casos mais de um episódio por pessoa (Tabela 1).

Tabela 1 – Características epidemiológicas dos pacientes com hepatite Delta.

Características dos pacientes	n=205
Idade na matrícula, média (DP)	35,1 (12,4)
Mínimo – Máximo	6 - 71
Idade na última consulta, média (DP)	39,5 (12,9)
Mínimo – Máximo	10 - 78
Sexo, n (%)	
Masculino	132 (64,4)
Feminino	73 (35,6)
Etnia, n (%)	
Caucasiano	19 (9,3)
Indígena	34 (16,6)
Pardo	121 (59,0)
Negro	14 (6,8)
Sem informação	17 (8,3)
Natural da Amazônia Ocidental, n (%)	168 (81,9)
Contato intrafamiliar, n (%)	
Familiar HBV	94 (45,9)
Familiar HDV	25 (12,2)
HSH, n (%)	3 (1,5)
UDEV, n (%)	3 (1,5)
Comorbidade, n (%)	146 (71,3)
HIV	2 (1,0)
HCV + Antecedentes de Malária	2 (1,0)
Antecedentes de Malária	142 (69,3)
Sem informação	7 (3,4)
Adesão ao seguimento*, n (%)	65 (31,7)

DP – desvio padrão; HSH – homem que faz sexo com homem; n – número; UDEV – usuário de drogas endovenosas

* Mínimo uma consulta por ano

A maioria dos pacientes incluídos, 168 (81,9%) eram naturais da Amazônia ocidental do Brasil, destes, 105 (62,5%) do estado de Rondônia (Figura 9), 41 (24,4%) do estado do Amazonas e 22 (13,0%) do estado do Acre.

Figura 9 – Mapa dos Municípios do Estado de Rondônia. Distribuição da prevalência de HDV segundo o Município.

6.2 Características laboratoriais

Foram realizadas análises hematológicas (hemoglobina, neutrófilos e plaquetas) e bioquímicas (INR, ALT, AST, bilirrubina total, albumina, creatinina e alfafetoproteína) (Tabela 2).

Tabela 2 – Características laboratoriais dos pacientes com Hepatite Delta.

Características dos pacientes	n	Último
Hemoglobina (g/dL), média (DP) Mínimo – Máximo	148	13,0 (1,8) 5,1-18,5
Neutrófilos (/mm ³), média (DP) Mínimo – Máximo	143	2.867 (1.533) 616-14.094
Plaquetas (x10 ³ /μL), média (DP) Mínimo – Máximo	136	133 (80) 16-490
INR, média (DP) Mínimo – Máximo	34	1,36 (0,4) 0,79-2,31
ALT (U/L), média (DP) Mínimo – Máximo	149	67 (149,0) 5-1.590
AST (U/L), média (DP) Mínimo – Máximo	149	67 (121,5) 10-1260
Bilirrubina total (mg/dL), média (DP) Mínimo – Máximo	135	1,4 (1,6) 0,2-13,5
Albumina (g/dL), média (DP) Mínimo – Máximo	92	3,8 (0,6) 1,8-5,1
Creatinina (mg/dL), média (DP) Mínimo – Máximo	64	1,0 (0,5) 0,3-5,5
Alfafetoproteína (ng/ml), média (DP) Mínimo – Máximo	83	23,1 (134,5) 0,1 – 1210,0

6.3 Marcadores sorológicos

No momento da matrícula 97,5% (198/205) dos pacientes tinham marcador sorológico reagente para anti-HDV, sendo que quatro pacientes tinham o marcador sorológico anti-HDV não reagente e um indeterminado. Todos esses pacientes apresentaram modificação desse perfil sorológico, com presença deste marcador no decorrer do seguimento ambulatorial.

Os marcadores sorológicos no momento da matrícula são descritos no Quadro 2. Vale mencionar que no momento da inclusão não se identificou em prontuário nenhum

exame sorológico para HBV em sete pacientes. Por os mesmos apresentarem confirmação de exame para hepatite delta, com resultado de genotipagem para HDV em prontuário, optamos por incluir esses pacientes no estudo.

Quadro 2 – Marcadores sorológicos dos pacientes no momento da matrícula.

n (%)	Anti-HBc T	Anti-HBc IgM	HBsAg	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HDV
Reagente	167 (98,2)	2 (1,9)	193 (97,5)	3 (2,2)	16 (8,4)	164 (85,0)	198 (97,5)
Não reagente	3 (1,8)	103 (96,3)	1 (0,5)	132 (97,1)	170 (89,0)	27 (14,0)	4 (2,0)
Indeterminado	0 (0,0)	1 (1,9)	4 (2,0)	1 (0,7)	5 (2,6)	2 (1,0)	1 (0,5)
Total	170 (82,9)	107 (52,2)	198 (96,6)	136 (66,3)	191 (93,2)	193 (94,1)	203 (99,0)
Não avaliado	35 (17,1)	98 (47,8)	7 (3,4)	69 (33,7)	14 (6,8)	12 (5,9)	2 (1,0)

6.4 Caracterização genotípica

A determinação do genótipo do HDV foi obtida em 78 pacientes, destes 74 (94,9%) eram genótipo III e 4 pacientes (5,1%) genótipo I (Figura 10).

Figura 10– Fluxograma de caracterização dos genótipos do vírus da hepatite Delta.

Com relação aos 4 pacientes com genótipo I, dois eram naturais do estado do Acre, um do Amazonas e um de Rondônia. De acordo com a etnia, 16 indígenas tiveram determinação do genótipo, sendo todos genótipo III. De 4 pacientes do genótipo I, 3 (75%) tinham sinais de doença avançada, contra 27 (36,5%) do genótipo III (Tabela 3).

Tabela 3 – Características dos pacientes com HDV genótipo I.

Paciente	Idade	Sexo	Etnia	Natural	Epidemiologia	Clínica
HRO 1055	39	F	Branco	Amazonas	UDEV	Cirrose e óbito
HRO 2421	38	M	Pardo	Acre	-	Sem DHA
HRO 3294	46	F	Branco	Acre	-	Cirrose
HRO 4204	44	F	Pardo	Rondônia	-	Cirrose

DHA – doença hepática avançada

6.5 Caracterização por exame de imagem

Dos 205 pacientes, 173 (84,4%) realizaram ultrassonografia de abdômen superior. E dentre eles, 83 pacientes (47,9%) apresentavam sinais de doença hepática avançada através deste exame de imagem realizado em algum momento do seguimento clínico, conforme critérios já previamente descritos na metodologia deste estudo.

Oitenta pacientes foram submetidos à endoscopia digestiva alta e 51 (63,7%) apresentavam varizes esofágicas (Tabela 4).

Tabela 4 – Características de exames de imagem dos pacientes com HDV.

Características à ultrassonografia	n= 173
Parênquima Hepático, n (%)	
Heterogêneo	88 (50,9)
Nodular	52 (30,1)
Diminuído	34 (19,6)
Aumento do diâmetro da veia porta, n (%)	41 (23,7)
Ascite, n (%)	39 (22,5)
Esplenomegalia*, n (%)	83 (48,0)
Características à endoscopia digestiva alta	n=80
Varizes esofágicas, n (%)	51 (63,7)

*10 pacientes tinham sinais clínicos de esplenomegalia sem outros achados de doença hepática

6.6 Avaliação da fibrose hepática por biópsia

Da população total estudada, 85 pacientes (41,5%) realizaram biópsia hepática em algum momento do seguimento clínico. Dentre todas as biópsias realizadas, em 11 (12,9%) casos, o laudo anatomopatológico resultou inconclusivo, baseando-se no número reduzido de espaços porta apresentado. Estes casos foram excluídos da análise.

Para melhor compreensão do grau de fibrose hepática dos pacientes incluídos no estudo, como previamente descrito na metodologia, foram selecionadas exclusivamente os casos em que as biópsias pudessem representar o grau de fibrose dos pacientes no momento da análise dos dados gerais da casuística analisada. Desta forma, dentre as 74 biópsias consideradas conclusivas, apenas 47 foram incluídas para avaliação de fibrose hepática para fins de análise no presente estudo (Figura 11) e (Tabela 5).

Figura 11– Fluxograma dos pacientes com hepatite Delta submetidos a biópsia hepática para caracterização do atual grau de fibrose.

Tabela 5 – Classificação das biópsias hepáticas segundo a classificação de METAVIR.

Características dos pacientes	Biópsias conclusivas	Biópsias atuais*
Grau de fibrose, n (%)	n=74	n=47
F0	8 (10,8)	0 (0,0)
F1	13 (17,6)	6 (12,8)
F2	17 (23,0)	5 (10,6)
F3	18 (24,3)	18 (38,3)
F4	18 (24,3)	18 (38,3)

*Biópsias com resultado METAVIR superior/igual a F3 OU biópsia realizada nos últimos 5 anos de seguimento clínico

6.7 Terapêutica

Dos 205 pacientes incluídos, 79 (38,5%) receberam terapêutica para HBV/HDV em algum momento do seguimento clínico. A terapêutica mais utilizada foi a monoterapia com interferon convencional 34 (43,0%), seguida de peg-interferon associado a entecavir (29,1%). Vinte pacientes (25,0%) fizeram terapêutica sem interferon (convencional ou peguilado), ou seja, apenas com nucleotídeos (Tabela 6). Porém ao cruzarmos esses dados com os pacientes com sinais de doença avançada, observamos que 90% (18/20) que receberam monoterapia com análogos nucleotídeos tinham sinais de doença hepática avançada sendo, portanto contraindicado o uso de interferon.

Tabela 6 – Principais esquemas terapêuticos utilizados no tratamento dos pacientes com hepatite Delta.

Terapêutica	n=79
Lamivudina	5
Entecavir	13
Interferon convencional	34
Peg-interferon	2
Lamivudina + adefovir	2
Peg-Interferon + entecavir	23

6.8 Adesão ao seguimento

Dos 205 pacientes, apenas 65 (31,7%) apresentavam adesão ao seguimento, ou seja, pelo menos uma consulta por ano. Muitos não apenas apresentavam má adesão, como até mesmo abandono de seguimento, com mais de 5 anos sem comparecer à consulta.

6.9 Caracterização da doença hepática avançada

Dentre os 205 pacientes analisados, 92 (44,9%) apresentavam características de doença hepática avançada conforme discutido na Metodologia no item 4.4.5. Oitenta e três pacientes tinham sinais de doença hepática avançada através da USG, 9 pacientes que não foram submetidos a este exame tiveram sinais de doença hepática avançada, sendo 7 diagnósticos clínicos de ascite, um paciente com varizes esofágicas e um com fibrose grau 4 (METAVIR) à biópsia. Dentre eles, 65 foram submetidos à EDA e 51 apresentavam varizes esofágicas. Dentre os 45 pacientes que apresentavam ascite, 33 realizaram EDA e dentre estes, 29 (87,9%) apresentavam varizes esofágicas. No total foram descritos 4 pacientes com hemorragia digestiva alta. Dois desses não chegaram a ser submetidos à EDA, um evoluiu a óbito e outro foi transferido para centro de referência de transplante hepático. Dos 92 pacientes com sinais de doença hepática crônica avançada, 63 (68,5%) tinham algum sinal de doença hepática descompensada (Figura12).

EH - encefalopatia hepática; DHC - doença hepática crônica; HAV - vírus da hepatite A; HBV - vírus da hepatite B; HBV/HDV - vírus da hepatite B e delta; HCV - vírus da hepatite C; HCC - carcinoma hepatocelular; HDA - hemorragia digestiva alta; Tx - transplante.

Figura 12–Fluxograma dos pacientes atendidos no CEPEM, com ênfase nos sinais de doença hepática avançada e doença hepática descompensada.

Dos 173 pacientes que realizaram exame de imagem, 9 (5,2%) foram diagnosticados com carcinoma hepatocelular. Com relação aos 9 pacientes diagnosticados com HCC, todos tinham sinais clínicos e/ou ultrassonográficos sugestivos de cirrose hepática. Quatro foram transplantados, sendo que um deles evoluiu a óbito pós-transplante, um foi submetido à quimioembolização, 3 evoluíram a óbito e um perdeu o seguimento e não se tem informações com relação ao desfecho. No total o transplante hepático foi realizado em 10 pacientes, todos através do programa de Tratamento Fora de Domicílio (TFD).

De acordo com informações em prontuário 24,4% (50/205) dos pacientes em algum momento do seguimento, foram encaminhados para internação hospitalar, sendo 4 por causas desconhecidas e 46 por consequências da doença hepática crônica conforme descrito na Tabela 7.

Trinta e dois pacientes (15,6%) tiveram o óbito confirmado, sendo 27 (12,7%) por causa hepática, um de causa externa e 4 de causa desconhecida pela equipe do ambulatório. Dos óbitos por carcinoma hepatocelular um deles foi pós transplante hepático. Dos óbitos por “Insuficiência hepática”, 5 deles o paciente se encontrava em lista ativa de transplante. Trinta e nove pacientes perderam o seguimento no ambulatório já com sinais de doença hepática avançada, muitos com internações por ascite refratária, hemorragia digestiva alta e encefalopatia hepática, porém não se conseguiu chegar à confirmação do óbito.

Tabela 7 – Complicações da doença hepática descompensada.

Complicações DHC	
Internação Hospitalar	n=50
Ascite	5
Hemorragia digestiva alta	11
Encefalopatia hepática	3
Síndrome hepatorenal	1
EH + Ascite	4
EH + HDA	1
Cirrose descompensada	8
Quimioembolização	1
Transplante hepático	6
Causa desconhecida	4
Carcinoma Hepatocelular	n=9
Transplante hepático	3
Quimioembolização	1
Óbito	3
Transplante + Óbito	1
Sem informação	1
Transplante Hepático	n=10
Óbitos	n=32
Insuficiência hepática*	19
Carcinoma hepatocelular	4
Hemorragia digestiva alta	2
Encefalopatia hepática	1
Hepatite fulminante	1
Causa externa	1
Causa desconhecida	4

* sem cauda definida

6.10 Avaliação da população pediátrica

Dos 205 pacientes com diagnóstico sorológico de hepatite delta, no momento do diagnóstico, 22 (10,7%) tinham idade ≤ 18 anos, variando entre 6 e 18 anos, com maior prevalência de distribuição entre os 15 a 18 anos. Assim como na população adulta, o sexo masculino foi o mais acometido, com 59,1% (13/22) dos casos. Todos os 22 pacientes eram naturais e procedentes da região da Amazônia Ocidental. Com relação à etnia, quase

metade da população pediátrica era composta de indígenas, predominantemente naturais da cidade de Guajará-Mirim, Rondônia. O aspecto epidemiológico mais importante foi o histórico de membros da família infectados pelo HBV 59,1% (13/22), sendo predominantemente o contado materno e fraterno. Com relação à coinfecção pelo HBV/HDV, 27,3% (6/22) tiveram contado intrafamiliar, sendo 2 materno e 4 fraterno (Tabela 8).

Tabela 8 – Características epidemiológicas da população de pacientes com idade inferior ou igual a 18 anos

Características dos pacientes	n= 22
Idade no diagnóstico, média (DP)	14,7 (3,1)
Mínimo – Máximo	6 – 18
Sexo, n (%)	
Masculino	13 (59,1)
Feminino	9 (40,9)
Etnia, n (%)	
Caucasiano	1 (4,5)
Indígena	10 (45,5)
Pardo	8 (36,4)
Negro	3 (13,6)
Contato intrafamiliar, n (%)	
HBV	13 (59,1)
HDV	6 (27,3)

Dos 22 pacientes pediátricos coinfectados com HBV/HDV, 3 (13,6%) pacientes internaram por hepatite aguda, sendo que 2 evoluíram com hepatite fulminante e óbito, 4 (18,2%) apresentavam características de doença hepática avançada, 13 (59,1%) não tinham sinais de doença hepática crônica avançada e 2 (9,1%) não foram avaliados (Figura 13).

Um dado importante da nossa coorte pediátrica foi que 19 dos 20 pacientes com doença hepática crônica, eram não aderentes ao seguimento. Dificultando dessa forma uma melhor avaliação e coletas de dados com relação à mortalidade e progressão da doença desses pacientes.

Bx: biópsia; DHC: doença hepática crônica; EH: encefalopatia hepática; HBV/HDV: vírus da hepatite B e delta; HDA: hemorragia digestiva alta; VE: varizes esofágicas; VP: veia porta.

Figura 13 – Fluxograma de distribuição dos pacientes com idade inferior ou igual a 18 anos conforme a forma clínica e evolução da doença hepática.

6.11 Avaliação da fibrose hepática por métodos não invasivos

6.11.1 Métodos não invasivos

Os métodos não invasivos (APRI, FIB-4 e razão AST/ALT) foram calculados em todos os pacientes que tinham no momento da matrícula exames laboratoriais suficientes para o cálculo. Desta forma, foi possível calcular o escore APRI ou FIB-4 ou razão AST/ALT em 175, 174 e 195 pacientes respectivamente, conforme Tabela 9.

Tabela 9 – Avaliação da fibrose hepática por biomarcadores.

Score	n avaliado	Média (DP)	Min-Max	Cut-off	n (%)
APRI ⁽⁸⁵⁾	175	1,85 (2,83)	0,85-20,54	>2,0 <0,5	43 (21,0) 50 (24,4)
FIB-4 ⁽⁸⁶⁾	174	2,59 (2,71)	0,16-15,62	>3,25 <1,45	42 (20,5) 71 (34,6)
AST/ALT ⁽⁸⁷⁾	195	1,03 (0,40)	0,35-3,39	>1,0 <0,5	93 (45,4) 5 (2,4)

Dos 174 pacientes que foram calculados APRI e FIB-4 concomitantes, 52 (29,9%) apresentavam APRI >2 e/ou FIB-4 >3,25. Sendo que 32 tinham ambos os escores sugestivos de doença avançada e 20 tinham ou um ou outro escore acima do *cut-off* estipulado.

6.11.2 Acurácia dos métodos não invasivos com relação a biópsia hepática

Conforme acima mencionado, 52 pacientes tinham análises hematológicas e bioquímicas no período da biópsia hepática, sendo dessa forma possível calcular os scores APRI e FIB-4 e compará-los com o grau de fibrose hepática por biópsia (METAVIR). Dois pacientes foram excluídos por terem transaminases com valores acima de 8 vezes dos valores de referência. Sendo portando avaliado a acurácia em 50 pacientes (Figura 14).

Figura 14– Fluxograma dos pacientes com hepatite Delta incluídos para avaliação de métodos não invasivos de análise da fibrose hepática.

A idade média no momento da biópsia foi de 35,6 anos. De acordo com os estágios de fibrose por biópsia hepática 4 (8,0%) pacientes foram classificados como F0, 8 (16,0%) como F1, 11 (22,0%) como F2, 11 (22,0%) como F3 e 16 (32,0%) como F4. A partir da classificação METAVIR, para melhor avaliar os métodos não invasivos, estratificamos os pacientes em três diferentes grupos: fibrose significativa (F2, F3 e F4), fibrose avançada (F3 e F4) e cirrose (F4). De acordo com os grupos, 38 (76,0%) tinham fibrose significativa, 27 (54,0%) tinham fibrose avançada e 16 (32,0%) com cirrose (Tabela 10).

Tabela 10 – Estratificação da fibrose hepática conforme a classificação de METAVIR.

Características dos pacientes	n=50
Classificação da fibrose por grupo, n (%)	
Fibrose significativa (F2, F3 e F4)	38 (76,0)
Fibrose avançada (F3 e F4)	27 (54,0)
Fibrose intensa/ cirrose (F4)	16 (32,0)

* através de exame de ultrassonografia

As curvas ROC foram projetadas para detecção de fibrose através dos escores não invasivos nos três diferentes grupos (fibrose significativa, fibrose avançada, e cirrose).

As áreas sob a curva ROC para a detecção de fibrose significativa foram de 0,550 para a razão AST/ALT ($p=0,601$), 0,853 para o APRI ($p<0,001$) e 0,853 para o FIB-4 ($p<0,001$) (Gráfico 2). Com relação a fibrose avançada foram de 0,517 para a razão AST/ALT ($p=0,838$), 0,839 para o APRI ($p<0,001$) e 0,781 para o FIB-4 ($p=0,001$) (Gráfico 3). Por fim, na cirrose foram 0,640 para a razão AST/ALT ($p=0,114$), 0,671 para o APRI ($p=0,053$) e 0,701 para o FIB-4 ($p=0,023$) (Gráfico 4).

As AUROC para a razão AST/ALT foram inferiores a 0,70 e não foram significativamente diferentes de 0,05 para detectar qualquer estágio de fibrose, assim como para o escore APRI na detecção de cirrose.

Gráfico 2– Curva de ROC dos marcadores não invasivos, razão AST/ALT, APRI e FIB-4 para detecção de fibrose significativa ($F \geq 2$).

Gráfico 3– Curva de ROC dos marcadores não invasivos, razão AST/ALT, APRI e FIB-4 para detecção de fibrose avançada ($F \geq 3$).

Gráfico 4 – Curva de ROC dos marcadores não invasivos, razão AST/ALT, APRI e FIB-4 para detecção de cirrose (F=4).

Para todas as curvas AUROC foram calculadas *cut-offs* (106). As curvas com significância ($p < 0,05$) serão descritas a seguir. Para a fibrose significativa, o *cut-off* para o APRI foi de 0,708 (sensibilidade de 84%, especificidade de 92%, valor preditivo positivo de 97% e valor preditivo negativo de 65%) e FIB-4 foi de 1,36 (sensibilidade de 76%, especificidade de 92%, valor preditivo positivo de 97% e valor preditivo negativo de 55%). Para a fibrose avançada, o *cut-off* do APRI foi de 0,933 (sensibilidade de 89%, especificidade de 74%, valor preditivo positivo de 80% e valor preditivo negativo de 85%) e FIB-4 foi de 1,36 (sensibilidade de 81%, especificidade de 65%, VPP de 73% e VPN 75%). Finalmente, na cirrose, o *cut-off* do FIB-4 foi de 2,265 (sensibilidade de 62%, especificidade de 79%, valor preditivo positivo de 59% e valor preditivo negativo de 82%) (Quadro 3).

Quadro 3 – Área sob a curva para os escores não invasivos (AST/ALT, APRI e FIB-4) de acordo com os graus de fibrose hepática por biópsia.

Escore	Fibrose significativa (F≥2)			Fibrose avançada (F≥3)			Cirrose (F4)		
	AST/ALT	APRI	FIB-4	AST/ALT	APRI	FIB-4	AST/ALT	APRI	FIB-4
AUROC	0,55	0,853	0,853	0,517	0,839	0,781	0,64	0,671	0,701
p	0,601	<0,001*	<0,001*	0,838	<0,001*	0,001*	0,114	0,053	0,023*
95% IC	0,387 – 0,714	0,703 – 1,000	0,750 – 0,956	0,352 – 0,682	0,722 – 0,956	0,652 – 0,910	0,466 – 0,813	0,522 – 0,820	0,553 – 0,850
Cut-off*	1,18	0,71	1,36	0,96	0,93	1,36	0,96	0,66	2,26
Sens	34%	84%	76%	52%	89%	81%	62%	94%	62%
Espec	92%	92%	92%	65%	74%	65%	65%	41%	79%
VPP	93%	97%	97%	64%	80%	73%	45%	43%	59%
VPN	31%	65%	55%	54%	85%	75%	79%	93%	82%
Acurácia	48	86	80	58	82	74	64	58	74

7. DISCUSSÃO

Foi possível observar a partir dos resultados de nosso estudo que as hepatites B e delta ainda representam um importante problema de saúde pública na Amazônia brasileira. Dentre os 4.101 casos de hepatite B identificados e acompanhados no Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia, 224 casos de coinfeção hepatite B/delta foram identificados no período analisado. A proporção de casos de hepatite B dentre os casos identificados foi 2,3 vezes superior à proporção observada de casos de hepatite C no mesmo período. Dados prévios do Ministério da Saúde do Brasil já revelam que Porto Velho é a segunda capital brasileira com a maior taxa de detecção de hepatite B, com 25,6 casos por 100 mil habitantes, sendo que a média brasileira é de 6,5 casos por 100 mil habitantes (107).

Em relação à procedência, a grande maioria dos pacientes incluídos referia como local de nascimento, a Amazônia Ocidental (81,9%) e dentre eles 51,2% nascidos no estado de Rondônia. O Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde revela que no período de 1999 a 2017, foram notificados no Brasil 3.833 casos confirmados de hepatite delta. Ainda de acordo com este documento a maior ocorrência se dá na região Norte do país, com 75,0% dos casos notificados. É possível se supor que parcela expressiva dos casos notificados fora da Amazônia (25% do total dos casos notificados), na verdade sejam originários da Amazônia, mas busquem atendimento médico em outros locais e neste momento tenham sua doença notificada em diferentes regiões. No entanto, não há dados que comprovem essa hipótese (107).

Com relação ao critério raça/cor, a maioria dos casos analisados em nossa casuística se autodeclararam pardos (59%). Indígenas compuseram 16,6% dos casos analisados. De acordo com o Ministério da Saúde do Brasil, entre 1999 a 2017, a proporção de indígenas com hepatite delta no território nacional foi em média 7,1% dos casos. Esta proporção revela-se bem inferior à proporção observada em nosso estudo (107). Esse dado

poderia sugerir uma maior prevalência de HDV nas populações indígenas no estado de Rondônia ou simplesmente revelar uma maior proximidade do atendimento médico da população indígena e portanto uma busca ativa mais eficaz entre a equipe médica do CEPEM e a SESAI. A parceria atualmente instituída entre essas instituições proporciona aplicação de teste rápido para hepatite B anual nas comunidades indígenas locais o que poderia incrementar o número de pacientes identificados. O CEPEM faz atendimentos periódicos em Guajará Mirim, a cidade mais próxima das principais reservas indígenas do estado. Outro aspecto importante a ser comentado e que atinge de forma expressiva as comunidades indígenas do estado de Rondônia é a dificuldade de cobertura vacinal adequada nessa população, que por apresentar hábitos migratórios frequentes, de forma geral, tem dificuldades para completar o esquema vacinal adequado de 3 doses, conforme preconizado. Este fato poderia estar contribuindo para uma maior transmissão de hepatite B/delta e dessa forma aumentar a taxa de detecção observada, tanto na população indígena quanto em outras populações especiais como as comunidades ribeirinhas com acesso mais difícil a Porto Velho.

Em relação à composição de gêneros na amostra analisada, entre os 205 casos de hepatite delta houve predomínio de indivíduos do sexo masculino, 64,4% (132/205). Este aspecto já havia sido observado em outros estudos dentro e fora do Brasil (36, 41). No entanto, no município de Lábrea, no estado do Amazonas, Braga *et al.* (2004), não encontrou diferença entre sexos entre casos de hepatite delta analisados (37).

Quando se considera todos os casos de hepatite delta notificados no Brasil desde 1999, observa-se uma leve predominância de pacientes do sexo masculino (57,2%), apesar de que nos últimos anos se observe uma tendência à diminuição da relação entre homens e mulheres (107). Estudos em outras regiões do mundo revelam dados semelhantes, com proporção no sexo masculino de 60% em Londres, 76% na Espanha, 74% na Alemanha e 74% na Califórnia (EUA) (108-111).

Em relação à faixa etária dos pacientes identificados em nosso estudo, observamos uma média de idade de 35 anos, à consulta inicial. Trata-se, portanto de uma população um pouco mais jovem que o habitualmente descrito nas populações afetadas por esse agravo, em outras regiões do mundo. Em Londres, a idade média foi de 40 anos (108), 39 anos na Alemanha (110) e 47 anos na Califórnia (111). Apenas na Espanha, observa-se um estudo que descreve população de pacientes com hepatite delta particularmente mais jovem, com idade média de 29 anos (109).

No Brasil, dados do Ministério da Saúde revelam que a distribuição etária dos casos notificados de hepatite D de 1999 até 2017 demonstra que a população infectada é caracteristicamente jovem, confirmando os dados de nosso estudo. No Brasil 51,6% dos casos notificados possuem idade entre 20 a 39 anos e aproximadamente 16,1% dos casos apresentam idade superior a 50 anos. Também em outro estudo no Estado do Acre a média de idade foi de 38 anos (41). Uma população jovem e economicamente ativa que sofre impacto importante da morbimortalidade causada pelos vírus da hepatite B e delta.

Ainda em nossa casuística, 22 pacientes (10,7%) apresentavam, no momento da matrícula, idade inferior ou igual a 18 anos. É possível se supor que a faixa etária predominantemente mais jovem observada em nossa casuística, tenha associação com a forma de transmissão da hepatite B/delta relatada. Cerca de 50% dos pacientes analisados referiam algum contato familiar próximo (pais ou irmãos) com este diagnóstico, o que faz supor que os pacientes do estado de Rondônia tenham exposição a esse agente já nos primeiros anos de vida, explicando dessa forma a faixa etária observada em nosso estudo. De acordo com os dados encontrados nos prontuários analisados 45,9% dos pacientes relatavam contato familiar com HBV e 12,2% com o HDV. O mesmo tipo de antecedente epidemiológico, ou seja, histórico de pais ou irmãos infectados pelos vírus da hepatite B/delta já foram relatados por outros autores que avaliaram esse mesmo aspecto na Amazônia brasileira (112, 113).

Interessante comentar, no entanto, que a análise retrospectiva dos prontuários, não nos permitiu observar qual porcentagem dos familiares teria sido submetida às sorologias investigatórias para hepatites virais. A nosso ver, uma avaliação mais rigorosa nesta população deveria ser feita mais rotineira, de forma a se garantir a detecção de outros possíveis casos e mesmo de se melhor caracterizar o tipo de transmissão predominante nesta região geográfica, para que estratégias de intervenção vacinal específicas para essa região fossem analisadas e eventualmente ofertadas.

Alguns outros fatores de exposição descritos como associados à transmissão da hepatite delta em outras regiões do mundo, tais como o uso de drogas endovenosas, hemodiálise, tatuagem e hábito sexual entre homens, em nossa casuística foram praticamente inexistentes, variando entre 0 e 1,5%. Buti *et al.* (2011) estudando uma coorte de pacientes com HDV na Espanha observou que 40,9% dos pacientes relatavam histórico de uso de drogas endovenosas (109). Outras coortes europeias de pacientes com hepatite delta apontam que em torno de 30% dos pacientes coinfetados com HBV/HDV possuem evidências sorológicas de exposição ao vírus da hepatite C (9). Gish e colaboradores (2013), desta vez na Califórnia, Estados Unidos da América observou o mesmo tipo de antecedente, 26% de UDEV (111). É possível se supor que a rara frequência de uso de drogas endovenosas ilícitas observadas em nossa casuística explique a baixa prevalência observada de outras coinfeções como com o HCV (1%) ou com o HIV (1%) .

Com relação à população vivendo com HIV/AIDS, estudos em outras regiões do Brasil revelam uma frequência significativamente baixa de coinfeção com o HDV. Estudo de prevalência do HDV em pacientes coinfetados com HIV/HBV no estado de São Paulo mostrou taxa de 1,2% de HDV (39). Dados semelhantes são descritos mesmo em áreas endêmicas, como na Amazônia Ocidental, onde foi descrito uma prevalência 34,4% na população geral (41) e prevalência significativamente menor, de 9,4% entre pacientes coinfetados HIV/HBV (40).

Já em outros países, particularmente entre pessoas que vivem com HIV/aids e relatam uso prévio de drogas endovenosas ilícitas, a prevalência de hepatite delta parece ser bastante superior. Soriano *et al.* (2011), descreveu uma população de 422 pacientes coinfectados com HIV/HBV de 93 centros da Europa, Israel e Argentina, com uma prevalência de anti-HDV geral de 14,5%, sendo significativamente maior entre UDEV (42,3%) (114). Na Espanha, em outra casuística, a frequência descrita foi de 20% (115). Em Taiwan observou-se uma prevalência de 10,1% (38/375) em pacientes HIV (116). Já Chang *et al* (2011), ao subdividir a população estudada em sub grupos encontrou uma prevalência de HDV de 75,4% nos pacientes com HIV - UDEV e de 9,3% nos HIV não UDEV (117). Portanto, conforme já discutido anteriormente é plausível se supor que a baixa frequência de uso de drogas endovenosas ilícitas observadas na população analisada explique a baixa prevalência de coinfecção HDV/HIV ou HDV/HCV.

Em relação à avaliação e análise dos exames laboratoriais dos pacientes analisados é importante comentar a particular dificuldade observada para sua análise em nossa casuística. Para muitos pacientes, os dados laboratoriais anotados em prontuário eram extremamente escassos. O exame laboratorial mais frequentemente encontrado foram às enzimas celulares hepáticas, ALT e AST. No entanto, mesmo para esse exame laboratorial apenas 72% dos prontuários apresentavam essa informação disponível na última consulta momento em que foram preferencialmente analisadas as informações para a confecção desse trabalho.

Da mesma forma, em apenas 16% dos prontuários analisados foi possível realizar os cálculos dos escores MELD, Child-Pugh, ou avaliar INR, pela paucidade de informações disponíveis em prontuários. A ausência de prontuário eletrônico ou de cópia de exames anexados ao prontuário, com certeza dificultou a análise proposta.

Em relação aos dados relativos aos marcadores sorológicos do HBV e do HDV utilizamos apenas os dados observados no momento da matrícula do paciente no ambulatório ou em primeiras consultas.

No momento da matrícula, 97,5% (198/205) dos pacientes tinham marcador sorológico reagente para anti-HDV, dois dos pacientes não tinham sorologia anti-HDV no momento da matrícula, não se sabendo exatamente se foram infectados antes ou depois desta. Os quatro que tinham o marcador sorológico anti-HDV não reagente no momento da matrícula adquiriram o HDV por provável superinfecção no decorrer do seguimento. Vale mencionar que no momento da inclusão não se identificou em prontuário nenhum exame sorológico para HBV de sete pacientes, porém os mesmos tinham sorologia anti-HDV reagente. Quatro dos sete possuem genotipagem para HDV em prontuário. Tendo em conta que para o diagnóstico de hepatite D é necessário o HBV e que em nosso serviço sorologias para HDV são solicitadas apenas em pacientes sabidamente HBV, optamos por incluir esses pacientes no estudo. Os três pacientes com apenas sorologia anti-HDV positivas já tinham sinais de doença hepática avançada no momento do diagnóstico, o que dá força a inclusão desses pacientes.

Em relação aos marcadores sorológicos para hepatite B, neste momento do seguimento clínico, apenas 8,4% apresentavam a presença do HBeAg, marcador sorológico de replicação. Esse dado confirma o já descrito por outros autores que descrevem que a presença do HDV parece estar frequentemente associada à supressão da replicação viral do HBV em pacientes com coinfeção HBV/HDV (2, 110). Heidrich et al (2009) também comparou a taxa de HBeAg de pacientes coinfectados com HBV/HDV e monoinfectados com HBV, mostrando uma diferença significativa de 17% vs 30% de HBeAg positivos (110).

Em relação à distribuição dos genótipos observados, em nossa casuística predominou o genótipo III. Entre os 78 pacientes analisados em relação a essa variável, 94,9% apresentavam genótipo III e 5,1% genótipo I. Nossos dados confirmam a predominância desse genótipo na região amazônica, já descrita por outros investigadores (41, 55, 58, 118, 119). Importante comentar que a investigação do genótipo do HDV não é rotina no CEPEN e que os resultados encontrados em prontuário só eram disponíveis para

os pacientes envolvidos em algum tipo de pesquisa clínica prévia e em seguimento clínico na unidade.

A caracterização e identificação dos casos de doença hepática avançada foi também um dos objetivos do presente estudo. A presença de doença hepática avançada foi avaliada pela presença de determinados critérios clínicos e laboratoriais conforme já descrito anteriormente. De forma geral os exames de ultrassonografia, endoscopia digestiva alta e biópsia hepática foram os exames mais utilizados para essa caracterização. Utilizando-se esses exames laboratoriais ou a evidência clínica de sinais de hipertensão portal, 92 pacientes foram identificados como portadores de doença hepática avançada e 63 destes com sinais de doença hepática descompensada. Dentre esses pacientes 9 casos de carcinoma hepatocelular foram identificados. A apresentação clínica mais frequente associada à presença de descompensação hepática foi ascite.

Importante comentar que entre os 205 pacientes analisados, apenas 173 (84%) realizaram exames de ultrassonografia. É possível se supor que se todos os pacientes tivessem tido a oportunidade de realizar esses exames, o número de pacientes categorizados como portadores de doença avançada ou aqueles com diagnóstico de carcinoma hepatocelular fosse ainda superior ao encontrado. Da mesma forma, é possível se supor que se outros exames laboratoriais fossem disponíveis para maior número de pacientes, seria talvez possível identificar maior número de pacientes com doença avançada, pelos escores Child-Pugh, MELD, APRI ou FIB-4. Neste sentido é importante enfatizar que o estado de Rondônia possui muitas regiões de difícil acesso até a cidade de Porto Velho. Algumas dessas regiões estão interligadas apenas por meio fluvial ou aéreo à capital. A realização dos diferentes exames laboratoriais é extremamente difícil em várias regiões do estado.

Do ponto de vista clínico é importante mencionar que 45% da população analisada apresentavam presença de esplenomegalia, observada ao exame físico ou ao ultrassom de abdome. No entanto, esse critério não foi utilizado de forma isolada para a

definição de doença avançada, em nossa casuística. Levando-se em consideração que a região de onde são procedentes esses pacientes é região endêmica para outras patologias tropicais, a presença de esplenomegalia isolada poderia estar associada a essas outras patologias, tais como malária. Reforçando essa nossa hipótese, cerca de 70% da população estudada apresentava antecedente prévio de malária. A maioria dos pacientes relatava mais de um episódio, inclusive observando-se alguns casos com mais de 20 episódios consecutivos de malária. Portanto, a hipótese diagnóstica de presença de esplenomegalia hiper-reativa à malária não poderia ser descartada nesta população. Em nossa casuística a presença de esplenomegalia foi valorizada como um sinal de hipertensão portal apenas quando associada a presença de alterações do parênquima hepático sugestivas de doença avançada.

A análise dos prontuários nos permitiu observar que entre os 63 pacientes identificados com doença hepática descompensada, internações hospitalares foram frequentes, ocorrendo em 50 dos 63 pacientes identificados. Além das múltiplas causas de internação, 10 casos de transplante hepático e 31 óbitos foram observados. É possível que o número de internações ou óbitos seja ainda superior ao relatado em nosso estudo, pois muitos pacientes poderiam ter evoluído com essas complicações, sem prévio conhecimento da equipe do CEPEM, com internações no município de origem ou buscando atendimento em outros estados brasileiros, através do programa de Tratamento Fora do Município (TFD). O estado de Rondônia até o presente momento, não conta com serviço de transplante hepático, dessa forma os 10 transplantes realizados em pacientes com hepatite Delta do CEPEM foram realizados através deste programa.

Em relação à taxa de tratamento da hepatite delta observada nesta população, dentre os 205 pacientes analisados, apenas 79 receberam algum tipo de tratamento para HDV, sendo 75% deles baseado em esquemas contendo unicamente interferon, convencional ou peguilado. O interferon alfa no momento é a única terapia licenciada para o tratamento da hepatite D crônica sendo o interferon peguilado a apresentação mais utilizada

(89,90). Estudo recente desenvolvido no CEPEM obteve resultados animadores de terapêutica com a associação de peg-interferon e entecavir em pacientes com hepatite Delta genótipo III. Descreve 95% (21/22) de resposta virológica sustentada 6 meses após a suspensão do tratamento (120). Porém a maioria desses pacientes não teve seguimento regular após o final do estudo, dessa forma seguimento mais prolongado e outros estudos se fazem necessários para confirmação destes resultados.

A baixa taxa de tratamento observada em nossa casuística, possivelmente reflete o observado com outros grupos de pacientes com a mesma patologia. A taxa de resposta virológica sustentada após o uso de terapia baseada exclusivamente em interferon é baixa, o tratamento é prolongado e os efeitos adversos são consideráveis. Além disso, a utilização de interferon na região amazônica pode ser complexa, visto a necessidade de acompanhamento médico mais rigoroso, a restrita estrutura de assistência em saúde na área e as enormes distâncias a serem percorridas pelos pacientes à procura de assistência médica. Outro fator relevante é a necessidade de armazenamento sob refrigeração destes medicamentos, o que complica ainda mais o acesso a recursos terapêuticos.

Em nossa casuística 10,7% (22/205) dos pacientes à primeira consulta apresentavam idade ≤ 18 anos. Dentre eles, três apresentavam quadro agudo, sendo dois casos de hepatite fulminante. Entre os 22 casos, quatro apresentavam à primeira consulta doença hepática avançada, 13 não apresentavam sinais de doença avançada e em outros dois casos, não foi possível concluir sobre o real estadiamento por falta de exames laboratoriais conclusivos. Dentre esses 22 casos, três óbitos foram descritos em prontuário.

Nossos dados confirmam, portanto, a existência de formas graves e avançadas de doença hepática em população pediátrica, conforme já relatado previamente (121). Particularmente em relação à essa população com idade ≤ 18 anos, chamou a atenção a baixa adesão ao tratamento e seguimento clínico. Excluindo-se os dois pacientes que evoluíram à óbito por hepatite fulminante, 19 dos 20 (95%) eram não aderentes ao seguimento, ou seja não conseguiam vir a consulta ambulatorial pelo menos uma vez ao

ano. A baixa adesão observada particularmente entre os pacientes pediátricos poderia estar relacionada à dificuldade de acesso, visto que 13 (59%) desses pacientes eram provenientes de cidades a mais de 300 quilômetros de distância do CEPEM.

Em relação aos pacientes como um todo, dentre os 205 pacientes, apenas 65 (31,7%) tinham adesão ao seguimento, ou seja, pelo menos uma consulta por ano. A baixa adesão e o alto índice de abandono ao seguimento torna muito difícil avaliar a real taxa de mortalidade nessa população. Além disso, a maior parte desses pacientes não reside em Porto Velho, óbitos nesta população possivelmente são registrados em outros municípios. Seria interessante estabelecer um sistema de busca padronizado dessas pacientes, com auxílio da secretaria de estado da saúde para melhor caracterizar os desfechos clínicos dessa população.

Foi também objetivo desse estudo avaliar a acurácia de alguns métodos não invasivos na determinação dos diferentes graus de fibrose identificados nesta população. Para essa análise, a razão AST/ALT e os escores APRI e FIB-4 foram comparados com os estádios de fibrose nas biópsias hepáticas e foram desenhadas as curvas *receiver-operating-characteristic* (ROC). Adicionalmente, foram calculadas as áreas sob a curva (AUROC), p valor e os intervalos de confiança de 95%. Após a realização das curvas, foram calculados os pontos de corte para a medida que maximiza a taxa de verdadeiros positivos (sensibilidade) e minimiza a taxa de falsos positivos (1-especificidade), ou seja, a combinação de sensibilidade e 1-especificidade que mais se aproxima do canto superior esquerdo. Para os casos com significância ($p < 0,05$) na curva ROC, utilizando-se pontos de corte e tabulação cruzada, foram calculados sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) (106).

As AUROC da razão AST/ALT para predizer fibrose significativa, fibrose avançada e cirrose foram 0,566 ($p = 0,479$), 0,533 ($p = 0,686$) e 0,533 ($p = 0,686$), respectivamente. Estas AUROCs indicam que as áreas sob as curvas para a razão AST/ALT não foram significativas para predizer fibrose em qualquer dos estágios. Fallatah et

al (2016), descreveram os mesmos resultados na doença hepática gordurosa não alcoólica, cuja razão AST/ALT foi o menos adequado entre os métodos não invasivos (APRI, FIB-4, Fibroscan®, razão AST/ALT) para indicar uma diferença entre os estádios de fibrose (122). Estudo recente em pacientes com HBV mostrou que FIB-4 e APRI foram significativamente superiores a razão AST/ALT com os estágios preditores de fibrose (88).

As AUROC de APRI e FIB-4 foram melhores que para a razão AST/ALT. Para a fibrose significativa, a AUROC do FIB-4 foi superior a AUROC do APRI, 0,826 ($p < 0,001$) vs. 0,799 ($p = 0,001$). Zhang *et al.* (2016), estudando pacientes com HBV, demonstraram que as AUROCs de FIB-4 foram de 0,646, 0,670 e 0,715 para predição de fibrose significativa, fibrose avançada e cirrose, enquanto que 0,656, 0,653 e 0,639 para APRI, respectivamente (88). Bonnard *et al.* (2010) compararam métodos não-invasivos em pacientes com HBV de Burkina-Faso e descreveram que as AUROCs para fibrose significativa de APRI e FIB-4 foram de 0,61 e 0,71 respectivamente (123). Com relação aos pacientes com cirrose as AUROCs foram 0,50 para o APRI e 0,74 para o FIB-4. Resultados semelhantes foram observados em nosso estudo, onde APRI foi superior para detectar fibrose significativa. Wang *et al.* (2013) compararam FIB-4 e APRI em pacientes com HBV, para prever fibrose significativa, a AUROC foi de 0,77 para ambos. Para prever fibrose grave, a AUROC aumentou para 0,81 para o FIB-4, mas permaneceu com os mesmos valores de 0,77 para o APRI (124). Em ambos os estudos APRI não foi estatisticamente significativos para predizer a presença de cirrose.

Em resumo, em nosso estudo a razão AST/ALT não teve valor significativo para avaliar fibrose em nenhum dos estágios. Em relação ao APRI e FIB-4, ambos tiveram melhor desempenho para avaliar fibrose significativa ($\geq F2$), com acurácia de 86 e 80 respectivamente. Na literatura os resultados são controversos e divergentes sobre esse tema.

A utilização de métodos não invasivos para detecção do grau de fibrose hepática foi primeiramente descrita para pacientes com hepatite C e foram posteriormente

aplicados em pacientes com hepatite B crônica. Nossos resultados parecem ser semelhantes aos estudos prévios com o HBV, porém são necessários outros estudos, com maior número de pacientes, para que se identifique o melhor ponto de corte para determinação de presença de doença avançada e cirrose. Assim como, para que se identifique a real aplicabilidade desses métodos não-invasivos em pacientes com HDV. Nosso estudo propõe a utilização desses métodos, mas com certeza estudos adicionais sobre o tema são necessários. Acreditamos que nossos resultados contribuem em relação a esse tema, visto a paucidade de estudos. Análise do grau de fibrose através de métodos não invasivos e de fácil aplicabilidade seria de fundamental importância para os pacientes com hepatite Delta na região amazônica. Tais métodos poderiam auxiliar a decisão de tratamento nesses pacientes.

Nosso trabalho, com certeza apresenta importantes limitações. A primeira delas, relacionada a seu caráter retrospectivo, que nos impediu de obter todas as informações clínicas e laboratoriais necessárias. A fonte de informação utilizada, o prontuário dos pacientes, não continha todas as variáveis estudadas, conforme já detalhado anteriormente. É possível que os dados não disponíveis tivessem algum impacto nos resultados observados. No entanto, a utilização das informações disponíveis representa única oportunidade de avaliação do perfil clínico dessa população. Além disso, levando-se em consideração que os dados avaliados refletem o atendimento médico para um período de tempo bastante extenso, de 1996 a 2015, é possível se supor, que possam não refletir com precisão o perfil clínico-epidemiológico destes pacientes nos dias atuais.

Além disso, os pacientes analisados nesse estudo refletem a população que teve acesso ao serviço médico do CEPEM e que possivelmente apresentava-se mais sintomática e com formas mais avançadas da doença. Dessa forma, é possível que o perfil analisado e observado entre os pacientes desse estudo, não represente o perfil demográfico e epidemiológico da maioria dos pacientes com hepatite delta nesta região. No entanto,

acreditamos que mesmo com essas limitações, os dados apresentados nos permitem descrever de forma inédita, características particulares deste grupo de pacientes.

Em resumo, os dados de nosso estudo nos permitem concluir que a hepatite delta ainda representa importante agravo de saúde pública nesta região do Brasil. Acomete indistintamente adultos e crianças e formas avançadas de doença são descritas em ambas as populações. A transmissão vertical ou familiar horizontal dos vírus das hepatites B e delta parece ainda predominar nesta região.

A utilização de APRI e FIB-4 foi capaz de identificar pacientes com fibrose significativa entre indivíduos infectados com HDV na Amazônia brasileira. A possibilidade de utilização dessa ferramenta diagnóstica poderia ser considerada uma alternativa para o estadiamento da fibrose hepática para esses pacientes, enquanto métodos diagnósticos mais acurados não sejam disponíveis, principalmente em áreas de difícil acesso.

De forma geral, nossos dados revelam que o modelo de atendimento médico observado à população em relação às hepatites virais B e delta no estado de Rondônia, apesar de ainda constituir a única alternativa para os pacientes da região, revela-se claramente não efetivo e insatisfatório. Ações imediatas no aprimoramento da linha de cuidado dessa população configuram necessidade urgente e necessária no sentido de atender de forma mais adequada e efetiva as necessidades básicas dessa população.

8. CONCLUSÕES

1) O vírus da hepatite delta representa importante agravo de saúde pública no estado de Rondônia atingindo indistintamente a adultos e crianças, com frequência expressiva entre pessoas do sexo masculino e população indígena.

2) A presença da infecção pelo vírus da hepatite delta esteve associada a expressivo número de complicações hepáticas e foi frequente causa de óbito na população analisada, particularmente entre adultos jovens.

3) Entre pacientes com idade ≤ 18 anos a hepatite delta esteve associada a significativa morbidade e mortalidade e a falta de adesão dessa população ao seguimento pareceu contribuir para esse tipo de desfecho

4) A utilização dos métodos não invasivos APRI e FIB-4 foi capaz de identificar pacientes com fibrose significativa entre indivíduos infectados com HDV na Amazônia brasileira , podendo , apesar de todas as limitações destes métodos servir como alternativa para avaliação de fibrose hepática significativa , na ausência de outros métodos mais efetivos

9. ANEXOS

ANEXO A - COMPROVANTE PLATAFORMA BRASIL

CENTRO DE PESQUISA EM
MEDICINA TROPICAL / CEPEM

COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização Clínica e Epidemiológica de Pacientes com Diagnóstico de Hepatite Delta Acompanhados em Unidade de Referência no Estado de Rondônia - Análise de Uma Série de Casos

Pesquisador: Juan Miguel Villalobos Salcedo

Versão: 3

CAAE: 46077215.9.0000.0011

Instituição Proponente: Centro de Pesquisa em Medicina Tropical - CEPEM -Rondônia

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: 055063/2015

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Endereço: Avenida Guaporé 215

Bairro: Lagoa

CEP: 76.812-329

UF: RO

Município: PORTO VELHO

Telefone: (69)3216-5442

Fax: (69)3219-6012

E-mail: cepesquisacepem@yahoo.com.br

ANEXO B - CARTA DE CIÊNCIA E ANUÊNCIA **CARTA DE CIÊNCIA E ANUÊNCIA**

Eu, Juan Miguel Villalobos Salcedo, coordenador do Ambulatório Especializado em Hepatites Virais do Centro de Pesquisa em Medicina Tropical de Rondônia – CEPEM, e pesquisador principal do projeto de pesquisa intitulado “Caracterização Clínica e Epidemiológica de Pacientes com Diagnóstico de Hepatite Delta Acompanhados em Unidade de Referência no Estado de Rondônia”, a ser realizado no Ambulatório Especializado em Hepatites Virais do Estado de Rondônia pertencente ao CEPEM, e que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CEPEM/RO, estou ciente e de acordo que o projeto anteriormente citado seja submetido ao Programa de Pós-Graduação da Universidade de São Paulo – USP pela Doutora Maria Cássia Jacinto Mendes Corrêa, como projeto de Mestrado da aluna Mariana Pinheiro Alves Vasconcelos.

Porto Velho, 11 de janeiro de 2016

CRM/RO 1830

Juan Miguel Villalobos Salcedo

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rizzetto M, Canese MG, Arico S, Crivelli O, Trepo C, Bonino F, et al. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut*. 1977;18(12):997-1003.
2. Abbas Z, Afzal R. Life cycle and pathogenesis of hepatitis D virus: A review. *World J Hepatol*. 2013;5(12):666-75.
3. Taylor JM. Virology of hepatitis D virus. *Semin Liver Dis*. 2012;32(3):195-200.
4. Niro GA, Gioffreda D, Fontana R. Hepatitis delta virus infection: open issues. *Dig Liver Dis*. 2011;43 Suppl 1:S19-24.
5. Taylor JM. Structure and replication of hepatitis delta virus RNA. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2006;307:1-23.
6. Wedemeyer H, Manns MP. Epidemiology, pathogenesis and management of hepatitis D: update and challenges ahead. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7(1):31-40.
7. Freitas N, Salisse J, Cunha C, Toshkov I, Menne S, Gudima SO. Hepatitis delta virus infects the cells of hepadnavirus-induced hepatocellular carcinoma in woodchucks. *Hepatology*. 2012;56(1):76-85.
8. Pascarella S, Negro F. Hepatitis D virus: an update. *Liver Int*. 2011;31(1):7-21.
9. Hughes SA, Wedemeyer H, Harrison PM. Hepatitis delta virus. *Lancet*. 2011;378(9785):73-85.
10. Alfaiate D, Dény P, Durantel D. Hepatitis delta virus: From biological and medical aspects to current and investigational therapeutic options. *Antiviral Res*. 2015 Oct;122:112-29.
11. Abbas Z, Jafri W, Raza S. Hepatitis D: Scenario in the Asia-Pacific region. *World J Gastroenterol*. 2010;16(5):554-62.
12. Heidrich B, Manns MP, Wedemeyer H. Treatment options for hepatitis delta virus infection. *Curr Infect Dis Rep*. 2013;15(1):31-8.
13. Radjef N, Gordien E, Ivaniushina V, Gault E, Anais P, Drugan T, et al. Molecular phylogenetic analyses indicate a wide and ancient radiation of African hepatitis delta virus, suggesting a deltavirus genus of at least seven major clades. *J Virol*. 2004;78(5):2537-44.
14. Chen X, Oidovsambuu O, Liu P, Grosely R, Elazar M, Winn VD, et al. A novel quantitative microarray antibody capture assay identifies an extremely high hepatitis delta virus prevalence among hepatitis B virus-infected mongolians. *Hepatology*. 2017 Dec;66(6):1739-1749.
15. Takahashi M, Nishizawa T, Gotanda Y, Tsuda F, Komatsu F, Kawabata T, et al. High prevalence of antibodies to hepatitis A and E viruses and viremia of hepatitis B, C, and D viruses among apparently healthy populations in Mongolia. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11:392-398.
16. Nguyen VT, McLaws ML, Dore GJ. Highly endemic hepatitis B infection in rural Vietnam. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22(12):2093-100.
17. Mulyanto, Depamede SN, Surayah K, Tsuda F, Ichiyama K, Takahashi M, et al. A nationwide molecular epidemiological study on hepatitis B virus in Indonesia: identification of two novel subgenotypes, B8 and C7. *Arch Virol*. 2009;154(7):1047-59.
18. Amini N, Alavian SM, Kabir A, Aalaei-Andabili SH, Saiedi Hosseini SY, Rizzetto M. Prevalence of hepatitis d in the eastern mediterranean region: systematic review and meta analysis. *Hepat Mon*. 2013;13(1):e8210.
19. Novick DM, Farci P, Croxson TS, Taylor MB, Schneebaum CW, Lai ME, et al. Hepatitis D virus and human immunodeficiency virus antibodies in parenteral drug

- abusers who are hepatitis B surface antigen positive. *J Infect Dis.* 1988;158(4):795-803.
20. Madejon A, Cotonat T, Bartolome J, Castillo I, Carreno V. Treatment of chronic hepatitis D virus infection with low and high doses of interferon-alpha 2a: utility of polymerase chain reaction in monitoring antiviral response. *Hepatology.* 1994;19(6):1331-6.
 21. Kucirka LM, Farzadegan H, Feld JJ, Mehta SH, Winters M, Glenn JS, et al. Prevalence, correlates, and viral dynamics of hepatitis delta among injection drug users. *J Infect Dis.* 2010;202(6):845-52.
 22. Smedile A, Lavarini C, Farci P, Arico S, Marinucci G, Dentico P, et al. Epidemiologic patterns of infection with the hepatitis B virus-associated delta agent in Italy. *Am J Epidemiol.* 1983;117(2):223-9.
 23. Sagnelli E, Stroffolini T, Ascione A, Bonino F, Chiaramonte M, Colombo M, et al. The epidemiology of hepatitis delta infection in Italy. Promoting Group. *J Hepatol.* 1992;15(1-2):211-5.
 24. Sagnelli E, Stroffolini T, Ascione A, Chiaramonte M, Craxi A, Giusti G, et al. Decrease in HDV endemicity in Italy. *J Hepatol.* 1997;26(1):20-4.
 25. Gaeta GB, Stroffolini T, Chiaramonte M, Ascione T, Stornaiuolo G, Lobello S, et al. Chronic hepatitis D: a vanishing Disease? An Italian multicenter study. *Hepatology.* 2000;32(4 Pt 1):824-7.
 26. Navascues CA, Rodriguez M, Sotorrio NG, Sala P, Linares A, Suarez A, et al. Epidemiology of hepatitis D virus infection: changes in the last 14 years. *Am J Gastroenterol.* 1995;90(11):1981-4.
 27. Degertekin H, Yalcin K, Yakut M. The prevalence of hepatitis delta virus infection in acute and chronic liver diseases in Turkey: an analysis of clinical studies. *Turk J Gastroenterol.* 2006;17(1):25-34.
 28. Huo TI, Wu JC, Lin RY, Sheng WY, Chang FY, Lee SD. Decreasing hepatitis D virus infection in Taiwan: an analysis of contributory factors. *J Gastroenterol Hepatol.* 1997;12(11):747-51.
 29. Gaeta GB, Stroffolini T, Smedile A, Niro G, Mele A. Hepatitis delta in Europe: vanishing or refreshing? *Hepatology.* 2007;46(4):1312-3.
 30. Smith HM, Alexander GJ, Webb G, McManus T, McFarlane IG, Williams R. Hepatitis B and delta virus infection among "at risk" populations in south east London. *J Epidemiol Community Health.* 1992;46(2):144-7.
 31. Cross TJ, Rizzi P, Horner M, Jolly A, Hussain MJ, Smith HM, et al. The increasing prevalence of hepatitis delta virus (HDV) infection in South London. *J Med Virol.* 2008;80(2):277-82.
 32. Wedemeyer H, Heidrich B, Manns MP. Hepatitis D virus infection--not a vanishing disease in Europe! *Hepatology.* 2007;45(5):1331-2; author reply 2-3.
 33. Erhardt A, Knuth R, Sagir A, Kirschberg O, Heintges T, Haussinger D. Socioepidemiological data on hepatitis delta in a German university clinic--increase in patients from Eastern Europe and the former Soviet Union. *Z Gastroenterol.* 2003;41(6):523-6.
 34. Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasil. Volume 40, n. 31, 2018.
 35. Crispim MAE, Fraiji NA, Campello SC, Schriefer NA, Stefani MMA, Kiesslich D. Molecular epidemiology of hepatitis B and hepatitis delta viruses circulating in the Western Amazon region, North Brazil. *Bmc Infectious Diseases.* 2014;14.
 36. Fonseca JC, Simonetti SR, Schatzmayr HG, Castejon MJ, Cesario AL, Simonetti JP. Prevalence of infection with hepatitis delta virus (HDV) among carriers of hepatitis B surface antigen in Amazonas State, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1988;82(3):469-71.

37. Braga WS. Hepatitis B and D virus infection within amerindians ethnic groups in the Brazilian Amazon: Epidemiological aspects. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2004;37(Suppl. 2):9-13.
38. Braga WS, Castilho Mda C, Borges FG, Leao JR, Martinho AC, Rodrigues IS, et al. Hepatitis D virus infection in the Western Brazilian Amazon - far from a vanishing disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012;45(6):691-5.
39. Mendes-Correa MC, Gomes-Gouveia MS, Alvarado-Mora MV, Da Silva MH, Lazari C, Cavalcanti NC, et al. Hepatitis delta in HIV/HBV co-infected patients in Brazil: is it important? *Int J Infect Dis*. 2011;15(12):e828-32.
40. Braga WS, da Costa Castilho M, dos Santos IC, Moura MA, Segurado AC. Low prevalence of hepatitis B virus, hepatitis D virus and hepatitis C virus among patients with human immunodeficiency virus or acquired immunodeficiency syndrome in the Brazilian Amazon basin. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006;39: 519–22.
41. Viana S, Parana R, Moreira RC, Compri AP, Macedo V. High prevalence of hepatitis B virus and hepatitis D virus in the western Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg* 2005;73:808–14.
42. Le Gal F, Gault E, Ripault MP, Serpaggi J, Trinchet JC, Gordien E, et al. Eighth major clade for hepatitis delta virus. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(9):1447-50.
43. Farci P, Niro GA. Clinical features of hepatitis D. *Semin Liver Dis*. 2012;32(3):228-36.
44. Rizzetto M. Hepatitis D: thirty years after. *J Hepatol*. 2009;50(5):1043-50.
45. Kiesslich D, Crispim MA, Santos C, Ferreira Fde L, Fraiji NA, Komninakis SV, et al. Influence of hepatitis B virus (HBV) genotype on the clinical course of disease in patients coinfecting with HBV and hepatitis delta virus. *J Infect Dis*. 2009;199(11):1608-11.
46. Shakil AO, Hadziyannis S, Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM, Gerin JL, Casey JL. Geographic distribution and genetic variability of hepatitis delta virus genotype I. *Virology*. 1997;234(1):160-7.
47. Shakil AO, Hadziyannis S, Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM, Gerin JL, Casey JL. Geographic distribution and genetic variability of hepatitis delta virus genotype I. *Virology*. 1997;234(1):160-7.
48. Wu JC, Chiang TY, Sheen IJ. Characterization and phylogenetic analysis of a novel hepatitis D virus strain discovered by restriction fragment length polymorphism analysis. *J Gen Virol*. 1998;79 (Pt 5):1105-13.
49. Imazeki F, Omata M, Ohto M. Heterogeneity and evolution rates of delta virus RNA sequences. *J Virol*. 1990;64(11):5594-9.
50. Wu JC, Choo KB, Chen CM, Chen TZ, Huo TI, Lee SD. Genotyping of hepatitis D virus by restriction-fragment length polymorphism and relation to outcome of hepatitis D. *Lancet*. 1995;346(8980):939-41.
51. Ivaniushina V, Radjef N, Alexeeva M, Gault E, Semenov S, Salhi M, et al. Hepatitis delta virus genotypes I and II cocirculate in an endemic area of Yakutia, Russia. *J Gen Virol*. 2001;82(Pt 11):2709-18.
52. Casey JL, Brown TL, Colan EJ, Wignall FS, Gerin JL. A genotype of hepatitis D virus that occurs in northern South America. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(19):9016-20.
53. Paraná R, Kay A, Molinet F, Viana S, Silva LK, Salcedo JM, et al. HDV genotypes in the Western Brazilian Amazon region: A preliminary report. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;75(3):475-9.
54. Sakugawa H, Nakasone H, Nakayoshi T, Kawakami Y, Miyazato S, Kinjo F, et al. Hepatitis delta virus genotype IIb predominates in an endemic area, Okinawa, Japan. *J Med Virol*. 1999;58(4):366-72.
55. Alvarado-Mora MV, Romano CM, Gomes-Gouvêa MS, Gutierrez MF, Carrilho FJ, Pinho JR. Dynamics of hepatitis D (delta) virus genotype 3 in the Amazon region of South America. *Infect Genet Evol*. 2011 Aug;11(6):1462-8.

56. Gomes-Gouvêa MS, Pereira Soares Mdo C, Guedes de Carvalho Mello IM, Brito EM, Pereira Moia Lde J, Bensabath G, Nunes HM, Carrilho FJ, Pinho JR. Hepatitis D and B virus genotypes in chronically infected patients from the Eastern Amazon Basin. *Acta Trop*. 2008 Jun;106(3):149-55.
57. Cicero MF, Pena NM, Santana LC, Arnold R, Azevedo RG, Leal ÉS, Diaz RS, Komninakis SV. Is Hepatitis Delta infections important in Brazil? *BMC Infect Dis*. 2016 Sep 29;16(1):525.
58. Botelho-Souza LF, dos Santos Ade O, Borzacov LM, Honda ER, Villalobos-Salcedo JM, Vieira DS. Development of a reverse transcription quantitative real-time PCR-based system for rapid detection and quantitation of hepatitis delta virus in the western Amazon region of Brazil. *J Virol Methods*. 2014;197:19-24.
59. Poynard T, Halfon P, Castera L, Munteanu M, Imbertbismut F, Ratziu V, et al. Standardization of ROC curve areas for diagnostic evaluation of liver fibrosis markers based on prevalences of fibrosis stages. *Clin Chem* 2007; 53: 1615–1622.
60. Barros LM, Gomes-Gouvea MS, Pinho JR, Alvarado-Mora MV, Dos Santos A, Mendes-Correa MC, et al. Hepatitis Delta virus genotype 8 infection in Northeast Brazil: inheritance from African slaves? *Virus Res*. 2011;160(1-2):333-9.
61. Wu JC, Huang IA, Huang YH, Chen JY, Sheen IJ. Mixed genotypes infection with hepatitis D virus. *J Med Virol*. 1999;57(1):64-7.
62. Tsatsralt-Od B, Takahashi M, Endo K, Agiimaa D, Buyankhuu O, Ninomiya M, et al. Prevalence of hepatitis B, C, and delta virus infections among children in Mongolia: progress in childhood immunization. *J Med Virol*. 2007;79(8):1064-74.
63. Smedile A, Farci P, Verme G, Caredda F, Cargnel A, Caporaso N, et al. Influence of delta infection on severity of hepatitis B. *Lancet*. 1982;2(8305):945-7.
64. Rizzetto M, Durazzo M. Hepatitis delta virus (HDV) infections. Epidemiological and clinical heterogeneity. *J Hepatol*. 1991;13 Suppl 4:S116-8.
65. Romeo R, Del Ninno E, Rumi M, Russo A, Sangiovanni A, de Franchis R, et al. A 28-year study of the course of hepatitis Delta infection: a risk factor for cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2009;136(5):1629-38.
66. Grabowski J, Wedemeyer H. Hepatitis delta: immunopathogenesis and clinical challenges. *Dig Dis*. 2010;28(1):133-8.
67. Smedile A, Rizzetto M, Gerin JL. Advances in hepatitis D virus biology and disease. *Prog Liver Dis*. 1994;12:157-75.
68. Farci P. Delta hepatitis: an update. *J Hepatol*. 2003;39 Suppl 1:S212-9.
69. Olivero A, Smedile A. Hepatitis delta virus diagnosis. *Semin Liver Dis*. 2012 Aug;32(3):220-7.
70. Flodgren E, Bengtsson S, Knutsson M, Strebkova EA, Kidd AH, Alexeyev OA, et al. Recent high incidence of fulminant hepatitis in samara, Russia: Molecular analysis of prevailing hepatitis B and D virus strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000;38(9):3311-6.
71. Casey JL, Niro GA, Engle RE, Vega A, Gomez H, McCarthy M, et al. Hepatitis B virus (HBV)/hepatitis D virus (HDV) coinfection in outbreaks of acute hepatitis in the Peruvian Amazon basin: the roles of HDV genotype III and HBV genotype F. *J Infect Dis*. 1996;174(5):920-6.
72. Gomes-Gouvea MS, Soares MC, Bensabath G, de Carvalho-Mello IM, Brito EM, Souza OS, et al. Hepatitis B virus and hepatitis delta virus genotypes in outbreaks of fulminant hepatitis (Labrea black fever) in the western Brazilian Amazon region. *J Gen Virol*. 2009;90(Pt 11):2638-43.
73. Fattovich G, Giustina G, Christensen E, Pantalena M, Zagni I, Realdi G, et al. Influence of hepatitis delta virus infection on morbidity and mortality in compensated cirrhosis type B. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (Eurohep). *Gut*. 2000;46(3):420-6.

74. Sanchez-Tapias JM, Mas A, Costa J, Bruguera M, Mayor A, Ballesta AM, et al. Recombinant alpha 2c-interferon therapy in fulminant viral hepatitis. *J Hepatol*. 1987;5(2):205-10.
75. Wranke A, Heidrich B, Ernst S, Calle Serrano B, Caruntu FA, Curescu MG, et al. Anti-HDV IgM as a marker of disease activity in hepatitis delta. *PLoS One*. 2014;9(7):e101002.
76. Jardi R, Buti M, Rodriguez F, Cotrina M, Allende H, Esteban R, et al. Comparative analysis of serological markers of chronic delta infection: HDV-RNA, serum HDAG and anti-HD IgM. *J Virol Methods*. 1994;50(1-3):59-66.
77. Brichler S, Setshedi M, Renou C. Resolution of chronic hepatitis delta infection after five years of peginterferon-adeфовir: lessons from a case report. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2013;37(3):e81-4.
78. Shang D, Hughes SA, Horner M, Bruce MJ, Dong Y, Carey I, et al. Development and validation of an efficient in-house real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay for the quantitative detection of serum hepatitis delta virus RNA in a diverse South London population. *Journal of Virological Methods*. 2012;184(1-2):55-62.
79. Katsoulidou A, Manesis E, Rokka C, Issaris C, Pagoni A, Sypsa V, et al. Development and assessment of a novel real-time PCR assay for quantitation of hepatitis D virus RNA to study viral kinetics in chronic hepatitis D. *J Viral Hepat*. 2013;20(4):256-62.
80. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996 Aug;24(2).
81. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite B e Coinfecções/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.
82. Leroy V, Kim SU. Can transient elastography be used for the management of chronic hepatitis B patients? *Liver Int*. 2012;32(4):528-30.
83. Lutterkort GL, Wranke A, Yurdaydin C, Budde E, Westphal M, Lichtinghagen R et al. Non-invasive fibrosis score for hepatitis delta. *Liver International*. 2017 Feb;37(2):196-204.
84. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções. Brasília: Ministério da Saúde, Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS, Brasil. 2015.
85. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C *Hepatology*. 2003;38:518-26.
86. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a simple non- invasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43:1317–1325.
87. Sheth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 1998 Jan;93(1):44-8.
88. Zhang Z, Wang G, Kang K, Wu G, Wang P. The Diagnostic Accuracy and Clinical Utility of Three Noninvasive Models for Predicting Liver Fibrosis in Patients with HBV Infection. *PLoS One*. 2016 Apr 6;11(4):e0152757.
89. Rizzetto M, Alavian SM. Hepatitis delta: the rediscovery. *Clin Liver Dis*. 2013;17(3):475-87.
90. Heidrich B, Yurdaydin C, Kabacam G, Ratsch BA, Zachou K, Bremer B, et al. Late HDV RNA relapse after peginterferon alpha-based therapy of chronic hepatitis delta. *Hepatology*. 2014;60(1):87-97.

91. Yurdaydin C. Treatment of chronic delta hepatitis. *Semin Liver Dis.* 2012;32(3):237-44.
92. Heller T, Rotman Y, Koh C, Clark S, Haynes-Williams V, Chang R, et al. Long-term therapy of chronic delta hepatitis with peginterferon alfa. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;40(1):93-104.
93. Kabacam G, Onder FO, Yakut M, Seven G, Karatayli SC, Karatayli E, et al. Entecavir treatment of chronic hepatitis D. *Clin Infect Dis.* 2012;55(5):645-50.
94. Lau DT, Doo E, Park Y, Kleiner DE, Schmid P, Kuhns MC, et al. Lamivudine for chronic delta hepatitis. *Hepatology.* 1999;30(2):546-9.
95. Erhardt A, Gerlich W, Starke C, Wend U, Donner A, Sagir A, et al. Treatment of chronic hepatitis delta with pegylated interferon-alpha2b. *Liver Int.* 2006;26(7):805-10.
96. Niro GA, Ciancio A, Tillman HL, Lagget M, Olivero A, Perri F, et al. Lamivudine therapy in chronic delta hepatitis: a multicentre randomized-controlled pilot study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;22(3):227-32.
97. Koh C, Canini L, Dahari H, Zhao X, Uprichard SL, Haynes-Williams V, Winters MA, Subramanya G, Cooper SL, Pinto P, Wolff EF, Bishop R, Ai Thanda Han M, Cotler SJ, Kleiner DE, Keskin O, Idilman R, Yurdaydin C, Glenn JS, Heller T. Oral prenylation inhibition with lonafarnib in chronic hepatitis D infection: a proof-of-concept randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2A trial. *Lancet Infect Dis.* 2015 Oct;15(10):1167-1174.
98. Bogomolov P, Alexandrov A, Voronkova N, Macievich M, Kokina K, Petrachenkova M, Lehr T, Lempp FA, Wedemeyer H, Haag M, Schwab M, Haefeli WE, Blank A, Urban S. Treatment of chronic hepatitis D with the entry inhibitor myrcludex B: First results of a phase Ib/IIa study. *J Hepatol.* 2016 Sep;65(3):490-8.
99. Giersch K, Homs M, Volz T, Helbig M, Allweiss L, Lohse AW, Petersen J, Buti M, Pollicino T, Sureau C, Dandri M, Lütgehetmann M. Both interferon alpha and lambda can reduce all intrahepatic HDV infection markers in HBV/HDV infected humanized mice. *Sci Rep.* 2017 Jun 16;7(1):3757.
100. Gunsar F, Akarca US, Ersoz G, Kobak AC, Karasu Z, Yuce G, et al. Two-year interferon therapy with or without ribavirin in chronic delta hepatitis. *Antivir Ther.* 2005;10(6):721-6.
101. Yurdaydin C, Bozkaya H, Karaaslan H, Onder FO, Erkan OE, Yalcin K, et al. A pilot study of 2 years of interferon treatment in patients with chronic delta hepatitis. *J Viral Hepat.* 2007;14(11):812-6.
102. Ciancio A, Rizzetto M. Chronic hepatitis D at a standstill: where do we go from here? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11(1):68-71.
103. Farci P, Roskams T, Chessa L, Peddis G, Mazzoleni AP, Scioscia R, et al. Long-term benefit of interferon alpha therapy of chronic hepatitis D: regression of advanced hepatic fibrosis. *Gastroenterology.* 2004;126(7):1740-9.
104. Manesis EK, Vourli G, Dalekos G, Vasiliadis T, Manolaki N, Hounta A, et al. Prevalence and clinical course of hepatitis delta infection in Greece: A 13-year prospective study. *Journal of Hepatology.* 2013;59(5):949-56.
105. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ro/porto-velho/panorama>. Acessado em 10 de setembro de 2018.
106. Medical Statistics: A guide to SPSS, data analysis and critical appraisal, 2nd Edition. Belinda Barton, Jennifer Peat. October 2014, BMJ Books.
107. Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasil. Volume 40, n. 31, 2018.
108. El Bouzidi K, Elamin W, Kranzer K, Irish DN, Ferns B, Kennedy P, Rosenberg W, Dusheiko G, Sabin CA, Smith BC, Nastouli E. Hepatitis delta virus testing, epidemiology and management: a multicentre cross-sectional study of patients in London. *J Clin Virol.* 2015 May;66:33-7.

109. Buti M, Homs M, Rodriguez-Frias F, Funalleras G, Jardí R, Sauleda S, Tabernero D, Schaper M, Esteban R. Clinical outcome of acute and chronic hepatitis delta over time: a long-term follow-up study. *J Viral Hepat.* 2011 Jun;18(6):434-42.
110. Heidrich B, Deterding K, Tillmann HL, Raupach R, Manns MP, Wedemeyer H. Virological and clinical characteristics of delta hepatitis in Central Europe. *J Viral Hepat.* 2009 Dec;16(12):883-94.
111. Gish RG, Yi DH, Kane S, Clark M, Mangahas M, Baqai S, Winters MA, Proudfoot J, Glenn JS. Coinfection with hepatitis B and D: epidemiology, prevalence and disease in patients in Northern California. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Sep;28(9):1521-5.
112. Braga WS, Brasil LM, de Souza RA, Castilho Mda C, da Fonseca JC. The occurrence of hepatitis B and delta virus infection within seven Amerindian ethnic groups in the Brazilian western Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001 Jul-Aug;34(4):349-55.
113. Fonseca JC. Hepatitis D. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002 Mar-Apr;35(2):181-90.
114. Soriano V, Martin-Carbonero L, Vispo E, Labarga P, Barreiro P. Human immunodeficiency virus infection and viral hepatitis. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011 Nov;29(9):691-701.
115. Fernández-Montero JV, Soriano V. Future perspective in the treatment of chronic hepatitis C. *Rev Esp Sanid Penit.* 2014;13(1):21-9.
116. Hung CC, Wu SM, Lin PH, Sheng WH, Yang ZY, Sun HY, Tsai MS, Lee KY, Huang MS, Chang SF, Su YC, Liu WC, Chang SY. Increasing incidence of recent hepatitis D virus infection in HIV-infected patients in an area hyperendemic for hepatitis B virus infection. *Clin Infect Dis.* 2014 Jun;58(11):1625-33.
117. Chang SY, Yang CL, Iko WS, Liu WC, Lin CY, Wu CH, Su YC, Chang SF, Chen MY, Sheng WH, Hung CC, Chang SC. Molecular epidemiology of hepatitis D virus infection among injecting drug users with and without human immunodeficiency virus infection in Taiwan. *J Clin Microbiol.* 2011 Mar;49(3):1083-9.
118. Kay A, Melo da Silva E, Pedreira H, Negreiros S, Lobato C, Braga W, Muwonge R, Dény P, Reis M, Zoulm F, Trepo C, D'Oliveira A Jr, Salcedo JM, Schinoni MI, Parana R. HBV/HDV co-infection in the Western Brazilian Amazonia: an intriguing mutation among HDV genotype 3 carriers. *J Viral Hepat.* 2014 Dec;21(12):921-4.
119. di Filippo D, Cortes-Mancera F, Beltran M, Arbelaez MP, Jaramillo S, Restrepo JC, Correa G, Navas MC. Molecular characterization of hepatitis c virus in multi-transfused Colombian patients. *Virol J.* 2012 Oct 23;9:242.
120. Borzacov LM, de Figueiredo Nicolette LD, Souza LF, Dos Santos AO, Vieira DS, Salcedo JM. Treatment of hepatitis delta virus genotype 3 infection with peg-interferon and entecavir. *Int J Infect Dis.* 2016 May;46:82-8.
121. Fonseca JC. [Hepatitis fulminant in Brazilian Amazon]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004;37 Suppl 2:93-5.
122. Fallatah HI, Akbar HO, Fallatah AM. Fibroscan Compared to FIB-4, APRI, and AST/ALT Ratio for Assessment of Liver Fibrosis in Saudi Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepat Mon.* 2016 Jul 3;16(7):e38346.
123. Bonnard P, Sombié R, Lescure FX, Bougouma A, Guiard-Schmid JB, Poynard T, Calès P, Housset C, Callard P, Le Pendevén C, Drabo J, Carrat F, Pialoux G. Comparison of elastography, serum marker scores, and histology for the assessment of liver fibrosis in hepatitis B virus (HBV) infected patients in Burkina Faso. *Am J Trop Med Hyg.* 2010 Mar;82(3):454-8.
124. Wang H, Xue L, Yan R, Zhou Y, Wang MS, Cheng MJ, Huang HJ. Comparison of FIB-4 and APRI in Chinese HBV-infected patients with persistently normal ALT and mildly elevated ALT. *J Viral Hepat.* 2013 Apr;20(4):e3-10.

125. Kelleher TB, Mehta SH, Bhaskar R, Sulkowski M, Astemborski J, Thomas D, et al. Prediction of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients using serum fibrosis markers: The SHASTA index. *J Hepatol.* 2005;43:78-84.
126. Calès P, Boursier J, Oberti F, et al. FibroMeters: a family of blood tests for liver fibrosis. *Gastroenterol Clin Biol.* 2008;32(6 Suppl 1):40-51.
127. Adams LA, Bursara M, Rossi E, et al. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem.* 2005;51:1867-73.
128. Parkes J, Guha IN, Roderick P, Harris S, Cross R, Manos MM, et al. Enhanced Liver Fibrosis (ELF) test accurately identifies liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2011 Jan;18(1):23-31.
129. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model *Hepatology.* 2002;36:986-92.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Fluxograma dos pacientes atendidos no CEPEM, com ênfase nos sinais de doença hepática avançada e doença hepática descompensada.

APÊNDICE B - Fluxograma de distribuição dos pacientes com idade inferior ou igual a 18 anos conforme a forma clínica e evolução da doença hepática.

APÊNDICE C - Ficha de coleta de dados

Estudo Clínico de Hepatite Delta no Ambulatório Especializado em Hepatites Virais do Estado de Rondônia

Identificação:

HRO: _____ Data da Matrícula: ____ / ____ / ____ Data última consulta: ____ / ____ / ____

Nome : _____ Quantas consultas: _____

Natural.: _____ Procedência: _____ Telefone: _____

Etnia: () Branco () Indígena () Pardo () Negro

Data de Nascimento: ____/____/____ Idade (Matrícula): ____ Sexo: ()M ()F

Aspectos epidemiológicos:

SIM / NÃO / NA

Transfusões		Uso de drogas injetáveis/ Iícitas compartilhadas		Terapia alternativa Qual??	
Diálise		Familiar hepatopata			
Alcoolismo		Tatuagens			
Homo / Hetero / Bissexual		Um / Múltiplos parceiros			

Familiar HBV: () Pai () Mãe () Irmão/ã () Parceiro () Outro

Familiar HDV: () Pai () Mãe () Irmão/ã () Parceiro () Outro

Coinfecção: ()NÃO ()HCV ()HIV ()Malária ()Outra

Comorbidades: ()DM ()HAS ()Sd. Metab. ()Câncer

Clínica:

HCC		VE/GH		EH	
Perda de peso		Spiders		Esplenomegalia	
Icterícia		Eritema palmar		Ascite	
Acolia fecal		Hepatomegalia		Circ. colateral	

Exames laboratoriais:

[illegible]

Perfil sorológico:

	Data:					
AntiHBc total +						
AntiHBc IgM +						
HBsAg +						
AntiHBs +						
HBeAg +						
AntiHBe +						
Anti-HDV						
Anti-HCV						

Variáveis associadas ao HBV: Genótipo ()A ()B ()C ()D ()E ()F ()G ()H

Variáveis associadas ao HDV: Genótipo ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ()7 ()8

Escore/EDA:

Início: Child-Pugh ()A ()B ()C MELD _____

Último: Escores: Child-Pugh ()A ()B ()C MELD _____

Início: EDA ()N ()S Data: ____/____/____

Presença de varizes esofágicas ()N ()S _____

Último: EDA ()N ()S Data: ____/____/____

Presença de varizes esofágicas ()N ()S _____

Avaliação da fibrose:

() 1ª Biópsia hepática Data ____/____/____ N° de espaços-porta _____ Metavir : F ()A ()

() 2ª Biópsia hepática Data ____/____/____ N° de espaços-porta _____ Metavir : F ()A ()

() 3ª Biópsia hepática Data ____/____/____ N° de espaços-porta _____ Metavir : F ()A ()

() Sinais de hipertensão portal (atual ou prévio). Qual(is)?

()Varizes Esofágicas ()Esplenomegalia ()Circulação colateral

()Aumento da calibre da veia porta ()Ascite ()Outro _____

USG: Sinais sugestivos de cirrose: () Fígado diminuído () Aspecto nodular () Heterogêneo

Tratamento HBV/HDV: () Não () Sim

Se sim: Medicamento utilizado no PRIMEIRO tratamento:

() 3TC - Lamivudina () ADV - Adefovir () 3TC + TDF

() TDF - Tenofovir () IFN – Interferon () 3TC + ADV

() ETV – Entecavir () PegIFN

	1º TRATAMENTO	PCR HBV	PCR HDV
D. início			
D. fim			

Houve 2 tratamento? : () Não () Sim

Se sim : Medicamento no SEGUNDO tratamento

() 3TC - Lamivudina () ADV - Adefovir () 3TC + TDF

() TDF - Tenofovir () IFN – Interferon () 3TC + ADV

() ETV – Entecavir () PegIFN

	2º TRATAMENTO	PCR HBV	PCR HDV
D. início			
D. fim			

Tratamento regular: () Sim () Não - Motivo: _____

Internação associada ao HBV/HDV? : () Sim () Não - Causa_____

Data: _____

Causa: _____

Data: _____

Desfecho:

Óbito: () Não () Sim - Causa: _____ Data: _____

Adesão ao seguimento ambulatorial:

() Sim – Pelo menos uma consulta a cada 12 meses

() Não – >12 meses sem consulta em qualquer momento

APÊNDICE D - Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada: **“Caracterização Clínica e Epidemiológica de Pacientes com Diagnóstico de Hepatite Delta Acompanhados em Unidade de Referência no Estado de Rondônia – Análise de Uma Série de Casos.”**

A hepatite Delta é entre as hepatites virais a que possui forma mais agressiva. Ainda permanecem pontos sem total esclarecimento epidemiológico como os relacionados às formas de contágio e a evolução clínica desta doença. É considerado um problema de saúde pública na região Amazônica brasileira. Estudos têm sido feitos para determinar a verdadeira prevalência do vírus da hepatite delta do Brasil e no mundo. Nesse sentido, esse estudo visa descrever os aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais dos pacientes com hepatite Delta matriculados no Ambulatório Especializado de Hepatites Virais do CEPEN/IPEPATRO no município de Porto Velho - Rondônia.

Sua participação nessa pesquisa é voluntária e não alterará a prática médica habitual, apenas se procederá à coleta de dados através do prontuário médico. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento.

A sua participação contribuirá para trazer novos conhecimentos sobre a realidade da hepatite Delta no estado de Rondônia e no Brasil.

Os riscos de sua participação são com relação ao vazamento de informações do seu prontuário médico. Para evitar esses riscos, todos os dados serão coletados por um único pesquisador, serão utilizados de forma completamente anônima, sendo identificados apenas por um código alfanumérico, sem fazer referência aos seus dados de identificação pessoal, permanecendo sua identidade confidencial e nenhuma informação que o identifique será tornada pública. O pesquisador que fará a coleta de dados irá guardar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo.

Ao assinar este consentimento, está permitindo que essa coleta de dados seja realizada pelos pesquisadores, através de revisão do seu prontuário médico.

Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador (médico) ou com a instituição.

Espera-se que as conclusões desse estudo possam contribuir para ações em saúde voltadas ao diagnóstico, tratamento e prevenção desta doença. Os benefícios relacionados a sua participação serão de fundamental importância para contribuir em uma melhor caracterização e descrição dos pacientes com

hepatite Delta matriculados no serviço especializado de referência.
Esse TCLE será feito em duas vias e assinado por ambas as partes (paciente e médico), na qual uma ficará com o pesquisador responsável e outra com o paciente.

Declaração do participante

Eu, _____,
fui informado dos objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa acima, de maneira clara e detalhada. Tive a oportunidade de esclarecer minhas dúvidas, assim como fui orientado que poderei a qualquer momento solicitar novas informações.

Em caso de dúvidas ou esclarecimento, poderei entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis, Dr. Juan Miguel Villalobos Salcedo diretamente no Ambulatório de Hepatites Virais do CEPEM ou com Mariana Pinheiro Alves Vasconcelos através do email marianapvasconcelos@hotmail.com ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do CEPEM – Av. Guaporé, número 215, bairro Lagoa. Telefone (69) 32165442 ou (69) 32196012.

Declaro que recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e concordo em participar do projeto acima.

Assinatura do sujeito da pesquisa (paciente)

Assinatura do pesquisador

Porto Velho, ____ / ____ / ____