UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

TATIANE CINQUINI MORAES

Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em uma população institucionalizada portadora de doença mental

Goiânia
2013

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **[x] Dissertação** **[ ] Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Tatiane Cinquini Moraes					
E-mail:	tatycinquini@yahoo.com.br					
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? [x]Sim [ ] Não						
Vínculo empregatício do autor	Servidor Público					
Agência de fomento:	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico				Sigla:	CNPQ
País:	Brasil	UF:	GO	CNPJ:		
Título:	Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em uma população institucionalizada portadora de doença mental					
Palavras-chave:	vírus da hepatite B, infecção oculta, população institucionalizada, portadores de doença mental					
Título em outra língua:	Prevalence of hepatitis B vírus infection in a institutionalized mental illness population					
Palavras-chave em outra língua:	Hepatitis B vírus, occult infection, institutionalized population, mental illness					
Área de concentração:	Microbiologia					
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	17/04/2013					
Programa de Pós-Graduação:	Medicina Tropical e Saúde Pública					
Orientador (a):	Profª. Drª. Divina das Dôres de Paula Cardoso					
E-mail:	divina@prppg.ufg.br					
Co-orientador (a):*	Profª. Drª. Fabíola Sousa Fiaccadori					
E-mail:	fabiolsf@gmail.com					

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento [x] SIM [ ] NÃO[1]

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

_____ Data: ____ / ____ / _____

Assinatura do (a) autor (a)

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

TATIANE CINQUINI MORAES

Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em uma população institucionalizada portadora de doença mental

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública.

Orientador: Profª. Drª. Divina das Dôres de Paula Cardoso

Co-orientador: Profª. Drª. Fabíola Souza Fiaccadori

Goiânia
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG

M827p

Moraes, Tatiane Cinquini.
Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em uma população institucionalizada portadora de doença mental [manuscrito] / Tatiane Cinquini Moraes. - 2013.
85 f. : il., figs., tabs.

Orientadora: Profª. Drª. Divina das Dôres de Paula Cardoso; Coorientadora: Profª. Drª. Fabíola Souza Fiaccadori.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, 2013.
Bibliografia.
Inclui lista de figuras, quadros, tabelas, siglas e abreviaturas.
Apêndices e anexo.

1. Hepatite B – Vírus. 2. Pessoa com doença mental – Hepatite B – Vírus. 3. Hepatite B – Perfil soroepidemiológico. I. Título.

CDU: 616.36-002

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno (a): Tatiane Cinquini Moraes

Orientador (a): Profª. Drª. Divina das Dôres de Paula Cardoso

Co-orientador (a): Profª. Drª. Fabíola Souza Fiaccadori

Membros:

1. Profª. Drª. Divina das Dôres de Paula Cardoso

2. Profª. Drª. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro

3. Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa

Data: 17/04/2013

DEDICATÓRIA...

Dedico este trabalho aos pacientes e funcionários da Vila São José Bento Cottolego, sem os quais este estudo não seria possível.

"Nem a Lua precisa do corpo inteiro para encantar o mundo." (Autor Desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por tudo o que sou, o que tenho e o que espero. Agradeço por dar propósito à minha vida, me iluminar nas decisões e me guiar por caminhos corretos.

Agradeço aos meus pais por serem a minha referência e estarem sempre presentes na minha vida de uma forma indispensável.

Agradeço à Prof[a]. Divina das Dôres de Paula Cardoso e à Prof[a]. Fabíola Souza Fiaccadori pela oportunidade e pela orientação.

Agradeço à Prof[a] Sheila Araújo Teles e à Prof[a]. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro pelo auxílio na análise dos resultados.

Agradeço aos componentes da banca de qualificação deste trabalho: Megmar Aparecida dos Santos Carneiro, Sheila Araújo Teles, Regina Maria Bringel Martins.

Minha gratidão e meu muito obrigada aos alunos de Iniciação Científica do Laboratório de Virologia Humana, em especial ao Ítalo e ao Marielton.

Aos amigos de perto e de longe, obrigada pelas palavras de apoio, pelo incentivo e, principalmente, pelos momentos de descontração.

Agradeço a todos que estiveram comigo durante a realização deste trabalho, pela convivência e por tudo que compartilhamos e aprendemos.

SUMÁRIO

FIGURAS, QUADROS, TABELAS E ANEXOS x

SIGLAS E ABREVIATURAS xii

RESUMO xiv

ABSTRACT xv

1 INTRODUÇÃO 1

1.1 Breve histórico 1

1.2 Vírus da hepatite B 2

1.2.1 Classificação e estrutura morfológica 2

1.2.2 Organização genômica e proteica 4

1.2.3 Variabilidade do VHB 6

1.2.3.1 Variabilidade genômica/antigênica 6

1.2.3.2 Mutações 7

1.2.4 Replicação viral 9

1.2.5 Evolução da infecção pelo VHB 11

1.2.6 Infecção oculta pelo VHB..... 13

1.2.7 Diagnóstico laboratorial da infecção pelo VHB 16

1.3 Epidemiologia 18

1.3.1 Transmissão 18

1.3.2 Distribuição da infecção pelo VHB 19

1.3.2.1 Prevalência da infecção oculta pelo VHB 22

1.3.2.2 Distribuição dos genótipos 23

1.3.3 Hepatite B e portadores de doença mental 25

1.4 Prevenção e controle da infecção pelo VHB 26

2 JUSTIFICATIVA 30

3 OBJETIVOS 31

3.1 Objetivo geral 31
3.2 Objetivos específicos 31

4 MÉTODOS 32
4.1 Local e população de estudo 32
4.2 Amostragem 33
4.3 Metodologia 33
4.3.1 Detecção dos marcadores sorológicos 33
4.3.1.1 Detecção do HBsAg e do anti-HBs 34
4.3.1.2 Detecção do anti-HBc 34
4.3.1.3 Detecção do anti-HBc IgM 35
4.3.1.4 Detecção do HBeAg 35
4.3.1.5 Detecção do anti-HBe 36
4.3.2 Detecção do DNA viral 36
4.3.2.1 Extração do DNA viral 37
4.3.2.2 Reação em cadeia pela polimerase (PCR) 37
4.3.2.3 Detecção dos produtos da PCR 38
4.3.3 Sequenciamento genômico 38
4.3.3.1 Purificação do produto da PCR 38
4.3.3.2 Reação de sequenciamento 38
4.3.3.3 Análise filogenética 39
4.3.4 Análise estatística 39

5 RESULTADOS 40
5.1 Características da população estudada 40
5.2 Soroprevalência 42
5.2.1 Fatores associados à infecção pelo VHB 43
5.3 Detecção do DNA viral 44
5.4 Identificação dos genótipos 45

6 DISCUSSÃO 47

7 CONCLUSÃO 52

8 REFERÊNCIAS 53

FIGURAS, QUADROS, TABELAS E ANEXOS

FIGURAS

Figura 1. Microscopia eletrônica das partículas associadas ao VHB 3

Figura 2. Representação esquemática da partícula viral completa (partícula de Dane) 4

Figura 3. Estrutura genômica do VHB 6

Figura 4. Esquema do ciclo replicativo do VHB 11

Figura 5. Curso sorológico da infecção pelo VHB 13

Figura 6. Prevalência da infecção pelo VHB em crianças de 5-9 anos de idade, no ano de 2005 21

Figura 7. Prevalência da infecção pelo VHB em adultos de 14 a 49 anos de idade, no ano de 2005 21

Figura 8. Distribuição mundial dos genótipos do VHB 24

Figura 9. Distribuição dos genótipos A, D e F do VHB nas diferentes regiões brasileiras 25

Figura 10. Árvore filogenética de parte das regiões S e pré-S2, incluindo as seis amostras isoladas de pacientes institucionalizados portadores de doença mental (em negrito) e 20 sequencias do GenBank representativas dos diferentes genótipos do VHB 46

QUADROS

Quadro 1. Sequencia de iniciadores utilizados na PCR 37

TABELAS

Tabela 1. Características sociodemográficas de 333 pacientes institucionalizados portadores de doença mental 41

Tabela 2. Prevalência dos marcadores sorológicos para o VHB nos 333 pacientes institucionalizados portadores de doença mental 42

Tabela 3. Fatores associados à infecção pelo VHB em pacientes institucionalizados portadores de doença mental 43

Tabela 4. Análise multivariada dos fatores associados à infecção pelo VHB em pacientes institucionalizados portadores de doença mental 44

Tabela 5. Características sócio-demográficas dos seis pacientes que

apresentavam positividade ao DNA viral 45
Tabela 6. Perfil sorológico dos seis pacientes que apresentavam positividade ao DNA viral 45

ANEXOS

Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido 79
Anexo 2. Questionário 82
Anexo 3. Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa 84

SIGLAS E ABREVIATURAS

ALT – alanina aminotransferase

AgAu – antígeno Austrália

Anti-HBc – anticorpo contra o antígeno do *core* do vírus da hepatite B

Anti-HBe – anticorpo contra o antígeno "e"do vírus da hepatite B

Anti-HBs – anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B

cccDNA – *covalently closed circular DNA*

CDC – *Center for Disease Control and Prevention*

DNA – ácido desoxirribonucleico

DHBV - duck hepatitis B virus

dNTP – desoxirribonucleotídeo

EDTA – ácido etilenodiamino tetracético

GSHV – *ground squirrel hepatitis virus*

HBcAg – antígeno do *core* do vírus da hepatite B

HBeAg – antígeno "e" do vírus da hepatite B

HBxAg – antígeno "x"do vírus da hepatite B

HCC – carcinoma hepatocelular

IFN - interferon

KDa – kilodalton

$MgCl_2$ – cloreto de magnésio

mRNA – RNA mensageiro

NaCl – cloreto de sódio

nm – nanômetro

OMS – Organização Mundial de Saúde

pb – pares de bases

PCR – reação em cadeia pela polimerase

pgRNA - RNA pré-genômico

RNA – ácido ribonucleico

RT – transcriptase reversa

SDS – sulfato duodecil de sódio

STHBV- stork hepatitis B virus

TMB – tetrametilbenzidina

TRIS – tris-hidróxido-metil-amino-metano

VHB – vírus da hepatite B

WHV – *woodchuck hepatitis virus*

WMHBV - woolly monkey hepatitis B virus

RESUMO

A hepatite B representa um grande problema de saúde pública no Brasil e no mundo, devido ao número de indivíduos acometidos e às complicações resultantes das formas aguda e crônica da infecção. Indivíduos institucionalizados portadores de doença mental representam um grupo em risco para aquisição da infecção pelo vírus da hepatite B (VHB). Neste sentido, o presente estudo objetivou investigar o perfil soroepidemiológico e molecular da infecção pelo VHB em uma população institucionalizada portadora de doença mental do Estado de Goiás. Foi realizada a coleta sanguínea de 333 pacientes, no perídodo de Julho/2011 a Janeiro/2012, sendo as amostras submetidas ao ensaio imunoenzimático para deteção dos marcadores de infecção pelo VHB (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc) utilizando kits comerciais. A prevalência global da infecção pelo VHB foi de 12,9%, com um índice de positividade isolada para o marcador anti-HBc de 4,2%. Apenas três indivíduos foram reagentes para o marcador de infecção ativa pelo VHB (HBsAg), resultando em uma positividade de 0,9%. Somente 4,2% (14/333) da população estudada apresentaram evidência sorológica de vacinação prévia contra o vírus da hepatite B e, a suscetibilidade ao VHB, caracterizada pela ausência de qualquer marcador, foi observada em 82,9% da população. A análise multivariada mostrou o sexo (masculino) e as unidades de internações – F (pacientes do sexo masculino, adultos jovens, cadeirantes) e G (pacientes do sexo masculino, adultos, psiquiátricos) – como fatores associados à infecção pelo VHB. Em adição, procedeu-se a pesquisa do VHB-DNA nas amostras com perfil anti-HBc isolado (N=14), HBsAg positivas (N=3), anti-HBc/anti-HBs (N=26) bem como naquelas anti-HBs isoladas (N=14). Assim, 57 amostras foram submetidas à técnica de PCR. Três amostras com perfil anti-HBc isolado, uma anti-HBc/anti-HBs e uma anti-HBs isolado foram positivas para VHB-DNA, resultando em um índice de infecção oculta pelo VHB de 9,2% (5/54). A análise filogenética das amostras VHB-DNA positivas identificou todas como genótipo A. Os resultados encontrados demonstram uma importante prevalência da infecção pelo VHB na população estudada, destacando-se a necessidade de elaboração e adoção de estratégias de prevenção e controle da infecção pelo VHB, bem como de um contínuo monitoramento dos pacientes VHB-DNA positivos para acompanhamento e elucidação do estado da infecção.

ABSTRACT

Hepatitis B is a major public health problem worldwide due to the number of individuals affected and the complications resulting from acute and chronic forms of infection. According to the literature, institutionalized individuals suffering from mental disorders represent a group at risk for acquisition of hepatitis B virus (HBV) infection. In this sense, the present study aimed to investigate the molecular and seroepidemiological profile of HBV infection in a population of institutionalized mentally disturbed in state of Goiás. Blood samples from 333 patients were collected in period of July/2011 to January/2012, and the samples were subjected to enzyme immunoassay for detection of HBV markers infection (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc) using commercial kits. The overall prevalence of HBV infection was 12.9%, with an index of isolated positivity for anti-HBc marker of 4.2%. Only three individuals were positive for the marker of active HBV infection (HBsAg) resulting in a 0.9% positivity. Only 4.2% (14/333) of the study population had serologic evidence of previous vaccination against HBV and the susceptibility to HBV, characterized by the absence of any marker, was observed in 82.9% of the population. Multivariate analysis identified sex (male) and the inpatient unit - F (male patients, young adults, wheelchair users) and G (males patients, adults, psychiatric) - as a factor associated with HBV infection. In addition, we proceeded the HBV-DNA detection in the samples with profile anti-HBc alone (N = 14), HBsAg positive (N = 3), anti-HBc/anti-HBs (N = 26) and those anti-HBs alone (N = 14). Thus, 57 samples were subjected to PCR. Three samples with profile anti-HBc alone, one anti-HBc/anti-HBs and one anti-HBs alone were positive for HBV-DNA, resulting in an index of occult HBV infection of 9.2% (5/54). Phylogenetic analysis of HBV-DNA positive samples identified all as genotype A. The results show a significant prevalence of HBV infection in this population, highlighting the need for improvement in strategies for HBV infection prevention and control, as well as a continuous monitoring of HBV positive patients.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Breve histórico

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera como hepatite viral o processo infeccioso do fígado ocasionado por agentes virais que apresentam tropismo primário pelo órgão (WHO 2012b).

A descrição da síndrome se inicia com Hipócrates cerca de 300 – 400 anos antes de Cristo, quando se admitia sua origem infecciosa, o que foi gradativamente confirmado durante períodos de guerra, nos quais militares eram acometidos por epidemias com igual quadro clínico (Krugman 1976, Reuben 2002, Alter 2003a).

Outro relato importante de doença ictérica ocorreu no ano de 1883, em trabalhadores, na Alemanha, após receberem vacina contra varíola preparada a partir de linfa humana (Lurman 1885 apud Reuben 2002). Ainda, com o advento da insulina parenteral em 1922, relata-se grande número de casos de icterícia devido ao uso comum de lancetas para dosagem da glicemia (Flaum et al. 1926 apud Krugman 1976). Esses dois últimos fatos levaram à suspeição de que a transmissão fosse por via parenteral. No entanto, a transmissão da hepatite por via parenteral a partir de soro humano foi somente estabelecida no final dos anos 30, quando estudos sugeriram que a adição de soro humano em vacinas bem como o uso de lanceta, seria um veículo de transmissão da doença ictérica (Krugman 1976, Reuben 2002, Fonseca 2010).

Finalmente por volta dos anos 40, devido ao temor de que a doença ictérica, ao afetar os militares, colocasse as ações da Segunda Guerra Mundial em risco, estudos a cerca da epidemiologia da doença se intensificaram, tendo sido, desta forma, identificadas duas doenças clinicamente similares, porém epidemiologicamente diferentes. Baseando-se em suas rotas de transmissão, foram denominadas “hepatite infecciosa”, transmitida pela rota fecal-oral, com período de incubação curto, e “hepatite parenteral”, a qual apresentava período de incubação longo”. MacCallum propôs então que a nomenclatura fosse substituída por “hepatite do tipo A” e “hepatite do tipo B”, respectivamente, sendo estas adotadas e utilizadas até os dias de hoje (MacCallum 1947).

Considerando a hepatite tipo B, elucidações a respeito de sua etiologia começam a ser desvendadas por volta dos anos 60 quando o geneticista americano Baruch

Blumberg, estudando anticorpos contra lipoproteínas séricas em pacientes transfundidos, identificou no soro pertencente a um aborígene Australiano, a presença de um antígeno reagente ao anticorpo referido. Esse antígeno foi então denominado de antígeno Austrália (AgAu) e após o completo estabelecimento de sua associação à síndrome hepática, foi renomeado como antígeno associado a hepatite (Blumberg et al. 1965, Prince 1968). Posteriormente, após visualização do vírus por microscopia eletrônica, e a constatação de que este antígeno estava localizado no envelope viral, passou a ser chamado de antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) (Dane et al. 1970, Hollinger 1996, Alter 2003a).

Estudos posteriores demonstraram que a partícula viral completa era composta ainda por um ácido nucleico e uma camada proteica formada pelo antígeno então denominado "c" (HBcAg) (Dane et al. 1970, Almeida et al. 1971). Adicionalmente, foram descritos outros antígenos e anticorpos associados à infecção pelo VHB (Magnius & Espmark 1972, Alberti et al. 1978).

1.2 Vírus da hepatite B

1.2.1 Classificação e estrutura morfológica

O VHB é o vírus protótipo da família *Hepadnaviridae*, a qual compreende os gêneros *Orthohepadnavirus* e *Avihepadnavirus* (ICTV 2012). O gênero *Orthohepadnavirus* agrupa vírus infectantes de mamíferos: VHB (vírus da Hepatite B), *WHV* (vírus da hepatite de marmotas), *GSHV* (vírus da hepatite de esquilos) e *WMHBV* (vírus da hepatite B de macacos). O gênero *Avihepadnavirus* agrupa vírus aviários, infectando patos, garças e cegonhas: *DHBV* (vírus da hepatite B de patos), *HHBV* (vírus da hepatite B de garças) e *STHBV* (vírus da hepatite B das cegonhas) (Pult et al. 2001, ICTV 2012).

Estudos por microscopia eletrônica mostraram que o VHB pode ser encontrado no soro de indivíduos infectados sob três formas morfológicas (Figura 1) (Dane et al. 1970, Gerber et al. 1974). Duas delas consideradas partículas não infecciosas, com diâmetro de 22nm e constituídas por lipídeos derivados da célula hospedeira e proteínas de superfície viral. Admite-se que sejam encontradas circulando no sangue de

indivíduos infectados pelo VHB em uma concentração significativamente maior que a partícula completa (Hollinger 1996, Lee 1997, Doo & Ghany 2010).

A partícula viral completa, ou partícula de Dane, com cerca de 42nm de diâmetro, apresenta morfologia esférica e possui um envoltório externo ou envelope, composto por lipídios de origem celular e proteínas de origem viral. Internamente ao envelope, o VHB apresenta o nucleocapsídeo ou *core*, constituído pelo capsídeo e pelo genoma viral. O capsídeo apresenta simetria icosaédrica e diâmetro aproximado de 27nm. É formado por 180 capsômeros compostos pelo antígeno "c" (HBcAg) (Hollinger 1996, Lee 1997). Ao genoma viral associa-se a enzima DNA polimerase (Gerlich & Robinson 1980) (Figura 2).

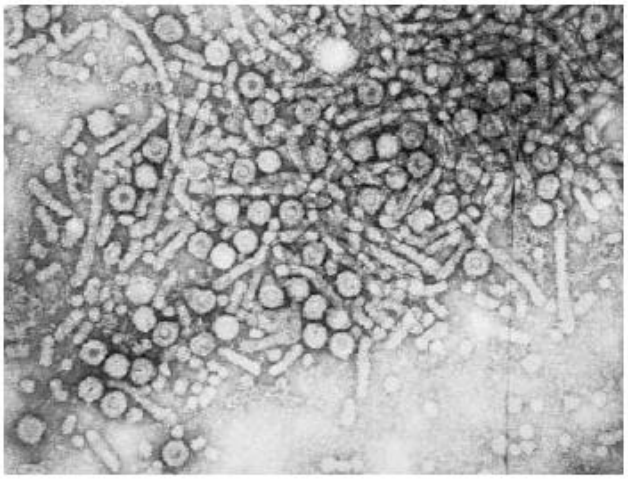


Figura 1. Microscopia eletrônica das partículas associadas ao VHB (Lee 1997).

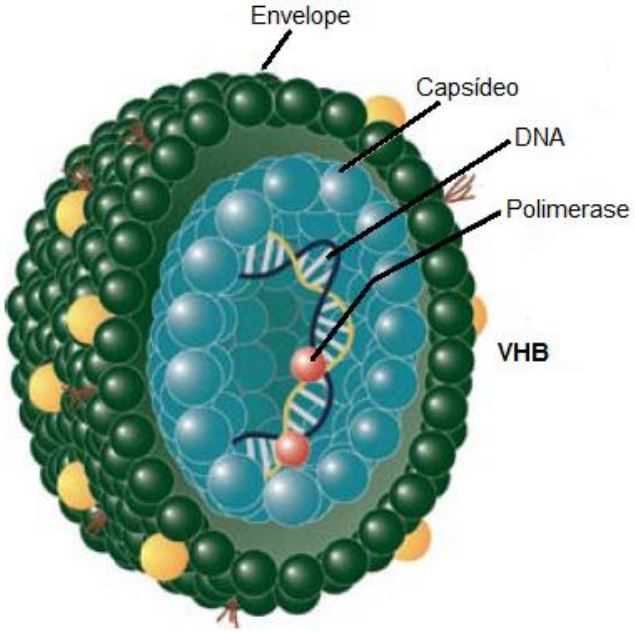


Figura 2. Representação esquemática da partícula viral completa (partícula de Dane) (adaptada de Elgouhari et al. 2008).

1.2.2 Organização genômica e proteica

O genoma do VHB é constituído por uma molécula de DNA circular de fita parcialmente dupla com cerca de 3200 pares de base (pb). A fita externa é completa, de polaridade negativa, enquanto a fita interna é incompleta e apresenta polaridade positiva (Seeger & Mason 2000). A circularidade do DNA é mantida pelo pareamento de bases das terminações 5' de ambas as fitas. Essa região contém duas sequências repetidas de 11 nucleotídeos denominadas DR1 e DR2, que desempenham papel essencial na replicação viral, assim como na integração do DNA do VHB ao genoma do hospedeiro (Wei et al. 2010).

O genoma do VHB contém quatro regiões de leitura aberta denominadas pré-S/S, pré-C/C, P e X, que codificam proteínas estruturais e não estruturais. As regiões S e C possuem mais de um códon de iniciação, gerando diferentes produtos (Liang 2009, Doo & Ghany 2010) (Figura 3).

Assim, o gene S é dividido nas regiões pré-S1, pré-S2 e S, codificando as proteínas de superfície do envelope viral, denominadas L (*large*), M (*middle*) e S (*small*), respectivamente (Lee 1997, Seeger & Mason 2000).

A proteína L, codificada a partir do primeiro códon de iniciação, possui massa molecular de aproximadamente 39 kDa e desempenha papel importante na montagem e infecciosidade do vírus. É altamente imunogênica e se acredita que contenha o sítio de adsorção do vírus ao hepatócito (Lee 1997, Hollinger 2007).

A proteína M, codificada a partir do segundo códon, possui cerca de 31 kDa. Admite-se também ser esta altamente imunogênica, mas sua função não está ainda bem estabelecida (Lee 1997, Hollinger 2007).

A proteína S, denominada antígeno de superfície viral – HBsAg, é codificada pela região S. Essa proteína possui cerca de 24 kDa e apresenta uma região bem conservada, o determinante antigênico "a", com capacidade de induzir anticorpos neutralizantes capazes de proteger contra a infecção pelo VHB, sendo utilizada no desenvolvimento de vacinas (Lee 1997, Seeger & Mason 2000, Block et al. 2007).

Adicionalmente, as proteínas L, M e S apresentam uma distribuição variada considerando o vírus e as partículas subvirais. Assim, as partículas subvirais são principalmente constituídas pela proteína S, com quantidades variáveis de proteína M. A proteína L está presente em menor proporção, ou mesmo ausente nessas partículas (Block et al. 2007). Em oposto, nos vírus completos, há predominância da proteína L em relação a M e S. Considerando-se que a proteína L seja o domínio de ligação do vírus ao receptor celular, esta distribuição das proteínas de superfície impede que ocorra a competição entre partículas subvirais e vírus completo pelo receptor celular (Hollinger 2007).

O gene C possui as regiões pré-*core* e *core* que codificam as proteínas "e" (HBeAg) e "c" (HBcAg), respectivamente (Liang 2009). O HBeAg é proteína secretada e importante marcador de replicação viral, sendo seus níveis correlacionados com a viremia pelo VHB (Perrillo et al. 1982, Block et al. 2007). Monômeros de HBcAg se organizam formando o capsídeo viral. O HBcAg é ainda detectado no hepatócito, é altamente imunogênico e, assim, capaz de induzir a formação do anticorpo denominado anti-HBc (Seeger & Mason 2000, Elgouhari et al. 2008).

A região X codifica a proteína denominada x (HBxAg). Embora sua função não esteja bem definida, admite-se que HBxAg tenha função regulatória, ativando a transcrição de genes virais e celulares, sendo necessária para a infecção produtiva pelo VHB e contribuindo no potencial oncogênico do vírus ao alterar a expressão de genes da célula hospedeira. Adicionalmente, acredita-se que a proteína possa atuar na regulação do ciclo celular, estimular a transdução de sinais, modular a atividade

apoptótica celular e interferir no reparo do DNA (Seeger & Mason 2000, Bouchard & Schneider 2004, Wei et al. 2010, Kew 2011).

A região P é a maior do genoma, se sobrepondo às outras regiões, e codifica a polimerase viral. A proteína é dividida em quatro domínios, com funções distintas: (1) domínio amino-terminal, envolvido na iniciação da síntese da fita de polaridade negativa; (2) região espaçadora, aparentemente sem função definida, separa o domínio terminal do próximo domínio (3) domínio transcriptase reversa (RT), responsável pela síntese do genoma; e (4) domínio H ou carboxi-terminal, com ação de ribonuclease, que degrada o RNA pré-genômico (pgRNA) (Seeger & Mason 2000, Doo & Ghany 2010, Wei et al. 2010).

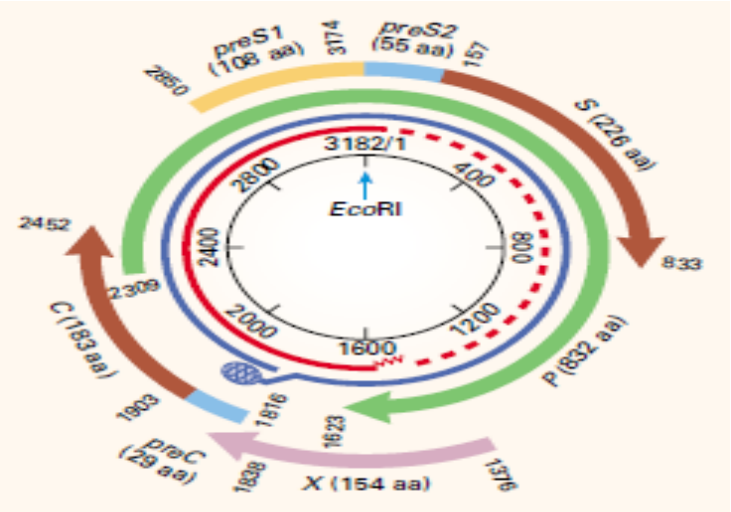


Figura 3. Estrutura genômica do VHB (Lee 1997).

1.2.3 Variabilidade do VHB

1.2.3.1 Variabilidade genômica/antigênica

O VHB pode ser classificado de acordo com a heterogeneidade da proteína S, a qual conta com o determinante antigênico comum, *a*, e dois pares de determinantes mutuamente exclusivos, *d/y* e *w/r*, especificados por substituições dos aminoácidos localizados nas posições 122 e 160, respectivamente (Brancroft et al. 1972, Le Bouvier 1972). Desta forma, o VHB apresenta quatro principais subtipos sorológicos (adw, ayw,

adr e ayr) e nove subtipos secundários quando se considera a subespecificidade dos determinantes w (w1-w4) e q (q+/q-) (adw2, adw4, ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, adrq+, adrq-, ayr) (Couroucé-Pauty et al. 1983).

Em adição, de acordo com a divergência entre as sequências gênicas das amostras de VHB, genótipos têm sido admitidos a partir de diferença na sequencia de nucleotídeos maior que 7,5% (Okamoto et al. 1988). Neste contexto pelo menos oito genótipos do VHB, designados de A a H, foram identificados (Norder et al. 1992, Stuyver et al. 2000, Arauz-Ruiz et al. 2002). Dois novos genótipos (I e J) foram propostos, mas ainda requerem estudos adicionais para sua definição (Huy et al. 2008, Tatematsu et al. 2009).

Estudos indicam uma associação entre subtipos e genótipos do VHB. De forma geral, amostras *adw* são encontradas nos genótipos A, B, F, G e H; *adr* e *ayr* no genótipo C; e *ayw* nos genótipos D e E (Arauz-Ruiz et al. 1997, Norder et al. 2004).

Considera-se subgenótipos quando amostras do VHB, pertencentes a um mesmo genótipo, apresentam diferenças nucleotídicas de 4-7,5% (Kay & Zoulim 2007, Kramvis et al. 2008). Desta forma, o genótipo A conta com sete subgenótipos (A1-A7), o B com nove (B1-B9), o C com doze (C1-C12), o D com oito (D1-D8) e o F com quatro subgenótipos (F1-F4) (Chekaraou et al. 2010, Kurbanov et al. 2010, Hubschen et al. 2011, Mulyanto et al. 2011, Thedja et al. 2011).

Genótipos e subgenótipos apresentam distribuição geográfica característica, podendo estar relacionados à origem étnica de cada população (Norder et al. 2004, McMahon 2009, Thedja et al. 2011). Adicionalmente, estudos têm explorado uma possível relação entre os genótipos de VHB e a gravidade da doença hepática e/ou o perfil de resposta ao tratamento (McMahon 2009, Lin & Kao 2011). No entanto, não existem dados suficientes para que se possa atribuir um valor preditivo de gravidade a um genótipo específico (Dény & Zoulim 2010).

1.2.3.2 Mutações

A DNA polimerase do VHB (transcriptase reversa) apresenta baixa fidelidade e baixa atividade de revisão/correção devido à ausência da atividade de exonuclease. Neste sentido, a estratégia de replicação do VHB propicia a ocorrência de mutações no genoma viral, e consequentemente, a produção de uma heterogeneidade de sequencias

nucleotídicas (Gunther 2006, Hollinger 2007, Ocana et al. 2011). A maioria destas mutações não são mantidas e propagadas na progênie viral, no entanto, em pacientes cronicamente infectados, variantes do VHB, apresentando uma clara relação filogenética, coexistem, gerando o conceito de quasispécies (Locarini 2004, Kay & Zoulim 2007, Alesting 2011).

Mutações clinicamente importantes também têm sido descritas em várias regiões do DNA viral, sendo as principais descritas nas regiões pré-S e pré-C/C. Na região S, a substituição de uma glicina por uma arginina na posição 145, é a principal mutação associada ao escape vacinal (Carman et al. 1990). Outras mutações também têm sido descritas na mesma região, as quais podem levar à redução da afinidade de anticorpos monoclonais direcionados ao determinante "a" e a uma menor reatividade das amostras virais durante a realização de testes diagnósticos (Torresi 2002). Deleções ao longo da região pré-S, de comprimentos variáveis, têm sido associadas à ocorrência de doença hepática progressiva (Alesting 2011). Já a substituição de uma tirosina por uma cisteína na posição 100 tem sido frequentemente encontrada em pacientes com perfil HBsAg negativo e anti-HBc positivos, estando em alguns casos associada à infecção oculta pelo VHB (Gutiérrez et al. 2004, Motta-Castro et al. 2008, Mello et al. 2011).

Alguns pacientes carreadores crônicos do VHB, com doença hepática ativa, apresentam sorologia negativa para o marcador HBeAg embora com altos níveis de viremia. A substituição de uma guanina por uma alanina na posição 1896 resulta na inclusão de um códon de parada na região pré-C do genoma viral, impedindo a expressão do HBeAg (Akahabe et al. 1990, Qin et al. 2009, Alesting 2011). Na região promotora basal do *core*, a substituição de adenina por timina na posição 1762 e de guanina por adenina a posição 1764 reduz a transcrição do mRNA e, consequentemente, a secreção de HBeAg, além de aumentar a replicação viral (Okamoto et al. 1994, Laras 2002, Qin et al. 2009). Mutações nesta mesma região também têm sido associadas ao risco aumentado de desenvolver inflamação grave, cirrose e hepatocarcinoma (HCC) (Kao et al. 2003).

A pressão seletiva imposta pela terapia antiviral pode levar à seleção de VHB contendo mutações no gene da polimerase viral que conferem resistência às drogas antivirais. As principais mutações associadas a este perfil ocorrem no motivo YMDD (tirosina-metionina-aspartato-aspartato) presente no domínio C da polimerase viral (Kay & Zoulim 2007). Adicionalmente, a sobreposição de regiões de leitura aberta observada

no genoma do VHB faz com que mutações que ocorram no gene da polimerase possam afetar também o gene S, e vice-versa (Hollinger 2007, Pondé 2010, Wei et al 2010).

Mutações também têm sido descritas na região X do genoma do VHB e associadas à ocorrência de hepatocarcinoma, sugerindo um potencial papel destas mutações na carcinogênese (Yeh et al. 2000, Chen et al. 2005).

1.2.4 Replicação Viral

O VHB é um vírus que apresenta tropismo por células hepáticas. A infecção se inicia com a adsorção do vírus à membrana do hepatócito pela interação entre proteínas do envelope viral e receptores celulares específicos (Klingmuller & Schaller 1993) (Figura 4). Embora vários candidatos a receptor celular para o VHB tenham sido propostos, ainda não se conhece a real identidade do receptor ou complexo receptor celular, de forma que parte do processo de ligação do vírus ao hepatócito permanece desconhecido. Isso se deve em parte à ausência de linhagens celulares susceptíveis à infecção pelos hepadnavírus (Seeger & Mason 2000, Block et al. 2007, Glebe 2007). Em relação ao vírus, a porção N-terminal da proteína L do envelope parece ser essencial para mediar a ligação vírus-célula (Lepère-Douard et al. 2009).

Após a adsorção, a partícula viral é internalizada para o citoplasma, por endocitose, onde ocorre a liberação do DNA viral. A forma circular do DNA viral é levado ao núcleo, onde as polimerases, viral e do hospedeiro, reparam a fita parcialmente dupla formando uma estrutura de DNA circular covalentemente fechado (cccDNA), a qual serve de molde para a transcrição de todos os mRNAs virais (Seeger & Mason 2000, Sohn et al. 2009, Doo & Ghany 2010).

Os mRNAs são transportados para o citoplasma onde ocorre a tradução das proteínas virais, a montagem do nucleocapsídeo e a replicação do DNA viral (Hollinger 2007).

O processo de replicação requer o encapsidamento do pgRNA, juntamente com a polimerase viral, pelas partículas do *core*. Assim, após a formação do nucleocapsídeo, a transcrição reversa é iniciada, utilizando a enzima polimerase viral como iniciadora (Wang & Seeger 1992, Wei et al. 2010). Ocorre então a síntese da fita negativa com posterior degradação do pgRNA pela ribonuclease viral (domínio H da polimerase). Esta nova fita de DNA é usada como molde para síntese da fita complementar, de

polaridade positiva, incompleta. Finalmente a partícula de DNA fita parcialmente dupla é circularizada (Doo & Ghany 2010).

Uma vez completa a síntese do genoma viral, o nucleocapsídeo adquire a membrana lipídica a partir do reticulo endoplasmático ao qual estão aderidas as proteínas de superfície do vírus, formando a partícula completa, partícula de Dane, que é secretada do hepatócito. Alternativamente, a partícula viral imatura pode ser transportada novamente ao núcleo e repetir o processo, formando novas moléculas de cccDNA, sendo este o modo pelo qual os níveis de cccDNA podem ser aumentados na ausência de re-infecção da célula (Block et al. 2007, Liang 2009, Doo & Ghany 2010).

A presença do cccDNA é essencial na manutenção da infecção pelo VHB. Admite-se que o cccDNA resida no núcleo dos hepatócitos infectados na forma de DNA episomal estável, não integrado ao genoma do hospedeiro (Seeger & Mason 2000, Zoulim 2005, Block et al. 2007), sendo o seu número estimado em um a 50 por cada hepatócito (Tuttleman et al. 1986). Como o cccDNA serve de molde para a síntese de mRNA viral, sua estabilidade nos hepatócitos significa fonte constante de partículas virais, podendo persistir no núcleo do hepatócito durante toda a vida da célula. Neste sentido tem sido admitido que a persistência do cccDNA tenha papel importante na reativação da doença após interrupção da terapia antiviral e em casos de imunossupressão, bem como no desenvolvimento de resistência a drogas (Block et al. 2007, Doo & Ghany 2010).

Adicionalmente, o genoma do VHB pode se integrar ao genoma do hospedeiro de forma aleatória, embora esta integração não seja necessária para que ocorra a replicação viral (Block et al. 2007, Doo & Ghany 2010).

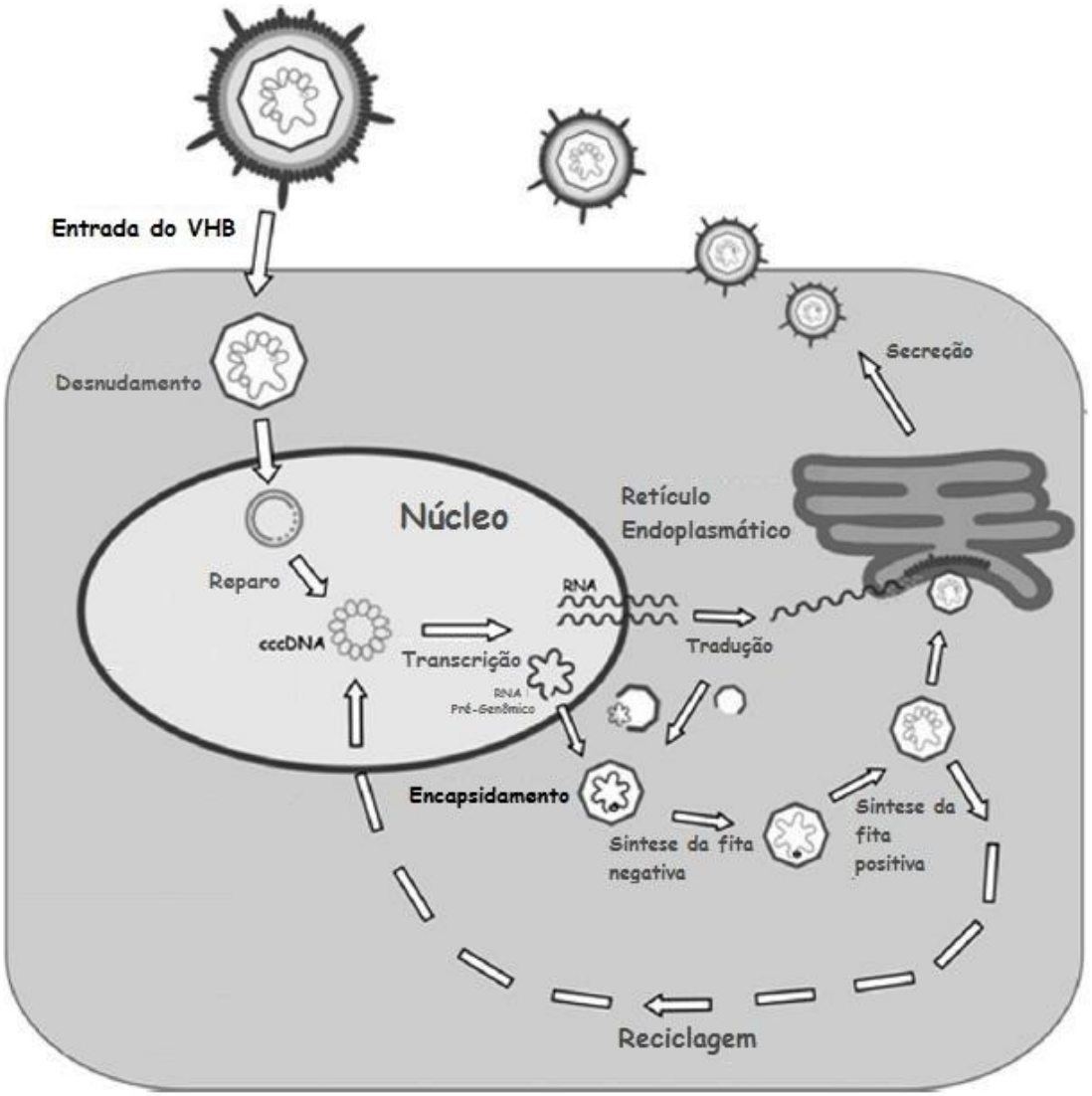


Figura 4. Esquema do ciclo replicativo do VHB (adaptado de Bouchard & Navas-Martin 2011).

1.2.5 Evolução da infecção pelo VHB

Acredita-se que o curso da infecção pelo VHB, bem como seu desfecho clínico, seja modulado pela resposta imune do hospedeiro (Villeneuve 2005, Palmore et al. 2009). No contexto, após a infecção, o VHB apresenta um período de incubação de dois a três meses, seguido de um período prodrômico (menos de duas semanas) (Dény & Zoulim 2010). Segue-se a este período a denominada fase aguda que pode ser assintomática ou sintomática (Chang 2007, Dény & Zoulim 2010) (Figura 5).

A infecção sintomática pelo VHB pode resultar em melhora progressiva do quadro clínico, com completa recuperação do dano hepático, ou evoluir rapidamente

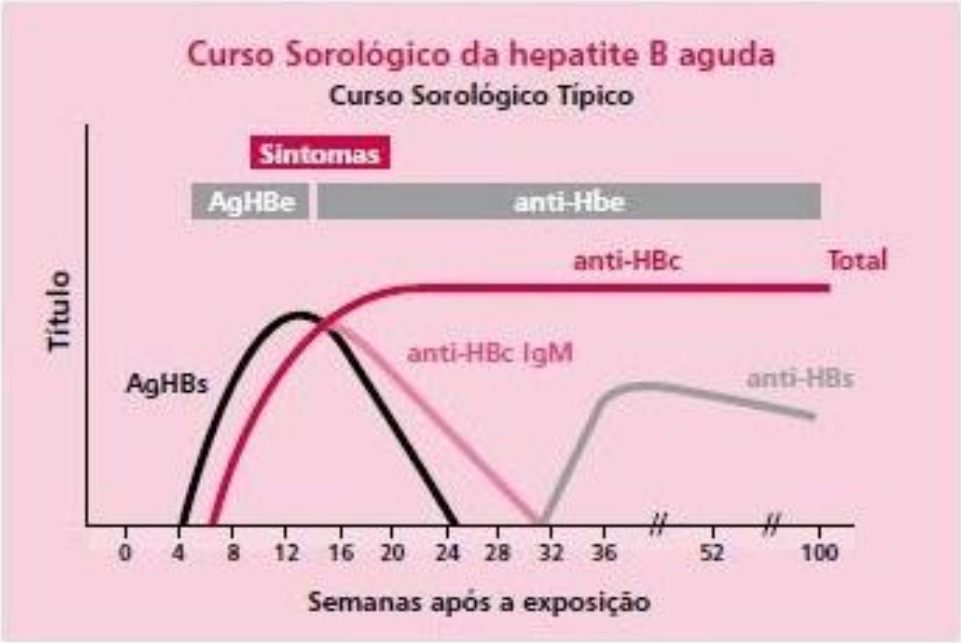
para insuficiência hepática devido a uma acentuada resposta imune do hospedeiro, que ocorre em cerca de 1% dos pacientes, em quadro clínico denominado de hepatite fulminante, sendo este quadro responsável por um alto índice de mortalidade (Lee 1993, Chang 2007, Elgouhari et al. 2008, Dény & Zoulim 2010).

Em alguns indivíduos ocorre a progressão para o estado de portador crônico do vírus quando o organismo não consegue eliminar o vírus (Figura 5). Na hepatite crônica progressiva, como consequência do quadro inflamatório desencadeado pelo VHB, pode ocorrer fibrose hepática e subsequente cirrose e HCC. A evolução para cirrose ocorre em 2 a 5% dos pacientes HBeAg positivos e, em pacientes cirróticos, 2,5 a 3% desenvolvem HCC (Fattovich et al. 2004, Elgouhari et al. 2008, Carey 2009).

Alguns pacientes cronicamente infectados podem ainda apresentar um controle imunológico da infecção que os define como "carreadores assintomáticos ou inativos" do HBsAg. Esta condição é geralmente associada a um desfecho favorável ao longo do tempo, com baixo risco de desenvolvimento de cirrose e HCC (Elgouhari et al. 2008, Dény & Zoulim 2010). Por outro lado, portadores assintomáticos da infecção pelo VHB, aguda ou crônica, são considerados, epidemiologicamente, os maiores reservatórios da infecção, uma vez que representam uma das principais fontes de transmissão do vírus a indivíduos susceptíveis (Alter 2003b).

Considera-se que o desenvolvimento da infecção crônica pelo VHB possa ser dependente da idade do indivíduo quando da infecção. Neste sentido, tem sido observado que a maioria das infecções pelo VHB em adultos (90 a 95%) evolui para a cura, enquanto aproximadamente 90% das infecções transmitidas verticalmente evoluem para a cronicidade, uma vez que o sistema imune de neonatos não está completamente desenvolvido ao nascimento (Chang 2007, Carey 2009).

Adicionalmente, tem sido admitido que fatores do vírus como a carga viral, o genótipo e a presença de mutações podem afetar o curso natural da infecção pelo VHB, a carcinogênese e a eficácia de estratégias antivirais, bem como fatores do hospedeiro, incluindo a presença de co-morbidades, sexo, estado imune, antecedentes genéticos e co-infecção por outros vírus hepatotrópicos, além da idade (Lee 1997, Elgouhari et al. 2008, Carey 2009, McMahon 2009, Hsu et al. 2011).



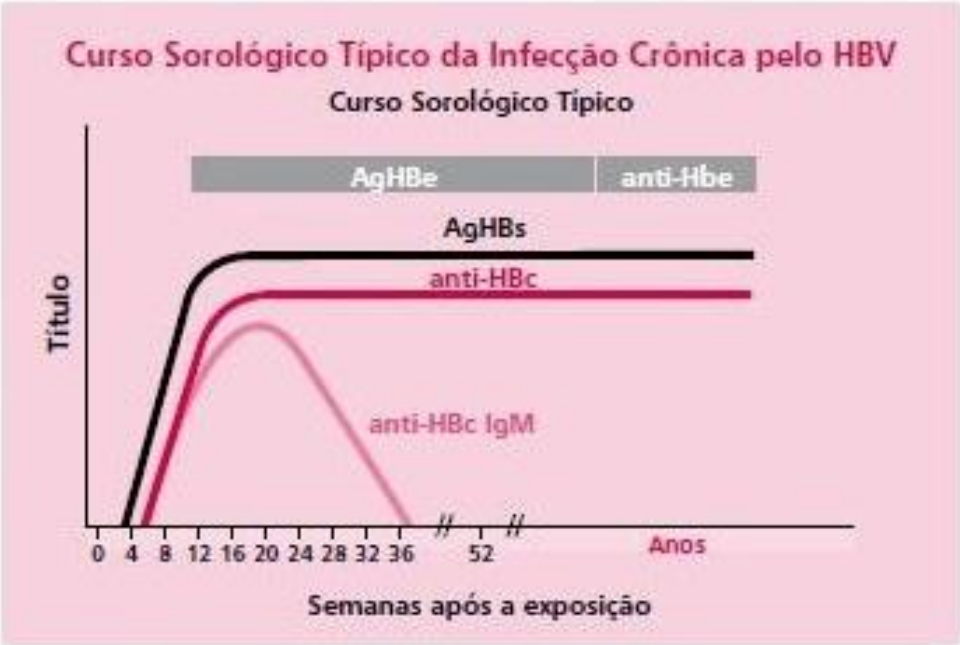


Figura 5. Curso sorológico da infecção pelo VHB (Brasil 2008).

1.2.6 Infecção oculta pelo VHB

Embora seja aceito que o diagnóstico da infecção pelo VHB tenha como base a detecção do marcador HBsAg no soro, estudos têm demonstrado, por técnicas de biologia molecular, a presença da chamada "infecção oculta pelo VHB" (Asim et al.

2010, Panigrahi et al. 2010, Yuan et al. 2010). Esta entidade clínica corresponde a uma forma particular de hepatite B crônica, onde embora o HBsAg se apresente negativo, ocorre persistência do genoma viral no fígado, com o DNA detectável ou não no soro, (Raimondo et al. 2008).

Acredita-se que a base molecular da infecção oculta pelo VHB esteja relacionada à estabilidade e à persistência, por longo tempo, das moléculas de cccDNA viral nos hepatócitos, o que, juntamente com a longa meia vida destas células, implicaria na possibilidade da infecção pelo VHB persistir ao longo do tempo (Zoulim 2005, Ocana 2011, Raimondo et al. 2013). Nesses casos, o sistema imune do hospedeiro conseguiria suprimir a replicação viral de forma eficaz (Palmore et al. 2009).

Há evidências de que fatores relacionados ao hospedeiro atuem na indução e manutenção da infecção oculta pelo VHB (Raimondo et al. 2013). Neste sentido, demonstrou-se que isolados virais envolvidos na ocorrência de infecção oculta recuperam completamente a capacidade de replicação, transcrição e síntese de proteínas quando fora do microambiente hepático do hospedeiro (Pollicino et al. 2007).

Outras teorias têm sido propostas a cerca dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento da infecção oculta, sendo uma delas relacionada à possibilidade de mutações em regiões do genoma do VHB que inibiriam a produção de HBsAg ou levariam a produção da proteína “S” antigenicamente modificada. Essas mutações poderiam alterar a integridade estrutural da proteína e afetar a ligação ao anti-HBs utilizado nos ensaios imunoenzimáticos e, consequentemente, sua detecção *in vitro* (Raimondo et al. 2007, Raimondo et al. 2008, El et al. 2010, Pondé et al. 2010).

Outra possibilidade seria a existência de imunocomplexos formados pela ligação do HBsAg ao anti-HBs, impossibilitando a detecção do marcador por ensaios imunoenzimáticos (Pondé et al. 2010, Schmeltzer & Sherman 2010).

Em casos de co-infecção, a replicação do VHB também pode ser suprimida. Neste sentido especula-se que proteínas do *core* do vírus da hepatite C possam atuar como proteínas regulatórias, reduzindo a capacidade de replicação do VHB e a produção de HBsAg, o que compromete sua detecção no soro de pacientes co-infectados, com o estabelecimento da infecção oculta associada ao mecanismo de interferência viral (Shih et al. 1993, Schuttler et al. 2002, Raimondo et al. 2005, Raimondo et al. 2007). Por outro lado, indivíduos positivos para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), frequentemente apresentam infecção oculta pelo VHB, no entanto, não existem evidências de um possível efeito direto do HIV na

atividade do VHB (Gutiérrez-García 2011). Ainda, outros agentes infecciosos como o *Schistosoma mansoni* são admitidos como potencialmente inibidores do VHB (McClary et al. 2000).

Dentro do grupo de pacientes que apresentam infecção oculta, é possível observar diferenças baseadas no perfil dos marcadores sorológicos (Raimondo et al. 2008, Ocana et al. 2011, Candotti et al. 2012). Assim, embora a infecção oculta pelo VHB seja frequentemente observada em pacientes com anticorpos contra o VHB (anti-HBc e/ou anti-HBs), mais de 20% dos indivíduos que apresentam infecção oculta são negativos para todos os marcadores sorológicos da infecção pelo vírus (Torbenson & Thomas 2002, Allain et al. 2009, Stramer et al. 2011). Neste sentido, a positividade para os marcadores anti-HBs e anti-HBc na infecção oculta pelo VHB tem sido estimada em 35% e 42%, respectivamente (Torbenson & Thomas 2002, Raimondo et al. 2008). Considera-se ainda que indivíduos VHB-DNA positivos que apresentam anti-HBc como único marcador sorológico sejam mais infecciosos do que aqueles que também apresentam anti-HBs (Allain & Cox 2011).

O significado clínico da infecção oculta pelo VHB ainda não está bem estabelecido, no entanto, em termos de saúde pública, a importância clínica está no risco de transmissão do VHB, principalmente através de transfusões de sangue e doações de órgãos, uma vez que a pequena quantidade de VHB-DNA presente no soro de indivíduos com infecção oculta é suficiente para infectar o receptor susceptível (Asim et al. 2010, Allain & Cox 2011, Ocana et al. 2011, Raimondo et al. 2013).

Considerando que na infecção oculta pelo VHB o vírus mantém sua atividade replicativa e transcricional, bem como a habilidade de sintetizar proteínas, embora em níveis mais baixos, sua importância clínica também tem sido associada com o risco de reativação da doença em estado de imunossupressão e consequente desenvolvimento da doença hepática (Pollicino et al. 2007, Raimondo et al. 2007, Kusumoto et al. 2009, Palmore et al. 2009). A atividade viral pode ainda determinar moderada, embora contínua, condição de inflamação, o que contribuiria para a progressão da doença para cirrose e/ou HCC (Raimondo et al. 2005, Raimondo et al. 2007, Schmeltzer & Sherman 2010, Raimondo et al. 2013).

1.2.7 Diagnóstico laboratorial da infecção pelo VHB

A detecção de marcadores sorológicos específicos da infecção pelo VHB, como antígenos (HBsAg, HBeAg) e anticorpos (anti-HBs, anti-HBc e anti-HBe), pode ser realizada através de ensaios imunoenzimáticos. Já a utilização de técnicas moleculares como a reação em cadeia pela polimerase (PCR) e o sequenciamento do genoma viral tem possibilitado a avaliação qualitativa e quantitativa do DNA do VHB (Chevaliez & Pawlotsky 2009, Liang 2009, Dény & Zoulim 2010).

Considerando os marcadores sorológicos da infecção pelo VHB, tem-se que a presença do HBsAg pode preceder o aparecimento dos sintomas, sendo o primeiro marcador a ser detectado no soro de pacientes infectados. Em caso de recuperação clínica este marcador desaparece, sendo substituído por seu anticorpo específico (anti-HBs), o qual pode persistir por toda a vida e conferir imunidade protetora (Brasil 2008, Elgouhari et al. 2008, Carey 2009, Edey et al. 2010).

O marcador anti-HBc IgM, normalmente, é detectável no início dos sintomas e desaparece com a resolução da infecção, período em que se torna detectável a fração IgG, de forma que o marcador anti-HBc persiste por toda a vida (Lee 1997, Liang 2009).

Neste sentido, em caso de recuperação clínica, o diagnóstico de infecção passada pelo VHB é feito pela detecção do anti-HBs e anti-HBc (Lee 1997, Carey 2009, Dény & Zoulim 2010). No entanto, 10% a 15% dos pacientes que se recuperam da infecção pelo VHB não desenvolvem anti-HBs, assim, o anti-HBc tem sido considerado o marcador universal de exposição ao VHB, enquanto o marcador anti-HBs fornece informações a cerca da imunidade ao VHB (Tabor et al. 1981, Liang 2009).

A fase aguda da infecção também é marcada pela detecção do antígeno HBeAg, cuja presença está associada à replicação viral e à alta transmissibilidade do vírus. O declínio dos níveis de HBeAg e a detecção de anti-HBe indicam a diminuição ou ausência de replicação viral e, na infecção aguda, associa-se a uma provável resolução da infecção (Elgouhari et al. 2008, Chevaliez & Pawlotsky 2009, Liang 2009).

Quando da infecção crônica, observa-se a persistência por mais de seis meses do marcador HBsAg, podendo ainda ser detectados os marcadores anti-HBc e HBeAg ou anti-HBe (Pungpapong et al. 2007, Elgouhari et al. 2008, Carey 2009). Redução dos níveis de HBeAg espontaneamente ou devido ao tratamento, é um importante indicador da evolução da doença. Desta forma, a soroconversão do HBeAg normalmente confere

um desfecho favorável, enquanto a soroconversão tardia, ou a ausência desta, pode acelerar a progressão para cirrose (Block et al. 2007). Adicionalmente, a detecção do marcador anti-HBc IgM, em baixos níveis, pode indicar a reativação viral durante a infecção crônica (Pondé 2013).

O DNA viral pode ser encontrado no soro de indivíduos com infecção aguda ou crônica, sendo associado à replicação do vírus (Lee 1997, Elgouhari et al. 2008). Técnicas moleculares que detectam e/ou quantificam o DNA viral no soro e em tecidos, como a hibridização do ácido nucléico e a PCR, são cada vez mais utilizadas no diagnóstico da infecção pelo VHB. A sensibilidade de algumas destas técnicas permite a detecção do VHB-DNA antes mesmo do aparecimento dos marcadores sorológicos, inclusive nos casos onde há mutações no genoma viral (Chevaliez & Pawlotsky 2009, Liang 2009). Além disso, a detecção e quantificação do HBV-DNA tem sido essencial, especialmente para indicação e monitoramento do tratamento (Loomba & Liang 2007, Dény & Zoulim 2010).

Adicionalmente, análise do polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP) e o seqüenciamento genômico, são técnicas utilizadas para a determinação de genótipos e subgenótipos virais. Este último permite ainda, a detecção de mutações, como aquelas relacionadas à diminuição da susceptibilidade a antivirais (Chevaliez & Pawlotsky 2009).

Considerando a infecção oculta pelo VHB, ainda não existe um método diagnóstico padronizado disponível. Desta forma, o teste padrão ouro para detecção da infecção oculta pelo VHB é a detecção do DNA viral a partir do tecido hepático, realizado por técnicas de alta sensibilidade e especificidade como a PCR (Raimondo et al. 2008, Ocana et al. 2011). No entanto, sendo as amostras de tecido hepático disponíveis apenas em uma minoria dos casos, a análise do soro/plasma é a abordagem mais comum para identificação dos casos de infecção oculta pelo VHB. Por outro lado, deve-se levar em conta que a infecção oculta pelo VHB é caracterizada por períodos transitórios de viremia alternados com períodos nos quais o DNA viral é indetectável no soro (Chemin et al. 2009).

Considera-se ainda, que em casos onde as técnicas de alta sensibilidade para detecção do DNA viral não estejam disponíveis, testes sorológicos para a detecção do marcador anti-HBc devem ser utilizados na identificação de indivíduos com potencial infecção oculta pelo VHB em situações de doação de sangue, tecidos ou órgãos bem como em casos nos quais se faz necessário a utilização de terapia imunossupressiva

(Hollinger 2008, Raimondo et al. 2008, Candotti & Allain 2009, Urbani et al. 2010).

Desta forma, a detecção dos marcadores sorológicos e moleculares do VHB tem sido rotineiramente utilizada em casos de suspeita clínica, na determinação da fase da infecção e do prognóstico da doença, no controle da transmissão vertical, em investigações a cerca da etiologia de cirrose e câncer, no acompanhamento de desenvolvimento de resposta vacinal, em estudos epidemiológicos, na triagem de produtos sanguíneos, na indicação de tratamento, na avaliação da resposta a terapias antivirais e no conhecimento a cerca das amostras virais circulantes (Kuhns & Busch 2006, Elgouhari et al. 2008, Chevaliez & Pawlotsky 2009, Liang 2009, Dény & Zoulim 2010).

Além dos métodos mencionados acima, exames inespecíficos podem auxiliar no diagnóstico da hepatite B, indicando o grau de comprometimento hepático. São eles: dosagem de aminotransferases, bilirrubina, proteínas séricas, fosfatase alcalina, gama-glutamiltransferase, atividade de protrombina e alfafetoproteína (Brasil 2005).

1.3 Epidemiologia

1.3.1 Transmissão

Admite-se que a transmissão do VHB ocorra pelas vias parenteral/percutânea, sexual e vertical (McMahon 2009, Kwon & Lee 2011). O VHB tem sido identificado em diversos fluídos corporais, sendo o sangue e o sêmen considerados os espécimes infecciosos (Alter 2003b, Kidd-Ljunggren 2006). Além disso, a estabilidade do VHB em superfícies ambientais favorece sua transmissão por objetos inanimados (Bond et al. 1981).

Assim, a exposição parenteral e de mucosas a sangue contaminado representa fator de risco para aquisição da infecção pelo VHB (Elgouhari et al. 2008, Kwon & Lee 2011). Neste contexto, a transmissão pode ocorrer pelo compartilhamento de objetos perfurocortantes contaminados como lâminas de barbear e depilar, escova de dente, alicate de unha, materiais para colocação de piercing, confecção de tatuagens e instrumentos para uso de drogas injetáveis. Também a transmissão pode ocorrer por acidentes com exposição a material biológico, por procedimentos cirúrgicos, odontológicos e de hemodiálise que não seguem normas de biossegurança e de controle

da infecção além de transfusão de sangue e hemoderivados (Alter 2003b, Brasil 2005, Kwon & Lee 2011). Não obstante, a infecção pelo VHB adquirida a partir de procedimentos transfusionais tem se tornado rara nos países desenvolvidos devido a implantação da triagem sorológica ao vírus, bem como por procedimentos de biologia molecular permitindo a identificação do DNA viral (Franco et al. 2012).

Embora o mecanismo exato de transmissão não seja conhecido, o contato interpessoal frequente com indivíduos cronicamente infectados, durante longo período de tempo, também representa fator de risco para aquisição da infecção pelo VHB (Bernier et al. 1982). Neste sentido, em áreas de alta endemicidade para o VHB, estudos sugerem a circulação viral no ambiente familiar, considerando-se o número de membros e de carreadores do VHB, o compartilhamento de itens de higiene pessoal e a exposição a fluídos corpóres contaminados. Tal fato demonstra a importância do contato interpessoal na disserminação do vírus, bem como da possibilidade de transmissão em ambientes fechados (Brasil et al. 2003, Lobato et al. 2006).

Em adição, a transmissão sexual da hepatite B persiste como problema de saúde pública de difícil intervenção, sendo a rota mais frequente de transmissão do VHB entre adultos. Neste sentido, entre indivíduos com conduta de risco como multiplicidade de parceiros sexuais e prática de sexo sem preservativo, têm sido observados índices elevados de prevalência para este agente (Heng et al. 1995, Alter 2003b).

A transmissão vertical pode ocorrer durante a gestação (transplacentária), no momento, ou mesmo após o parto (Jonas 2009). No momento do parto, o VHB é transmitido em 70% a 90% dos casos cujas gestantes apresentam replicação viral, no entanto, a transmissão perinatal ocorre em menos de 5% dos casos em que a mãe, embora HBsAg positiva, não apresenta marcadores indicativos de replicação do vírus (Chang 2007, Wiseman et al. 2009, Kwon & Lee 2011). Considera-se por outro lado que crianças nascidas de mães HBsAg positivas que não se tornam infectadas durante o período perinatal, permanecem sob risco de se infectarem durante a infância quando não vacinadas (Beasley & Hwang 1983, Xu et al. 1985).

1.3.2 Distribuição da infecção pelo VHB

Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de dois bilhões de pessoas no mundo apresentam evidências de infecção recente ou passada

pelo VHB, das quais, mais de 240 milhões são portadores crônicos. Adicionalmente, estima-se que cerca de 600 mil indivíduos morram anualmente por complicações hepáticas relacionadas a este vírus (Dény & Zoulim 2010, Ott et al. 2012, WHO 2013).

A distribuição da infecção pelo VHB varia no mundo de acordo com a região geográfica e a população estudada (Figuras 5 e 6). Em áreas de alta endemicidade, onde a prevalência do HBsAg é superior ou igual a 8%, como a África sub-saariana, estima-se que mais da metade da população seja infectada em algum momento da vida, sendo a transmissão do VHB no período perinatal ou na infância, a principal forma de infecção nestes países. Nas regiões de endemicidade intermediária, que compreendem parte das Américas do Sul e Central, bem como parte da Europa e da Ásia, onde a aquisição da infecção pelo VHB ocorre em indivíduos de todas as idades, a prevalência do HBsAg varia de 2 a 7% e 20 a 50% da população apresenta marcadores sorológicos de infecção prévia pelo vírus. Áreas como a América do Norte, Europa Ocidental, Austrália e parte da América do Sul apresentam baixos níveis de endemicidade, estando a prevalência do HBsAg abaixo de 2%, de forma que apenas uma minoria da população entra em contato com o vírus. Nestas áreas, a transmissão ocorre, principalmente, entre adultos com comportamentos de risco como o uso de drogas, realização de procedimentos invasivos e práticas sexuais desprotegidas (Alter 2003b, Elgouhari et al. 2008, Carey 2009, Franco et al. 2012, Ott et al. 2012).

Como um todo, estima-se que 45%, 43% e 12% da população mundial viva em áreas de endemicidade alta, intermediária e baixa, respectivamente (Carey 2009). Ainda, dentre os portadores crônicos da infecção pelo VHB, 78% vivem na Ásia, 16% na África, 3% na América do Sul e os 3% restantes na Europa, América do Norte e Oceania (Dény & Zoulim 2010).

Segundo estudo conduzido por Ott et al. (2012), entre os anos de 1990 e 2005 houve uma diminuição na prevalência do HBsAg, em todas as regiões do mundo, nas faixas etárias mais jovens, o que estaria intimamente relacionado com a disponibilidade da vacina contra o vírus da hepatite B.

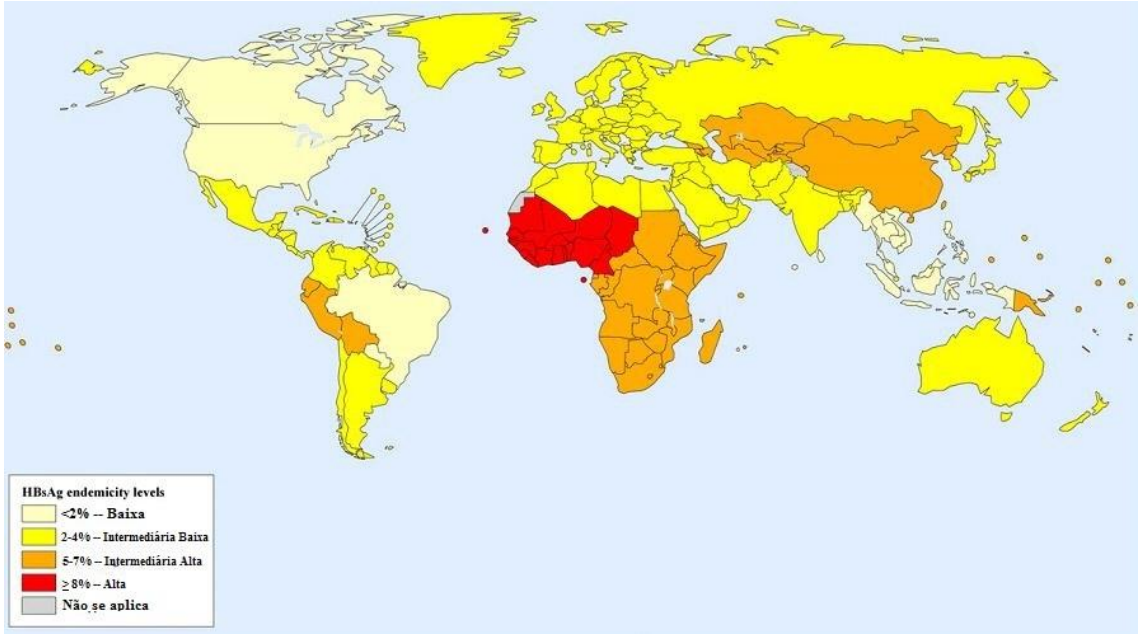


Figura 6. Prevalência da infecção pelo VHB em crianças de 5-9 anos de idade, no ano de 2005 (adaptada de Ott et al. 2012).

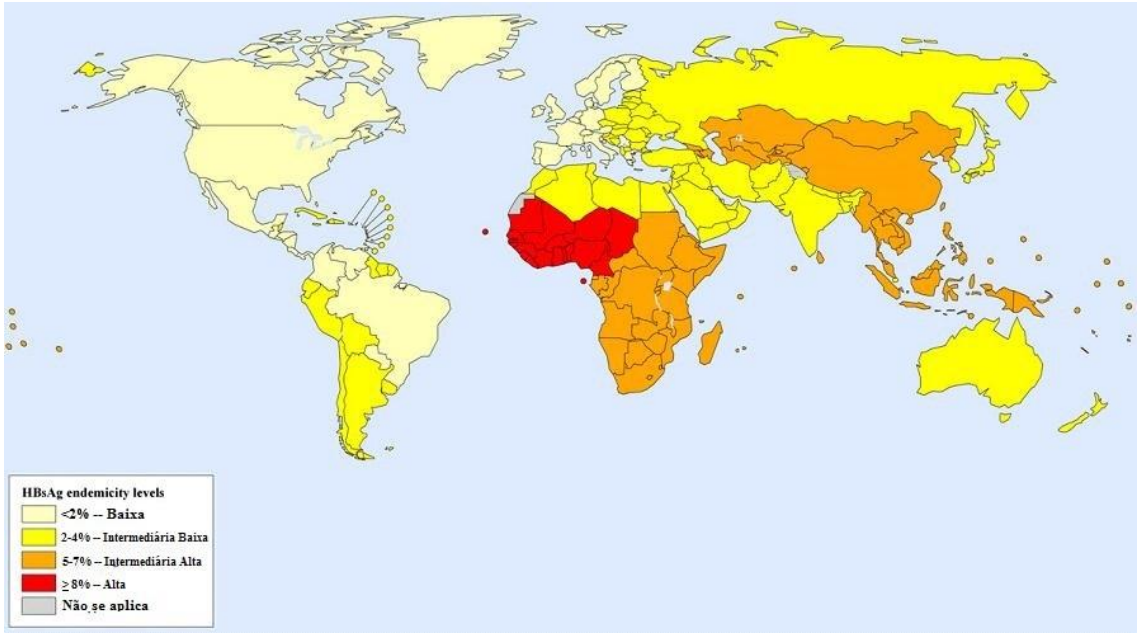


Figura 7: Prevalência da infecção pelo VHB em adultos de 14 a 49 anos de idade, no ano de 2005 (adaptada de Ott et al. 2012).

No Brasil, embora índices variáveis de prevalência para o HBsAg sejam observados em diferentes regiões e em diferentes grupos populacionais, o inquérito de base populacional encomendado pelo Ministério da Saúde e realizado em capitais brasileiras, no ano de 2005, definiu o Brasil como região de baixa endemicidade para o VHB, considerando a prevalência de 0,37% para HBsAg e de 7,4% para anti-HBc (Brasil 2010a). Em adição, de acordo com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação, em 2011 foram confirmados cerca de 14.000 casos de hepatite B no Brasil, sendo 396 notificados no estado de Goiás. Destes, 55 correspondem à forma aguda da doença, 339 à forma crônica ou de portador e dois à forma fulminante (Brasil 2013). Ainda no Estado de Goiás, segundo Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde, de 2000 a 2011 foram notificados 180 óbitos tendo como causa básica a hepatite B (Brasil 2012a).

Desde a década de 90, estudos de soroprevalência da infecção pelo VHB tem sido conduzidos na região Centro-Oeste em diferentes grupos populacionais. Estes demonstraram percentuais variando de 5,3 a 12,8% em populações saudáveis como primodoadores de sangue, adolescentes de baixa renda e a população em geral (Martelli et al. 1990, Oliveira et al. 2006, Pereira et al. 2009, Anjos et al. 2011). Em diferentes populações em risco como presidiários, profissionais de saúde, pacientes e profissionais de unidades de hemodiálise, pacientes com evidência de hepatite, anestesiologistas, hemofílicos, dentistas, usuários de drogas não injetáveis, comunidade afro-brasileira isolada, pacientes com tuberculose, os percentuais variam de 6,0 a 63,4%, evidenciando a circulação do VHB na região (Martelli et al. 1990, Azevedo et al. 1994, Borges et al. 1997, Teles et al. 1998, Lopes et al. 2001, Silva et al. 2002, Teles et al. 2002, Carneiro & Daher 2003, Tavares et al. 2004, Silva et al. 2005, Ferreira et al. 2006, Paiva et al. 2008, Ferreira et al 2009, Matos et al. 2009, Aires et al. 2012, Barros et al. 2013).

1.3.2.1 Prevalência da infecção oculta pelo VHB

Como referido, aspecto importante a ser considerado é o da ocorrência de infecção oculta pelo VHB. Esta situação foi inicialmente descrita na década de 70 e tem sido reportada por estudos desenvolvidos em diferentes regiões do mundo, usando técnicas moleculares, com índices variando de 0%, em pacientes saudáveis, como doadores de sangue, a 80%, em grupos em risco como os hemofílicos e portadores de

hepatite C crônica (Koike et al. 1998, Arababadi et al. 2009, Yuen et al. 2010, Wolff et al. 2012).

A disparidade observada entre os resultados apresentados por diversos estudos a cerca da infecção oculta pelo VHB tem sido admitida em função das diferenças entre as populações estudadas, a prevalência do VHB na população e, também, à sensibilidade do método utilizado no diagnóstico (Schmeltzer & Sherman 2010).

No Brasil existem relatos de ocorrência da infecção oculta pelo VHB em diferentes populações. Assim, estudo realizado na Amazônia Brasileira mostrou índice de 17% para a infecção oculta pelo VHB (Júnior et al. 2008) enquanto que no Rio de Janeiro, estudo feito com pacientes em hemodiálise, dos quais metade apresentavam anticorpos para o VHC, o índice de infecção oculta foi de 15% (Motta et al. 2010). Em um estudo sentinela, de base populacional, conduzido na zona rural da Bahia, área de endemicidade moderada para o VHB, foi encontrado índice de positividade para o DNA viral de 18% nos indivíduos com positividade isolada para o marcador anti-HBc (Almeida et al. 2008). Em Goiás a prevalência observada entre pacientes com tuberculose foi de 14,4% e, e entre doadores de sangue, de 16,1% (Almeida 2007, Aires et al. 2012).

1.3.2.2 Distribuição dos genótipos

Quando se aborda os genótipos e subgenótipos do VHB, observa-se que estes apresentam distribuição geográfica característica, e ainda, admite-se uma possível relação à origem étnica de cada população (Figura 7) (Norder et al. 2004, McMahon 2009, Thedja et al. 2011).

O genótipo A está amplamente distribuído, sendo mais prevalente na África sub-saariana, no norte da Europa, no oeste da África, nas Américas do Sul e do Norte (Pereira et al. 2009, Kurbanov et al. 2010, Lin & Kao 2011). Isolados pertencentes aos genótipos B e C são mais frequentemente encontrados no sudeste da Ásia, China, Japão e Austrália (Utama et al. 2009, Kurbanov et al. 2010, Candotti et al. 2012). O genótipo D apresenta distribuição mundial, e predomina nas regiões do Mediterrâneo, Europa, e Índia (Norder et al. 2004, Kay & Zoulim 2007, Norouzi et al. 2012, Sayan & Dogan 2012). Já o genótipo E é restrito à África (McMahon 2009, Valente et al. 2010), e o genótipo F é encontrado entre populações da América do Sul e América Central (Arauz-

Ruiz et al. 1997, Kay & Zoulim 2007, Pereira et al. 2009, Lin & Kao 2011). O genótipo G tem sido descrito na França, Estados Unidos, México e Alemanha (Norder et al. 2004). O genótipo H é encontrado principalmente na América Central (Arauz-Ruiz et al. 2002, Kao 2002, Kurbanov et al. 2010). Por fim, o genótipo I foi identificado no Vietnã e Laos, e o genótipo J em ilhas do Japão (Huy et al. 2008, Tatematsu et al. 2009).

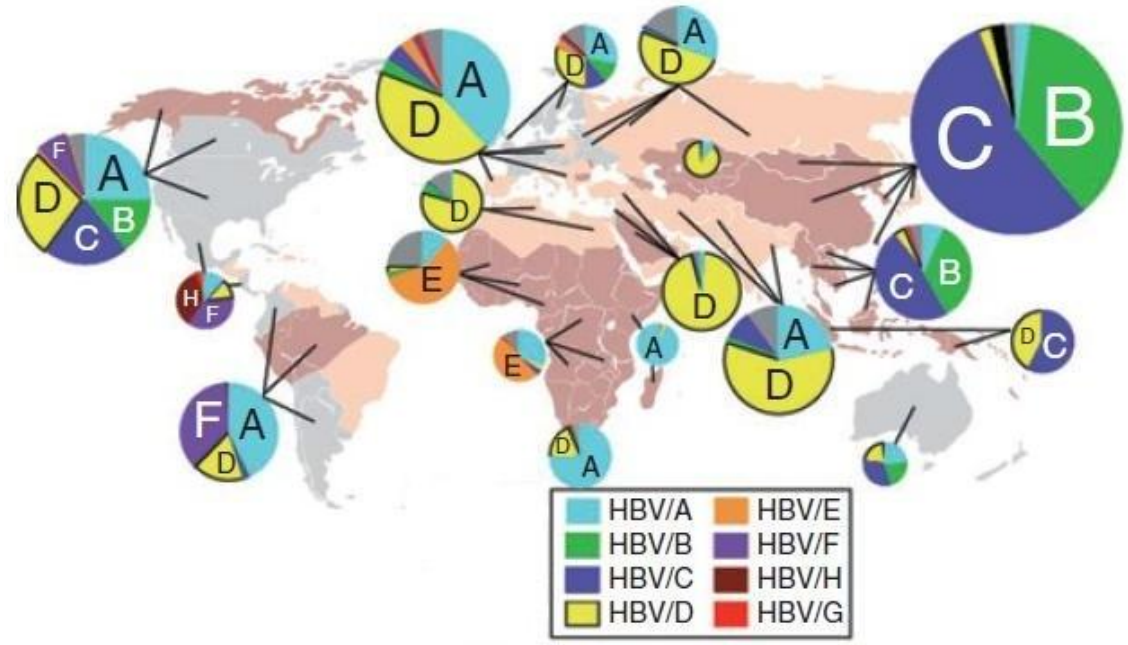


Figura 8. Distribuição mundial dos genótipos do VHB (Kurbanov et al. 2010).

Desta forma, os genótipos B e C são prevalentes nas áreas de alta endemicidade, como os países da Ásia, onde a transmissão perinatal ou vertical desempenha um importante papel na disseminação do VHB, enquanto os demais genótipos são frequentemente encontrados em áreas de endemicidade baixa ou intermediária, onde a transmissão horizontal é a principal via de disseminação do vírus (Kao 2002, Lin & Kao 2011).

No Brasil, estudos de genotipagem do VHB apontam a circulação de amostras genótipos A, B, C, D, F e G, refletindo a mistura de raças e culturas no País (Sitnik et al. 2004, Bottecchia et al. 2008). No entanto, destaca-se a predominância dos genótipos A, D e F (Figura 8) (Motta-Castro et al. 2005, Mello et al. 2007, Alcalde et al. 2009, Ferreira et al. 2009, Pereira et al. 2009, Becker et al. 2010, Aires et al. 2012, Albuquerque et al. 2012, Dias et al. 2012, Nabuco et al. 2012, Moura et al. 2013).

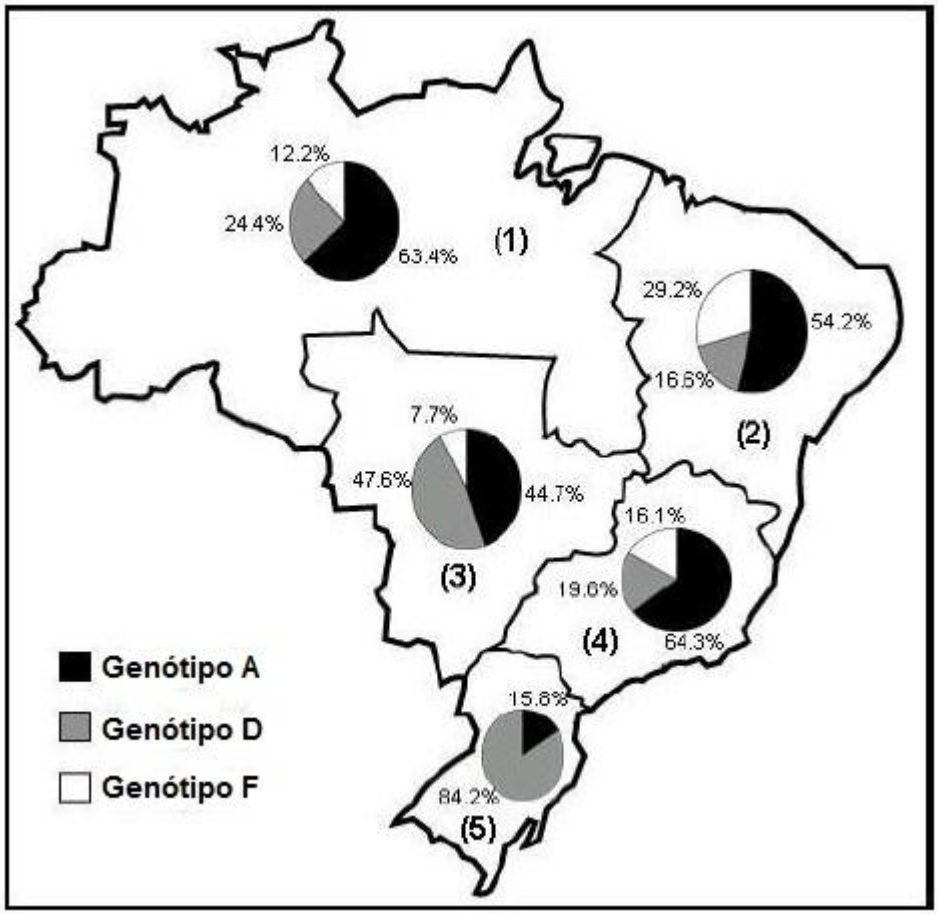


Figura 9. Distribuição dos genótipos A, D e F do VHB nas diferentes regiões brasileiras (Mello et al. 2007).

1.3.3 Hepatite B e portadores de doença mental

Considerando o aspecto da sanidade mental, a Organização Mundial da Saúde estima a existência de 450 milhões de pessoas que sofram de algum tipo de desordem, as quais compreendem um amplo espectro de problemas, com diferentes sintomas, sendo geralmente caracterizadas por uma combinação de alterações dos pensamentos, das emoções, do comportamento e do relacionamento interpessoal (WHO 2011).

Segundo a literatura, indivíduos portadores de distúrbios mentais representam um grupo em risco para aquisição da infecção pelo VHB em função do comportamento especial que apresentam e da baixa percepção de riscos (Sawayama et al. 2000, Campos et al. 2008). Estes indivíduos geralmente apresentam comportamento higiênico deficitário, atitudes agressivas ou mesmo demonstração excessiva de afetividade.

Alguns apresentam ainda déficit imunológico associado ao problema mental (Asensio et al. 2000).

Sendo a desordem mental uma doença crônica, muitos dos indivíduos acometidos necessitam de longos períodos de hospitalização/institucionalização. Dentro destas instituições os cuidados com a saúde podem ser precários, programas de prevenção, diagnóstico e tratamento podem ser limitados (Campos et al. 2008). Além disso, a institucionalização promove a formação de um grupo fechado, com pouco contato externo, o que, associado aos comportamentos de risco, facilita a transmissão do VHB com subseqüente risco de infecção para pacientes e profissionais da saúde suscetíveis, sendo que a duração da permanência na instituição tem sido considerada fator de risco para a aquisição da infecção pelo VHB (Asensio et al. 2000, Sawayama et al. 2000).

Neste sentido, e considerando a população de indivíduos portadores de doença mental, índices variáveis de prevalência da infecção pelo VHB têm sido referidos na literatura (Campos et al. 2008). Estudos realizados na Espanha, Brasil, Estados Unidos e Índia detectaram os marcadores de infecção pelo VHB em aproximadamente 80%, 22%, 24% e 3% dos pacientes, respectivamente (Asenio et al. 2000, Souza et al. 2004, Pirl et al. 2005, Carey et al. 2007). Ainda, Cramp et al. (1996) ao comparar a prevalência da infecção pelo VHB entre indivíduos portadores de doença mental institucionalizados e não institucionalizados, encontrou índices de 50,9% e 26,5%, respectivamente.

1.4 Prevenção e controle da infecção pelo VHB

Uma vez que o VHB infecta apenas humanos, esforços combinados de tratamento efetivo dos pacientes infectados, interrupção total das rotas de transmissão e vacinação universal pode tornar possível a eliminação do VHB (Chen 2009).

Uma das medidas de prevenção e controle importante ao VHB é o não compartilhamento de objetos de uso pessoal com característica perfurocortante. Também importante é o uso de preservativos em todas as práticas sexuais, além do cumprimento das normas de biossegurança por profissionais da saúde, bem como a triagem sorológica para o VHB em gestantes e em bancos de sangue (Brasil 2005, Franco et al. 2012).

No entanto, dentre todas as formas de controle do VHB, a mais efetiva é o programa de imunização via vacinação (Chen 2010). A vacinação é efetiva em prevenir a infecção pelo vírus da hepatite B e suas complicações. A primeira geração da vacina contra o VHB, produzida a partir do HBsAg presente no plasma de indivíduos com infecção crônica pelo vírus, foi disponibilizada em 1982. Preocupações a cerca da segurança desta vacina quanto à possível transmissão parenteral de outros patógenos levaram ao desenvolvimento da segunda geração da vacina, sendo esta disponibilizada a partir de 1986 e utilizada até os dias de hoje (Shepard et al. 2006, Franco et al. 2012).

Atualmente, a vacina disponível é constituída pelo HBsAg, obtido por processo de DNA-recombinante, não sendo contra indicada para gestantes, mulheres que estejam amamentando ou imunodeprimidos. É eficaz, segura e confere imunidade em cerca de 90% dos adultos e 95% das crianças e adolescentes. A vacina é administrada em três doses, com intervalos de 0, 1 e 6 meses, por via intramuscular (Brasil 2005, Kwon & Lee 2011, Franco et al. 2012).

No Brasil, a vacinação contra a hepatite B foi iniciada em 1989, e desde 1998 o Programa Nacional de Imunizações, do Ministério da Saúde, recomenda a vacinação universal dos recém-nascidos. Atualmente, o Sistema Único de Saúde disponibiliza ainda a vacinação para todas as pessoas até 29 anos de idade e também para grupos populacionais em risco, independente da faixa etária, tais como profissionais de saúde, hemofílicos, usuários de drogas injetáveis e inaláveis, presidiários, pacientes psiquiátricos, profissionais do sexo, comunicantes domiciliares de pacientes HBsAg positivos, homens que fazem sexo com homens, pacientes em hemodiálise, dentre outros (Brasil 2006, Brasil 2010b, Brasil 2010c).

Ainda, no ano de 2012, no intuito de diminuir o número de injeções aplicadas, o Ministério da Saúde adquiriu a vacina pentavalente DTP/HB/Hib, indicada para a imunização ativa contra difteria, tétano, coqueluche, hepatite B e doenças causadas por *Haemophilus influenzae* tipo b. Neste sentido, para crianças com esquema vacinal iniciado a partir do segundo semestre de 2012, o esquema vacinal contra a infecção pelo VHB consiste na aplicação de uma dose da vacina hepatite B (recombinante) nas primeiras 24 horas de vida, seguido de três doses da vacina pentavalente, a partir de dois meses de idade com intervalos de 60 dias (Brasil 2012b).

A produção do anti-HBs induzida pela vacina é protetora em concentração acima de 10 mUI/mL (Huang et al. 2011). A revacinação é feita apenas em caso de falha da imunização (títulos < 10mUI/mL), que acontece em 5 a 10% dos casos (Brasil 2005).

O objetivo principal da vacinação de neonatos é interromper a transmissão vertical. Em crianças nascidas de mães HBeAg-negativas, a vacina confere aproximadamente 100% de proteção contra a transmissão perinatal. Para crianças nascidas de mães HBeAg-positivas, a proteção conferida pela vacina varia de 79-89%, no entanto, esta proteção pode aumentar para 90-100% se imunoglobulina especifica for utilizada até 24 horas após o parto (Chang 2007, Huang et al. 2011). Neste contexto a imunoglobulina humana anti-hepatite B (IGHAB) é também indicada como profilaxia para pessoas não vacinadas, com esquema incompleto, ou não respondedores à vacina, após exposição ao vírus da hepatite B (Brasil 2005, Kwon & Lee 2011, Franco et al. 2012).

Em adição, nos casos de infecção crônica pelo VHB, a principal medida de controle é a terapia antiviral. O objetivo da terapia é prevenir o desenvolvimento da doença progressiva, especificamente a cirrose e a falência hepática, assim como o desenvolvimento de HCC e subseqüente morte. O tratamento visa reduzir a replicação viral ao nível mais baixo possível e, neste sentido, retardar a progressão da doença hepática e prevenir o início das complicações (Block et al. 2007, Dény & Zoulim 2010).

No contexto do tratamento, os antivirais disponíveis são divididos em dois principais grupos: 1- imunomoduladores, os quais incluem o interferon (IFN) alfa convencional e o peguilado (PEG-IFN); e 2- análogos de nucleotídeos/nucleosídeos como a lamivudina, adefovir, entecavir, tenofovir e telbivudina (Chen 2010). O sucesso da terapia antiviral é associado com alteração do perfil dos biomarcadores, incluindo diminuição dos níveis de HBV-DNA, diminuição ou soroconversão de HBeAg, diminuição dos níveis de ALT e melhora na histologia hepática (Dény & Zoulim 2010). Por outro lado, os pacientes devem ser considerados para o tratamento quando os níveis séricos de ALT estão muito acima do limite normal e/ou os níveis de VHB-DNA estão acima do valor crítico e a histologia hepática mostra processo de inflamação e necrose de moderado a grave e/ou fibrose. Além disso, a indicação para tratamento deve levar em conta a idade, o estado de saúde e a disponibilidade de drogas antivirais em cada país (Dény & Zoulim 2010, Brasil 2011).

Ainda, embora não se considere como obrigatória a determinação do genótipo para utilização da terapia antiviral, o impacto deste na resposta terapêutica tem sido cada vez mais reconhecido (Lin & Kao 2011). Assim, diferentes estudos vêm mostrando uma possível relação entre os genótipos de VHB e a gravidade da doença hepática e/ou o perfil de resposta ao tratamento (Kay & Zoulim 2007, McMahon 2009,

Hsu et al. 2011, Lin & Kao 2011). No entanto, considera-se que ainda não existam dados suficientes para que se possa atribuir um valor preditivo de gravidade a um genótipo específico (Dény & Zoulim, 2010).

2 JUSTIFICATIVA

Como referido, indivíduos com doença mental representam um grupo em risco para aquisição da infecção pelo VHB em função do comportamento especial que apresentam (Sawayama et al. 2000, Campos et al. 2008). Adicionalmente, a institucionalização também apresenta importância na circulação de agentes virais como o VHB, refletindo no risco aumentado da transmissão do agente (Vellinga et al. 1999).

Neste sentido, estudos realizados em diferentes partes do mundo mostram que pacientes com doença mental têm elevada prevalência de doenças transmissíveis, sendo a prevalência da infecção pelo VHB neste grupo populacional maior que o encontrado na população em geral (Asensio et al. 2000, Pirl et al. 2005, Campos et al. 2008, Guimarães et al. 2009).

No Brasil, particularmente na Região Centro-Oeste, existem poucas informações a respeito da infecção pelo VHB em pacientes portadores de doença mental, tendo até o momento apenas um estudo realizado por Souza e colaboradores em 2004, no qual foi observado prevalência global da infecção de 22,4%. Ainda, neste mesmo estudo, foi detectada a presença do DNA viral em 13,4% amostras HBsAg negativas, o que poderia se configurar como infecção oculta pelo VHB.

Neste sentido, sendo a hepatite B grande problema de saúde pública, devido ao número de indivíduos acometidos e às complicações resultantes das formas agudas e crônicas da infecção, e considerando a escassez de relatos a cerca da ocorrência da infecção pelo VHB em portadores de doença mental, institucionalizados, é relevante o conhecimento da prevalência desta infecção na referida população, os comportamentos de risco envolvidos na sua transmissão, bem como a identificação da ocorrência de infecção oculta pelo vírus, de forma a fornecer subsídios para o desenvolvimento de políticas de saúde pública para prevenção e controle desta virose, melhorando a saúde dos indivíduos institucionalizados com doença mental.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar o perfil soroepidemiológico e molecular da infecção pelo vírus da hepatite B em uma população institucionalizada portadora de doença mental.

3.2 Objetivos específicos

- Estimar a prevalência da infecção pelo VHB em uma população institucionalizada portadora de doença mental;
- Analisar os fatores associados à infecção pelo VHB;
- Investigar a ocorrência de infecção oculta pelo VHB;
- Identificar o genótipo das amostras VHB-DNA positivas.

4 MÉTODOS

4.1 Local e população de estudo

O estudo foi realizado na Instituição denominada Vila São Cottolengo, localizada na cidade de Trindade, Goiás. Esta é uma Instituição especializada na assistência integral e humanizada a pacientes com deficiências múltiplas (física, psiquiátrica, neurológica) em leitos de longa permanência. Estes leitos são distribuídos em diferentes unidades conforme o perfil dos pacientes. Assim, uma unidade é destinada a atividades de reabilitação, outra a procedimentos associados à realização de cirurgias eletivas para pacientes externos e nove unidades abrigam pacientes internados em caráter definitivo. No ano de amostragem para este estudo, 2011, a Instituição abrigava 365 pacientes de longa permanência, dos quais, 333 encontravam-se internados em caráter definitivo, com idade variando de cinco a 106 anos.

Os pacientes internados em caráter definitivo, em sua maioria, foram abandonados na Instituição, outros foram internados por meio do Conselho Tutelar ou por familiares, sendo entregue ao responsável da Instituição, a tutela destes. Nas unidades de caráter definitivo, recebem assistência multiprofissional quanto à prevenção, tratamento e cuidados básicos de higiene e alimentação devido à dependência total ou parcial imposta por suas limitações neurológicas e mentais. Também frequentam escola de ensino especial e oficinas pedagógicas mantidas pela Instituição e, conforme capacidades individuais, praticam esportes e participam de atividades de cultura e lazer.

A distribuição dos pacientes nestas unidades é feita de acordo com o sexo, a idade e o tipo de deficiência/grau de dependência apresentada. Assim, considerando as nove unidades de internação definitiva – A a I – as Unidades de A a E e I, abrigam pacientes do gênero feminino e de F a H do gênero masculino. Quanto à idade e o tipo de deficiência/grau de dependência apresentada pelos pacientes, as unidades H e I abrigam crianças com deficiências variadas; a B, idosos e adultos cadeirantes; E e F, adultos jovens cadeirantes; D, idosos portadores de sequelas neurológicas com alto grau de dependência; A e G, adultos com doença mental, agitados, com dependência parcial; C, adultos e idosos psiquiátricos independentes.

4.2 Amostragem

A coleta das amostras foi realizada no período de julho/2011 a janeiro/2012 após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Apêndice A) pelo responsável e preenchimento de questionário (Apêndice B), contendo informações referentes a dados pessoais e fatores de risco. Foi utilizado como critério de inclusão para o presente estudo, além da assinutura do TCLE e do preenchimento do questionário, o caráter definitivo de internação do paciente. No entanto, é importante esclarecer que em função das limitações dos pacientes, para obtenção das informações contidas no questionário foram utilizados os dados presentes em arquivos da instituição e em prontuários dos pacientes.

A coleta sanguínea foi realizada pela equipe de profissionais de saúde da própria Instituição, por punção venosa. Após a coleta, as amostras eram centrifugadas, sendo os soros separados e encaminhados ao Laboratório de Virologia Humana do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG, onde foram estocados a –20ºC até o momento de uso.

Para os pacientes que apresentaram perfil HBsAg isolado, HBsAg/anti-HBc ou anti-HBc isolado, uma segunda coleta foi realizada, também pela equipe da Instituição, no mês de agosto/2012, para confirmação dos resultados.

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (CEP/UFG), protocolo n° 182/11 (Anexo A).

4.3 Metodologia

4.3.1 Detecção dos marcadores sorológicos

As amostras de soro foram analisadas pelo ensaio imunoenzimático (EIE), utilizando kits comerciais conforme instruções do fabricante, visando detecção dos marcadores específicos de infecção pelo vírus da hepatite B: HBsAg, anti-HBc e anti-HBs. Amostras HBsAg e/ou anti-HBc reagentes foram também testadas para os marcadores anti-HBc IgM, HBeAg e anti-HBe.

4.3.1.1 Detecção do HBsAg e do anti-HBs

A detecção do marcador HBsAg foi realizada utilizando o kit SURASE B-96 (TMB) (General Biologicals Corporation – Taiwan). No procedimento, os soros teste e o anticorpo anti-HBsAg conjugado a enzima peroxidase foram adicionados e incubados nas cavidades da microplaca previamente sensibilizadas com anticorpos monoclonais que se ligam de forma específica a proteína HBsAg do envelope do VHB. Quando da presença do HBsAg nas amostras adicionadas, formou-se complexo sanduíche com os anticorpos imobilizados, o antígeno do VHB e o anticorpo conjugado.

Após subseqüente lavagem, os anticorpos conjugados com a enzima que não se ligaram ao antígeno viral foram removidos seguindo-se a adição do substrato (peróxido de uréia associado ao cromógeno tetrametilbenzidina - TMB). A reação foi revelada pelo desenvolvimento de coloração nas cavidades com amostras positivas para o vírus, sendo a intensidade da cor diretamente proporcional à concentração de antígeno viral na amostra. A leitura da reação foi feita visualmente e em espectrofotômetro (Behring EL 311s), utilizando filtro duplo com comprimento de onda de 450/620-690nm. Foram consideradas positivas para o HBsAg, amostras que apresentaram valor de densidade óptica (DO) maior que o valor do ponto de corte (*cut-off*), respeitando uma margem de segurança de 10%.

Para detecção do marcador anti-HBs, os mesmos passos metodológicos foram seguidos com o diferencial de que as cavidades da microplaca utilizada eram sensibilizadas com HBsAg e, juntamente com as amostras teste o HBsAg conjugado com a enzima peroxidase era adicionado à reação.

4.3.1.2 Detecção do anti-HBc

Para a detecção de anticorpos contra o antígeno do *core* do VHB foi utilizado também o EIE com método competitivo - HEPANOSTIKA anti-HBc Uni-Form (Biomérieux – França). Amostras teste bem como anticorpos anti-HBc conjugado a enzima peroxidase foram adicionados e incubados nas cavidades da microplaca previamente sensibilizadas com HBcAg que se liga de forma específica a anticorpos anti-HBc. No teste, quando da presença do anticorpo nas amostras testes este compete com o conjugado pela ligação ao antígeno imobilizado na fase sólida. Após subseqüente lavagem, os anticorpos conjugados com a enzima que não se ligaram ao antígeno são

removidos seguindo-se a adição do substrato (peróxido de uréia associado ao cromógeno TMB).

A reação foi revelada pelo desenvolvimento de coloração nas cavidades com amostras negativas para o anticorpo, sendo a intensidade da cor inversamente proporcional à concentração de anticorpos na amostra. A leitura da reação foi feita visualmente e em espectrofotômetro (Behring EL 311s), utilizando filtro simples com comprimento de onda de 450nm. Foram consideradas amostras positivas para o marcador em questão, aquelas que apresentaram valor de DO menor que o valor do *cut-off*, respeitando uma margem de segurança de 10%.

4.3.1.3 Detecção do anti-HBc IgM

A detecção de anticorpos anti-HBcIgM foi realizada através do kit HBc IgM (DIA.PRO – Itália), baseado no método de "captura de IgM".

As amostras teste, diluídas 100 vezes, e os calibradores foram adicionadas aos poços da microplaca revestidos com anticorpos anti-IgM humana e incubados. Após lavagem, o conjugado enzimático (HBcAg recombinante, marcado com um anticorpo monoclonal conjugado com peroxidase) foi adicionado. Posterior à nova incubação seguida de lavagem adicionou-se a solução cromógeno/substrato (peróxido de hidrogênio e TMB) e novamente a reação foi incubada. O procedimento seguinte para interromper a reação enzimática e a leitura da reação foram feitos conforme descrito no item 4.3.1.1.

Os resultados do teste foram interpretados pela razão entre a DO das amostras e a DO do calibrador 10 U/mL. Quando da razão < 0,9 as amostras foram consideradas negativas, entre 0,9 e 1,1 indeterminadas e, quando > 1,1, positivas.

4.3.1.4 Detecção do HBeAg

Para a detecção do HBeAg foi utilizado o EIE do tipo "sanduíche", HBeAg/Ac (Radim – Itália). Os soros testes foram inicialmente incubados em microplacas sensibilizadas com anti-HBe monoclonal juntamente com um segundo anticorpo monoclonal conjugado com peroxidase. Na presença do marcador HBeAg, os dois anticorpos reagem com o antígeno formando um "sanduíche". Após a lavagem, a atividade da enzima é identificada através da adição de uma solução de cromógeno

(TMB) e tampão substrato, sendo sua atividade proporcional à concentração de HBeAg na amostra. Após o término da reação, a intensidade da cor é medida usando espectrofotômetro com comprimento de onda de 450nm.

Foram consideradas positivas para o HBeAg, amostras que apresentaram valor de DO maior que o valor do *cut-off*, respeitando uma margem de erro de 10%.

4.3.1.5 Detecção do anti-HBe

A detecção do anti-HBe baseou-se em um EIE "competitivo" em fase sólida, HBeAg/Ac (Radim - Itália). Para a reação os soros teste são incubados em microplaca sensibilizada com anti-HBe monoclonal, com uma solução neutralizante (HBeAg) juntamente com um segundo anticorpo monoclonal conjugado com peroxidase. Após a lavagem, a atividade da enzima ligada na fase sólida é identificada adicionando uma solução de cromógeno (TMB) e tampão substrato, sendo sua atividade inversamente proporcional à concentração de anti-HBe na amostra. Após o término da reação, a intensidade da cor é medida usando espectrofotômetro com comprimento de onda de 450nm.

Foram consideradas positivas para o anti-HBe, amostras que apresentaram valor de densidade óptica (DO) inferior ao valor do *cut-off*, respeitando uma margem de erro de 10%.

4.3.2. Detecção do DNA viral

Amostras que apresentaram positividade para algum marcador sorológico do VHB foram submetidas à extração do DNA viral (Niel et al. 1994) e em sequência, para identificação do DNA do VHB, foi utilizada a técnica de *semi-nested* PCR utilizando iniciadores para a região pré-S/S do gene S do VHB (Motta-Castro et al. 2005).

Visando minimizar riscos de contaminação e resultados inespecíficos, todas as etapas foram realizadas em ambientes diferentes. Ademais, na realização dos procedimentos técnicos, foram incluídos controles negativos a cada duas amostras teste. Além disso, amostras com perfil sorológico diferente foram testadas em reações separadas.

4.3.2.1 Extração do DNA viral

Para o procedimento, uma solução de lise contendo proteinase K (10mg/ml), Tris (0,2M), NaCl (0,75M), EDTA (0,02M) e SDS (10%) foi adicionada a 250µL de soro e mantida em banho-maria a 37ºC por 4 horas. O DNA viral foi então extraído com uma solução de fenol/clorofórmio, seguindo-se precipitação com etanol (PA) e incubação a -20ºC por 24 horas. Após esse período, o DNA foi submetido a uma lavagem com etanol a 70% e resuspenso com 30µL de água bidestilada.

4.3.2.2 Reação em cadeia pela polimerase (PCR)

Para a primeira amplificação (PCR-1) foram empregados os iniciadores PS1, S2 e S22 (InvitrogenTM/Life Technologies) (Quadro 1), água miliQ, dNTPs, $MgCl_2$, enzima Taq DNA polimerase e tampão de enzima 10X no preparo do mix da reação, ao qual foram adicionados 3µl do DNA extraído, para um volume final de 50µL. A ciclagem utilizada para amplificação foi: 1 ciclo a 94°C por 3 minutos; 30 ciclos a 95°C por 30 segundos, 52°C por 40 segundos, e 72°C por 2 minutos; e por fim, 1 ciclo a 72°C por 7 minutos, sendo o produto de amplificação esperado de 1.236pb.

Uma segunda amplificação (PCR-2) foi realizada utilizando os pares de iniciadores PS1 e SR (Quadro 1), nas mesmas condições do PCR-1, acrescido de 2µl do produto da primeira reação. A mistura foi levada ao termociclador (Eppendorf) com a seguinte programação: 1 ciclo a 94°C por 3 minutos; 30 ciclos a 94°C por 20 segundos, 55°C por 20 segundos, e 72°C por 1 minutos; e por fim, 1 ciclo a 72°C por 7 minutos. O produto esperado para esta reação era de 1.099pb.

Quadro 1. Iniciadores utilizados na PCR.

Iniciador	Sequencia	Posição (nt)
PS1 *(sense)*	CCATATTCTTGGGAACAA GA	2826–2845
S2 *(anti-sense)*	GGGTTTAAATGTATACCCAAA GA	841–819
S22 *(anti-sense)*	GTATTTAAATGGATACCCACAGA	841–819
SR *(anti-sense)*	CGAACCACTGAACAAATGGC	704–685

4.3.2.3 Detecção dos produtos da PCR

Os produtos da amplificação foram aplicados em gel de agarose (InvitrogenTM/Life Technologies) preparado a 2% contendo 0,5mg/mL de brometo de etídeo e submetido a eletroforese durante 30 a 40 minutos a 80 volts em tampão TBE 5X (Tris/Borato/EDTA). Procedida a eletroforese, o gel era examinado em transluminador (Vilbert Loumart) com luz ultravioleta para a visualização dos fragmentos de tamanho esperado.

4.3.3 Sequenciamento Genômico

4.3.3.1 Purificação do produto da PCR

Para a reação de sequenciamento, os produtos obtidos na segunda amplificação foram purificados por precipitação com isopropanol a 65%, lavados com etanol 70% e resuspensos com 20µL de água *Milli*-Q/DEPC.

O produto de purificação era submetido à eletroforese em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídeo (0,5g/mL) para visualização e posterior quantificação do DNA purificado. A quantificação do DNA foi realizada por estimativa, comparando-se visualmente com produtos de concentração previamente conhecidos, sendo considerado satisfatório para o procedimento de sequenciamento do DNA, produto com no mínimo 50 a 100ng de DNA/µL de reação.

4.3.3.2 Reação de Sequenciamento

A reação de sequenciamento foi realizada diretamente nos dois sentidos seguindo metodologia descrita por Sanger et al. (1977), utilizando os mesmos pares de iniciadores da segunda reação de amplificação. As amostras foram sequenciadas utilizando o kit comercial ABI PRISM Big Dye Terminator v 3.1 cycle sequencing (Applied Biosystems), com 3µL de DNA viral e volume final de reação de 10µL. A placa de seqüenciamento foi colocada em sequenciador automático (ABI 3100-Applied Biosystems) para a leitura e geração dos eletroferogramas das sequências nucleotídicas.

4.3.3.3 Análise filogenética

As sequências geradas pelo processo de sequenciamento automático foram triadas para determinação da qualidade pelo programa *Phred*. A seguir as sequências de qualidade foram alinhadas utilizando o programa Clustal X (Thompson et al. 1997) e editadas pelo BioEdit (Hall 1999) por meio de inspeção visual.

Para a determinação dos genótipos, foram selecionadas sequências protótipos bem como isolados depositados em banco de dados (GenBank, www.ncbi.nlm.nih.gov). A seguir, para a análise filogenética foi utilizado o programa MEGA v.5.1 (Tamura 2011). A distância entre as sequências foi analisada utilizando o algoritmo neighboor-joining baseado no método de distância Kimura dois parâmetros (Kimura 1980).

A árvore filogenética obtida foi enraizada com as sequências representativas de todos os genótipos e os números de acesso no GenBank dos protótipos e isolados foram: M57663, HM101123, JF815647, U55222, HE974375, AF297621, M54923, D00329, X75665, X75656, AB048702, M32138, X75657, X75664, AF223963, X75661, AF160501, AB064312, AY090460, AY090457.

4.3.4 Análise estatística

Os dados obtidos através do preenchimento do questionário bem como os resultados dos testes sorológicos foram analisados utilizando os programas Epi Info versão 7, desenvolvido pelo "*Centers for Diseases Control and Prevention*", e SPSS,versão 11.0 (SPSS for Windows, 11.0). A prevalência da infecção pelo VHB e estimativas de risco foram calculadas com intervalo de confiança de 95%. O teste de qui-quadrado (χ^2) foi utilizado e, quando apropriado, o teste exato de Fisher. Valores de $p<0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS

5.1 Características da população estudada

No período de Julho/2011 a Janeiro/2012, foram coletadas 333 amostras sanguíneas de igual número de pacientes (Tabela 1). Destes, a maioria se encontrava na faixa etária de 31 a 40 anos (21%) e 63,7% eram do gênero feminino. Considerando a origem dos pacientes verificou-se que 64,8% eram naturais da cidade de Goiânia ou do interior do estado de Goiás e que 34% eram provenientes de outros estados. Em termos do tempo de permanência dos pacientes na instituição, 68,8% estavam internados por mais de 10 anos. Em termos da distribuição dos pacientes pelas unidades de internação, a maioria se encontrava na unidade G.

Considerando informações a cerca de vacinação para o VHB, 26 pacientes, com faixa etária variando de cinco a 22 anos de idade, possuíam cartão de vacinação. Assim, 15 pacientes realizaram o esquema vacinal para o VHB de forma completa e onze de forma incompleta.

Tabela 1. Características sociodemográficas de 333 pacientes institucionalizados portadores de doença mental.

CARACTERÍSTICAS	N	%
Sexo		
Masculino	121	36,3
Feminino	212	63,7
Idade		
< 10 anos	10	3,0
11 - 20 anos	33	10,0
21 – 30 anos	47	14,1
31 – 40 anos	70	21,0
41 – 50 anos	68	20,4
51 – 60 anos	44	13,2
> 60 anos	57	17,1
SI	04	1,2
Naturalidade		
Goiânia	80	24,0
Interior de Goiás	136	40,8
Outros Estados	113	34,0
SI	04	1,2
Permanência		
< 10 anos	99	29,7
> 10 anos	229	68,8
SI	05	1,5
Unidade		
A	53	16,0
B	31	9,3
C	55	16,5
D	35	10,5
E	24	7,2
F	36	10,8
G	71	21,3
H	14	4,2
I	14	4,2
Vacina		
Esquema completo	15	4,5
Esquema incompleto	11	3,3
SI	307	92,2

SI: Sem Informação

5.2 Soroprevalência

A Tabela 2 apresenta a prevalência dos marcadores sorológicos do VHB na população estudada. Observa-se que do total de pacientes, 43 (12,9%) apresentaram positividade para algum marcador de infecção pelo VHB. Assim, o anti-HBc foi detectado em 41 pacientes (12,3%), sendo que em 14 (4,2%) de forma isolada, em 26 (7,8%) associado ao anti-HBs e em um ao HBsAg (0,3%). Ainda, o marcador HBsAg foi detectado isoladamente em dois pacientes (0,6%). Adicionalmente o marcador de imunidade ao VHB, o anti-HBs, foi identificado em 14 pacientes (4,2%).

Tabela 2. Prevalência dos marcadores sorológicos para o VHB nos 333 pacientes institucionalizados portadores de doença mental.

MARCADORES	NÚMERO	%	IC 95%
HBsAg	02	0,6	0,1-2,4
anti-HBc	14	4,2	2,4-7,1
anti-HBc/HBsAg	01	0,3	0,0-1,9
anti-HBc/anti-HBs	26	7,8	5,2-11,3
anti-HBs	14	4,2	2,4-7,1
Ausência de marcadores	276	82,9	78,3-86,6
TOTAL	**333**	**100**	

A pesquisa dos marcadores anti-HBc-IgM, HBeAg e anti-HBe foi realizada nas amostras HBsAg e/ou anti-HBc reagentes. Nenhuma das amostras apresentou positividade para os marcadores anti-HBc-IgM e HBeAg, enquanto uma amostra com perfil anti-HBc isolado foi positiva para o marcador anti-HBe .

Dos 14 pacientes que com positividade isolada para o marcador anti-HBs, 10 apresentaram registro de vacinação, dos quais, apenas cinco realizaram o esquema de forma completa.

Para os pacientes que apresentaram perfil HBsAg isolado, HBsAg/anti-HBc ou anti-HBc isolado, uma segunda coleta foi realizada e após os testes sorológicos, os resultados foram confirmados.

5.2.1 Fatores associados à infecção pelo VHB

A análise univariada dos fatores associados à infecção pelo VHB, com seus respectivos intervalos de confiança, é mostrada na Tabela 3. Os fatores sexo, unidade e tempo de permanência foram estatisticamente significativos e, o fator idade mostrou-se apenas marginalmente associado à infecção pelo VHB. No entanto, após análise multivariada (Tabela 4), apenas a associação ao sexo e à unidade de internação se manteve, o fator idade se mostrou marginalmente associado. Verificou-se que os pacientes do sexo masculino apresentavam 18 (IC 95%: 2,3-141,5) vezes mais chance de infecção pelo VHB comparados aos pacientes do sexo feminino. Ainda, aqueles internados nas unidades F e G apresentaram 12,8 (IC 95%: 1,48-111,6) e 18,1 (IC 95%: 2,3-141,5) vezes mais chances, respectivamente, de exposição ao vírus do que àqueles internados em outras unidades.

Tabela 3. Fatores associados à infecção pelo VHB em pacientes institucionalizados, portadores de doença mental.

Fator de risco	HBV Positivo/Total[b]	%	Estimativa de Risco (IC 95%)[a]	*P*
Sexo				
Feminino	18/205	8,8	1,0	
Masculino	25/114	21,9	2,9 (1,5-5,6)	0,001
Idade				
≤ 30 anos	6/76	7,9	1,0	
> 30 anos	37/239	15,5	2,1 (0,9-5,3)	0,09
Unidade				
A	1/51	2,0	1,0	
B	4/31	13,0	7,4 (0,79-69,6)	0,13
C	6/55	11,0	6,1 (0,7-52,7)	0,14
D	4/35	11,4	6,4 (0,7-60,4)	0,17
E	3/24	12,5	7,1 (0,7-72,7)	0,19
F	7/36	19,4	12,1 (1,4-103)	0,02
G	18/70	25,7	17,3 (2,2-134,5)	0,0003
H	0/8	0,0	-	-
I	0/9	0,0	-	-
Permanência				
≤ 10 anos	6/85	7,0	1,0	
> 10 anos	37/229	16,2	2,5 (1,0-6,2)	0,04

[a]IC: Intervalo de confiança; [b]O denominador corresponde ao número de pacientes que possuíam a informação, excluindo aqueles com perfil anti-HBs isolado.

Tabela 4. Análise multivariada dos fatores associados à infecção pelo VHB em pacientes institucionalizados, portadores de doença mental.

Fator de risco	Estimativa de Risco (IC 95%)		*P*
	Não Ajustada	Ajustada	
Sexo			
Feminino	1,0	1,0 [a]	
Masculino	2,9 (1,5-5,6)	18,0 (2,3-141,5)	0,006
Idade			
≤ 30 anos	1,0	1,0 [a]	
> 30 anos	2,1 (0,9-5,3)	2,1 (0,8-5,6)	0,13
Unidade			
A	1,0	1,0[b]	
B	7,4 (0,79-69,6)	7,0 (0,74 – 66,2)	0,09
C	6,1 (0,7-52,7)	5,8 (0,67 – 50,3)	0,11
D	6,4 (0,7-60,4)	5,9 (0,63 – 55,7)	0,12
E	7,1 (0,7-72,7)	8,3 (0,79 – 87,9)	0,08
F	12,1 (1,4-103)	12,8 (1,48 – 111,6)	0,02
G	17,3 (2,2-134,5)	18,1 (2,3 – 141,5)	0,006
Permanência			
≤ 10 anos	1,0	1,0[a]	
> 10 anos	2,5 (1,0-6,2)	1,8 (0,7-4,5)	0,24

[a] ajustado por sexo, idade, unidade e permanência; [b] ajustado por idade, unidade e permanência

5.3 Detecção do DNA viral

A pesquisa do DNA viral foi realizada nas amostras HBsAg reagentes (N=3), anti-HBc/anti-HBs (N=26), anti-HBs isoladas (N=14), bem como naquelas com perfil anti-HBc isoladas (N=14). Das três amostras HBsAg positivas, uma apresentou o DNA viral enquanto que das 54 amostras que apresentavam os outros perfis sorológicos, cinco foram positivas para o genoma viral, resultando em um índice de infecção oculta de 9,2%. Todos os resultados foram repetidos e confirmados através da segunda coleta de amostras. As características sócio-demográficas e sorológicas dos pacientes positivos para o DNA viral estão apresentadas nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

Tabela 5. Características sócio-demográficas dos seis pacientes que apresentavam positividade ao DNA viral.

Paciente	Idade (anos)	Gênero	Permanência (anos)	Unidade	Vacinação
VSC01	65	M	6	G	SI
VSC02	12	M	10	H	Esquema completo
VSC03	30	M	25	F	SI
VSC04	75	F	19	D	SI
VSC05	23	F	12	E	SI
VSC06	35	M	11	G	SI

SI: sem informação

Tabela 6. Perfil sorológico dos seis pacientes que apresentavam positividade ao DNA viral.

Paciente	HBsAg	anti-HBc	anti-HBs	anti-HBc IgM	HBeAg	anti-HBe	VHB-DNA
VSC01	(-)	(+)	(+)	NT	(-)	(-)	(+)
VSC02	(-)	(-)	(+)	NT	NT	(-)	(+)
VSC03	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
VSC04	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
VSC05	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
VSC06	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)

NT: não testado

5.4 Identificação dos genótipos

Para identificação dos genótipos virais, as seis amostras VHB-DNA positivas foram submetidas ao seqüenciamento genômico. Análises comparativas das amostras com a sequência representativa do genótipo A de origem brasileira U55222 apresentou valores de identidade de 98% e 99%.

Para a análise filogenética, foi considerada uma região de 510 pb, compreendendo parte das regiões S e pré-S2 do gene S (nt 113 – 623). As seis amostras foram caracterizadas como genótipo A (Figura 9).

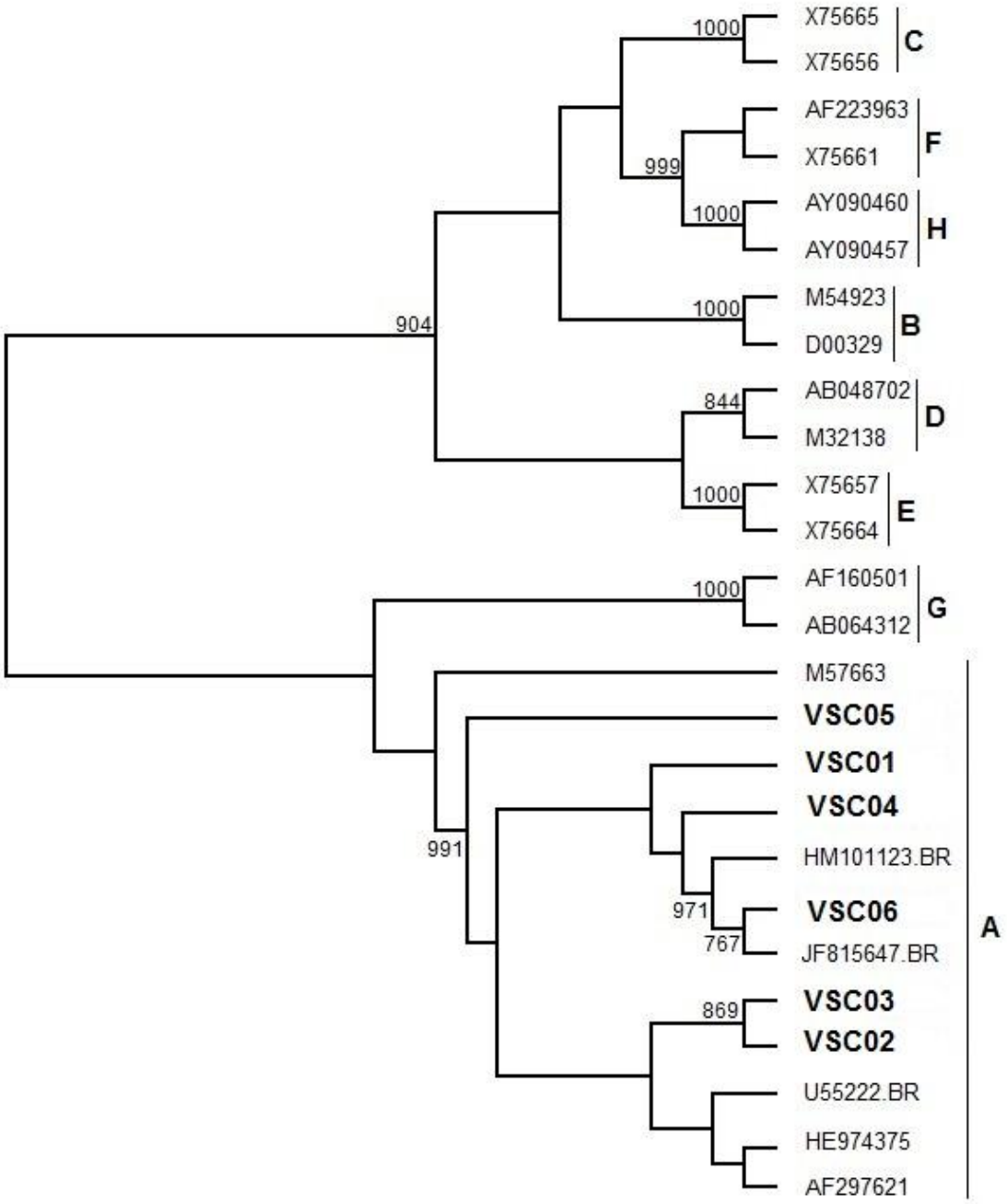


Figura 10. Árvore filogenética de parte das regiões S e pré-S2, incluindo as seis amostras isoladas de pacientes institucionalizados portadores de doença mental (em negrito) e 20 sequencias do GenBank representativas dos diferentes genótipos do VHB. Foram representados na árvore apenas os bootstraps maiores que 700.

6 DISCUSSÃO

Estudos realizados a partir da década de 90 indicam uma redução na endemicidade da infecção pelo VHB mundialmente (Zacharakis et al. 2009, Brasil 2010a, Hong et al. 2010, Ott et al. 2012). Isso se deve, provavelmente, à instituição da vacinação universal contra o vírus da hepatite B e a adoção dos testes de triagem sorológica nos serviços de hemoterapia. Não obstante, a infecção pelo VHB continua sendo um dos principais problemas de saúde pública no mundo.

No presente estudo, realizado com população institucionalizada portadora de doença mental, foi observado um índice global de infecção pelo VHB de 12,9%. Este resultado é superior ao encontrado por estudos realizados pelo mundo, na população em geral (Baaten et al. 2007, Figueiredo et al. 2008, Alavian et al. 2012), bem como ao reportado em inquérito de base populacional realizado em capitais brasileiras (7,4%) (Brasil 2010a). Também, estudos realizados na região Centro-Oeste em populações saudáveis mostram índices de prevalência para a infecção pelo VHB inferiores ao encontrado no presente estudo (Pereira et al. 2009, Anjos et al. 2011).

Quando se considera os estudos conduzidos com população semelhante à deste estudo, observa-se que a maioria destes apresentam índices de positividade superiores ao do presente estudo, 23,9 a 81,3% (Stehr-Green et al. 1991, Cramp et al. 1996, Asensio et al. 2000, Pirl et al 2005) sendo que apenas um mostra índice inferior (6,4%) (Jasuja et al. 2012). No Brasil, estudos com pacientes portadores de doença mental mostraram índices de 14,7%, 19,7% (Almeida & Pedroso 2004, Guimarães et al. 2009).

Considerando a região Centro-Oeste, como referido, apenas um estudo foi, até o momento, realizado com este tipo populacional, onde se observou índice de 22,4% em indivíduos portadores de doença mental, associada ou não a dependência química, institucionalizados e indivíduos com Síndrome de Down, não institucionalizados (Souza et al. 2004). Embora o índice observado no presente estudo seja inferior ao encontrado no único estudo desenvolvido na região, as populações analisadas apresentam diferenças quanto ao perfil de institucionalização (definitiva/transitória) e à dependência química associada.

A positividade da infecção para o VHB na população de estudo foi estatisticamente associada ao sexo (masculino), o que também foi reportado por autores em estudos realizados com população portadora de distúrbios mentais (Cramp et al.

1996, Jasuja et al. 2012), bem como em outras populações (Pereira et al. 2009, Kang et al. 2010, Valente et al. 2010, Viet et al. 2012).

No presente estudo, as unidades de internação F e G mostraram-se associadas à infecção pelo VHB. Considerando os critérios de distribuição dos pacientes na instituição, as unidades F e G abrigam pacientes do sexo masculino, o que esta de acordo com o achado estatístico da população total. Cabe ainda destacar que, a unidade G abriga dois indivíduos com perfil de infecção ativa (anti-HBc/anti-HBs/DNA; HBsAg/anti-HBc/DNA) e que a unidade F abriga um paciente com perfil anti-HBc/DNA. A presença de pacientes HBsAg e/ou DNA positivos nestas unidades pode ser uma fator facilitador da transmissão do vírus entre os pacientes. Adicionalmente, é importante pontuar que os pacientes da unidade G apresentam distúrbios psiquiátricos com um padrão comportamental mais agitado/agressivo.

Dados da literatura mostram que o tempo de institucionalização aumenta o risco de infecção pelo VHB (Asensio et al. 2000, Sawayama et al. 2000, Campos et al. 2008). O efeito do tempo de institucionalização na aquisição da infecção pelo VHB parece ser mediado tanto pelo contato prolongado entre os pacientes como pelo comportamento devido à deficiência mental e física. No presente estudo, análise considerando o tempo de institucionalização não apresentou significância estatística. Este resultado pode estar associado ao fato de que muitos dos pacientes incluídos no estudo são provenientes de outras instituições para tratamento de deficientes mentais, o que faz com que o tempo de institucionalização destes pacientes possa estar subestimado.

Embora a análise considerando a faixa etária não tenha mostrado associação estatisticamente significativa, observou-se um maior índice de infecção pelo VHB com o aumento da idade, corroborando dados da literatura que sugerem uma maior chance de aquisição do vírus com o aumento da idade, provavelmente devido aos comportamentos de risco adotados ao longo da vida (Esquivel et al. 2005, Mamani et al. 2009, Pereira et al. 2009, Stief et al. 2010, Salehi et al. 2012, Barros et al. 2013). Adicionalmente, foi observado que na população com idade menor de 15 anos, apenas um paciente apresentou marcador de exposição ao vírus, o que pode sugerir um reflexo do processo de vacinação nos primeiros anos de vida.

Consideramos uma limitação do estudo, a análise de outras variáveis possivelmente associadas ao risco de infecção pelo VHB. Este fato justifica-se pelo perfil da população estudada, com caracerísticas/limitações que impossibilitaram o

preenchimento do questionário de forma adequada, comprometendo a investigação sócio-demográfica.

Considerando o marcador HBsAg, este foi detectado isoladamente em dois dos três pacientes. Segundo a literatura, este perfil sorológico atípico pode estar associado a quadros de deficiência do sistema imune, coleta de amostras antes da expressão dos marcadores de fase aguda da infecção, antigenemia transitória pós vacinação ou infecção por vírus mutante (Avettand-Fenoel et al. 2006, Pondé 2011). No entanto, o presente estudo não possui informações que permitam elucidar tal achado.

O perfil anti-HBc isolado, tem sido observado em vários estágios da infecção pelo VHB incluindo a janela imunológica da fase aguda, quando de infecção crônica e quando da resolução da infecção (Pondé 2011). No presente estudo a ocorrência de tal perfil foi encontrada em 4,2% dos pacientes, corroborando dados da literatura em diferentes populações que descrevem índices variando de 2,2% a 8,9% (Souza et al. 2004, Ferreira et al. 2006, Almeida et al. 2008, Kang et al. 2010, Aires et al. 2012), muito embora não tenhamos dados que nos possibilite a definição do estágio da infecção destes pacientes em acordo à opinião da dificuldade desta definição com base na presença única deste marcador (Grob et al. 2000).

A positividade para o DNA viral na ausência do marcador HBsAg tem sido considerada como infecção oculta pelo VHB (Raimondo et al. 2007, Ocana et al. 2011, Candotti et al. 2012). Neste sentido estudos desenvolvidos em diferentes países e em diferentes populações têm reportado a ocorrência do DNA viral em indivíduos com positividade isolada para o marcador anti-HBc (Almeida et al. 2008, Arababadi et al. 2009, Kang et al. 2010, Attia et al. 2012).

Adicionalmente, embora o perfil anti-HBc/anti-HBs seja indicativo de eliminação viral e imunidade, a associação de tal perfil com a presença do DNA viral tem sido observada, o que tem sido admitido como persistência da infecção (Zoulim 2005, Romanó et al. 2012). Neste contexto a presença do genoma viral poderia estar relacionada à pressão seletiva imposta pela ação do anti-HBs, que levaria à seleção de amostras VHB mutantes sobre as quais o anti-HBs não é capaz de exercer sua atividade neutralizante. Ademais, a presença de anti-HBs não exclui a possibilidade de infecção por amostras de VHB antigenicamente diferentes, não apresentando atividade protetora no desenvolvimento da infecção (Pondé 2011, Ferreira et al. 2012, Pondé 2013). Neste sentido, as duas possibilidades poderiam também justificar a ocorrência da infecção pelo vírus em indivíduos vacinados (Carman et al. 1990, Hsu et al. 1997).

Neste estudo, 9,2% (5/54) dos pacientes apresentaram perfil de infecção oculta pelo VHB. Em assim sendo, estudos desenvolvidos com populações de risco ou não em diferentes países mostram índices de infecção oculta pelo VHB variando de 0 a 80% (Koike et al. 1998, Cabrerizo et al. 1997, Torbenson et al. 2004, Song et al. 2009, Asim et al. 2010, Panigrahi et al. 2010, Bello et al. 2011, Arababadi et al. 2012). Também no Brasil, estes índices variam de 0% a 17% (Almeida et al. 2008, Júnior et al. 2008, Motta et al. 2010, Wolff et al. 2011, Albuquereque et al. 2012).

Na Região Centro-Oeste Stief et al. (2010) mostrou a ausência da infecção oculta pelo VHB em população carcerária. Entre doadores de sangue, Almedia (2007) encontrou prevalência de 16,1% e Motta-Castro et al. (2008) encontrou 18,3% em comunidade afro-brasileira isolada. Considerando o único estudo realizado em portadores de doença mental na Região, de um total de 82 amostras com perfil anti-HBc/anti-HBs, 11 foram positivas para o DNA viral (13,4%) (Souza et al. 2004).

A análise para a determinação dos genótipos do VHB foi realizada para todas as amostras positivas para o DNA viral sendo caracterizadas como genótipo A. Este genótipo tem sido encontrado em outras populações brasileiras, refletindo a circulação do referido genótipo no País e na Região (Sitnik et al. 2004, Motta-Castro et al. 2005, Mello et al. 2007, Bottecchia et al. 2008, Matos et al. 2009, Santos 2010, Barros et al. 2013). Considerando o papel dos genótipos de VHB na evolução da infecção pelo VHB, sugere-se que a infecção aguda pelo VHB genótipo A aumenta o risco de progressão para a infecção crônica (Mayerat et al. 1999, Ogawa et al. 2002, Suzuki et al. 2005). No entanto, estudo conduzido em carreadores do VHB na Espanha observou que o clareamento viral foi significativamente maior em pacientes infectados pelo genótipo A do que naqueles infectados pelos demais genótipos (Sanchez-Tapias et al. 2002), sendo a morte relacionada a doença hepática mais frequente em pacientes infectados com os genótipos D e F do que naqueles com infecção pelo genótipo A (Sanchez-Tapias et al. 2002, Thakur et al. 2002, Livingston et al. 2007).

Embora no Brasil a vacina contra a hepatite B faça parte do Programa Nacional de Imunização (PNI) desde 1998, o marcador de imunidade ao VHB, anti-HBs, foi encontrado isoladamente em apenas 4,2% dos indivíduos estudados, indicando que uma pequena parcela desta população apresenta evidência sorológica de vacinação prévia contra a hepatite B, acarretando um alto índice de suscetibilidade nesta população (82,9%), caracterizada pela ausência de qualquer marcador.

Embora um amplo questionário tenha sido elaborado para a coleta de dados pessoais e informações a cerca da existência de fatores de risco, as caracerísticas/limitações da população estudada não permitiram que este questionário pudesse ser preenchido de forma adequada, comprometendo a investigação sócio-demográfica e, desta forma, impossibilitando a avaliação da maioria das variáveis abordadas.

Neste sentido, embora o índice de infecção pelo VHB encontrado no presente estudo seja pequeno quando comparado a outros estudos conduzidos em populações em risco, o alto índice de susceptibilidade, associado à detecção de seis pacientes portadores do vírus, evidencia o risco de transmissão do VHB dentro da Instituição. Assim, os dados observados sugerem a necessidade de monitoramento periódico dos pacientes mediante a possibilidade de transmissão do vírus dentro da instituição e reforçam a importância da adoção de medidas preventivas de rotina no ambiente da instituição, além da implantação da vacinação para todos os pacientes e profissionais de saúde.

7 CONCLUSÕES

- A prevalência da infecção pelo VHB na população institucionalizada portadora de doença mental analisada foi de 12,9% (IC 95%: 9,6-17,1);
- Na análise multivariada, o sexo masculino e a internação nas unidades F e G foram associados à infecção pelo VHB;
- A infecção oculta pelo VHB foi identificada em 9,2% dos pacientes;
- O genótipo A foi identificado em todas as amostras DNA-VHB positivas.

REFERÊNCIAS

Aires RS, Matos MA, Lopes CL, Teles SA, Kozlowski AG, Silva AM, Filho JA, Lago BV, Mello FC, Martins RM 2012. Prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with or without HIV in Goiânia City, Brazil. *J Clin Virol* 54(4):327-31.

Akahane Y, Yamanaka T, Suzuki H, Sugai Y, Tsuda F, Yatsumoto S, Omi S, Okamoto H, Miyakawa Y, Mayumi M 1990. Chronic active hepatitis with hepatitis B virus DNA and antibody against e antigen in the serum. Disturbed synthesis and secretion of e antigen from hepatocytes due to a point mutation in the precore region. *Gastroenterol*, 99(4):1113-9.

Alavian SM, Tabatabaei SV, Ghadimi T, Beedrapour F, Kafi-Abad AS, Gharehbaghian A, Abolghasemi H 2012. Seroprevalence of hepatitis B virus infection and its risk in the West of Iran: A population-based study. *Int J Prev Med*, 3(11): 770-5.

Alberti A, Diana S, Sculard GH, Eddleston ALWF, Williams R 1978. Detection of a new antibody system reacting with Dane particles in hepatitis B virus infection. *Br Med J*, 2: 1056-1058.

Albuquerque ACC, Coelho MRCD, Lemos MF, Célia R 2012. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients in Recife, State of Pernambuco, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 45(5):558-562.

Alcalde R, Melo FL, Nishiya A, Ferreira SC, Langhi Júnior MD, Fernandes SS, Marcondes LA, Duarte AJS, Casseb J 2009. Distribution of hepatitis B virus genotypes and viral load levels in brazilian chronically infected patients in São Paulo city. *Rev. Inst Med Trop São Paulo*, 51(5):269-272.

Alestig E 2011. *Geographic and Genetic Diversity of Hepatitis B*. University of Gothenburg. Disponível em: <http://hdl.handle.net/2077/22932>

Allain JP, Belkhiri D, Vermeulen M, Crookes R, Cable R, Amiri A, Reddy R, Bird A, Candotti D 2009. Characterization of occult hepatitis B virus strains in South African blood donors. *Hepatology*, 49(6):1868-76.

Allain JP, Cox L 2011. Challenges in hepatitis B detection among blood donors. *Curr Opin Hematol*, 18(6):461-6.

Almeida JD, Rubenstein D, Scott EJ 1971. New antigen-antibody system in Australia-antigen-positive hepatitis. *Lancet* 2:1225-7.

Almeida RC, Pedroso ERP 2004. Vulnerabilidade e exposição a marcadores sorológicos dos vírus da imunodeficiência humana, hepatites B e C, vírus linfotrópico de células T humanas e sífilis em pacientes psiquiátricos internados em hospital público. *Rev Assoc Méd Minas Gerais*, 14:244-50.

Almeida RPA 2007. *Infecção Oculta pelo Vírus da Hepatite B em Doadores de Banco de Sangue com Perfil Sorológico Anti-HBc Isolado*, 116 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

Almeida D, Tavares-Neto J, Trepo C, Almeida A, Mello C, Chemin I, Paraná R 2008. Occult B Infection in the Brazilian Northeastern Region: A Preliminary Report. *Bras J Infec Dis* 12(4):310-312.

Alter HJ 2003a. The unexpected outcomes of medical research: serendipity and the Australia antigen. *J Hepatol*, 39:149-152.

Alter MJ 2003b. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *J Hepatol*, 39(Sl): 1:S64-9.

Anjos GRLC, Martins RMB, Carneiro MAS, Brunini SM, Teles AS 2011. Epidemiology of hepatitis B virus infection in first-time blood donors in the southwestern region of Goiás, central Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 33(1): 38-42.

Arababadi MK, Hassanshahi G, Yousefi H 2009. HBV-DNA in hemodialysis patients infected by HCV. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 20(3):398-401.

Arababadi MK, Ahmadabadi BN, Daredor HY, Kennedy D 2012. Epidemiology of Occult Hepatitis B Infection Among Thalassemic, Hemophilia, and Hemodialysis Patients. *Hepat Mon*, 12(5):315-319.

Arauz-Ruiz P, Norder H, Visoná KA 1997. Molecular epidemiology of hepatitis B vírus in Central America reflected in the genetic variability of the small S gene. *J Infec Dis*, 176:851-858.

Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson, BH, Magnius LO 2002. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol*, 83:2059–2073.

Asensio F, Bayas JM, Bertran MJ, Asenjo MA 2000. Prevalence of hepatitis B infection in long-stay mentally handicapped adults. *Eur J Epidemiol*, 16(8):725-9.

Asim M, Ali R, Khan LA, Husain SA, Singla R, Kar P 2010. Significance of anti-HBc screening of blood donors & its association with occult hepatitis B virus infection: Implications for blood transfusion. *Indian J Med Res*, 312-317.

Attia KA, Eholié S, Messou E, Danel C, Polneau S, Chenal H, Toni T, Mbamy M, Seyler C, Wakasugi N, N'dri-Yoman T, Anglaret X 2012. Prevalence and virological profiles of hepatitis B infection in human immunodeficiency virus patients. *World J Hepatol*, 4(7): 218-223.

Avettand-Fenoel V, Thabut D, Katlama C, Poynard T, Thibault V 2006. Immune suppression as the etiology of failure to detect anti-HBc antibodies in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Microbiol*, 44(6):2250.

Azevedo MSP, Cardoso DDP, Martins RMB, Daher RR, Camarota SCT, Barbosa AJ 1994. Rastreamento sorológico para hepatite B em profissionais de saúde na cidade de Goiânia – Goiás. *Rev Soc Bras Med Trop*, 27(3):157-162.

Baaten GG, Sonder GJ, Dukers NH, Coutinho RA, Van den Hoek JA 2007. Population-based study on the seroprevalence of hepatitis A, B, and C virus infection in Amsterdam, 2004. *J Med Virol*, 79(12):1802-10.

Bancroft WH, Mundon FK, Russell PK 1972. Detection of additional antigenic determinants of hepatitis B antigen. *J Immunol*, 109:842-848.

Barros LAS, Pessoni GC, Teles SA, Souza SMB, Matos MA, Martins RMB, Del-Rios NHA, Matos MAD, Carneiro MAS 2013. Epidemiology of the viral hepatitis B and C in female prisoners of Metropolitan Regional Prison Complex in the State of Goiás, Central Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 46(1):24-29.

Beasley RP, Hwang LY 1983. Postnatal infectivity of hepatitis B surface antigen-carrier mothers. *J Infect Dis*, 147(2):185-90.

Becker CE, Mattos AA, Bogo MR, Branco F, Sitnik R, Kretzmann NA 2010. Genotyping of hepatitis B virus in a cohort of patients evaluated in a hospital of Porto Alegre, South of Brazil. *Arq Gastroenterol*, 47(1):13-17.

Bello M, Montalvo MC, Rodríguez LA, Sariego S, Verdasquera D, Vincent M, Gutiérrez A, Sánchez M 2011. Occult Hepatitis B in Cuban HIV Patients. *MEDICC Review*, 13(2):32-37.

Bernier RH, Sampliner R, Gerety R, Tabor E, Hamilton F, Nathanson N 1982. Hepatitis B infection in households of chronic carriers of hepatitis Bsurface antigen: factors associated with prevalence of infection. Am J Epidemiol, 116(2):199-211.

Block, TM, Guo H, Guo JT 2007. Molecular virology of hepatitis B virus for clinicians. *Clin Liver Dis*, 11(4):685-706.

Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S 1965. A “New” Antigen in Leukemia Sera. *JAMA*, 191(7):541-546.

Bond WW, Favero MS, Peterson NJ, Gravelle CR, Ebert JW, Maynard JE 1981. Survival of hepatitis B virus after drying and storage for 1 week. *Lancet*, 1:550-1.

Borges AMT, Azevedo MSP, Martins RMB, Carneiro MAS, Naghettini A, Daher RR, Cardoso DDP 1997. Hepatite B em pacientes de centros de diálise de Goiânia - Goiás / Hepatitis B in dialysis center in Goiânia – Goiás. *Rev Patol Trop*, 26(1):9-16.

Bottecchia M, Souto FJD, Ó KMR, Amendola M, Brandão CE, Niel C, Gomes AS 2008. Hepatitis B virus genotypes and resistance mutations in patients under long term lamivudine therapy: characterization of genotype G in Brazil. *BMC Microbiology*, 8:11.

Bouchard MJ, Schneider RJ 2004. Minireview: The Enigmatic X Gene of Hepatitis B Virus. *J Virol*, 78(23): 12725–12734.

Bouchard MJ, Navas-Martin S 2011. Hepatitis B and C virus hepatocarcinogenesis: Lessons learned and future challenges. *Cancer Letters*, 305:123–143.

Brasil LM, Fonseca JCF, Souza RB, Braga WSM, Toledo LM 2003. Prevalência de marcadores para o vírus da hepatite B em contatos domociliares no Estado do Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop*, 36(5): 565-570.

Brasil 2005. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Hepatites Virais. In: *Guia de Vigilância Epidemiológica*, 6ªed. Brasília-Brasil, 409-433.

Brasil 2006. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Vacina contra hepatite B. *Rev Saúde Pública*, 40(6):1137-40.

Brasil 2008. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Hepatites Virais: o Brasil está atento*, 3ª ed. Brasília-Braisl, p. 12.

Brasil 2010a. Ministério da Saúde. Universidade de Pernambuco. *Estudo de prevalência de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C nas capitais do Brasil*. Disponível em:

<http://www.aids.gov.br/publicacao/2010/estudo_de_prevalencia_de_base_populacional_das_infeccoes_pelos_virus_das_hepatites_b> Acesso em: 08 abr 2013.

Brasil 2010b. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Parecer Técnico Nº 04/2010/CGPNI/DEVEP/SVS/MS e DST AIDS e Hepatites Virais/SVS/MS. *Atualização da indicação da vacina hepatite B nos serviços de saúde do SUS.* Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/page/2010/grupos_de_maior_vulnerabilidade_22484.pdf> Acesso em 7 de fev de 2013.

Brasil 2010c. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota técnica Nº. 89/2010CGPNI/DEVEP/SVS/MS. *Ampliação da oferta da vacina hepatite B para faixa etária de 20 a 29 anos de idade.* Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/legislacao/2012/51047/baixe_a_nota_t_cnica_22494_pdf_12808.pdf> Acesso em 7 de fev de 2013.

Brasil 2011. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Aids, DST e Hepatitis Virais. *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfecções.* Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/prot_clinico_diretrizes_terapeuticas_hep_b.pdf> Acesso em 7 de fev de 2013

Brasil 2012a. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Aids, DST e Hepatitis Virais. *Boletim Epidemiológico Hepatitis Virais*, ano III, n.01, Brasília.

Brasil 2012b. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Informe técnico da introdução da vacina pentavalente.* Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-06/informe-tecnico-vacina-pentavalente.pdf> Acesso em 08 abr 2013.

Brasil 2013. Ministério da Saúde. Datasus. *Hepatites Virais – Casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação* – SinanNet. Disponível em:

<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinannet/hepatitesvirais/bases/hepabrnet.def> Acesso em: 03 fev 2013.

Cabrerizo M, Bartolomé J, De Sequera P, Caramelo C, Carreño V 1997. Hepatitis B virus DNA in serum and blood cells of hepatitis B surface antigen-negative hemodialysis patients and staff. *J Am Soc Nephrol*, 8(9):1443-7.

Campos, LN, Guimarães MD, Carmo RA, Melo APS, Oliveira HN, Elkington K, McKinnon K 2008. HIV, syphilis, and hepatitis B and C prevalence among patients with mental illness: a review of the literature. *Cad Saúde Pública*, 24(4):S607-S620.

Candotti D, Lin CK, Belkhiri D, Sakuldamrongpanich T, Biswas S, Lin S, Teo D, Ayob Y, Allain JP 2012. Occult hepatitis B infection in blood donors from South East Asia: molecular characterisation and potential mechanisms of occurrence. *Gut*, (12):1744-53.

Candotti D, Allain JP 2009. Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 51(4):798-809.

Carey MP, Ravi V, Chandra PS, Desai A, Neal DJ 2007. Prevalence of HIV, Hepatitis B, Syphilis, and Chlamydia Among Adults Seeking Treatment for a Mental Disorder in Southern India. *AIDS Behav*, 11(2):289–297.

Carey WD 2009. The prevalence and natural history of hepatitis B in the 21st century. *Cleveland Clin J Med*, 76:2-5.

Carman WF, Zanetti AR, Karayiannis P, Waters J, Manzillo G, Tanzi E, Zuckerman AJ, Thomas HC 1990. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet*, 336(8711): 325-9.

Carneiro AF, Daher RR 2003. Soroprevalência do vírus e hepatite B em Anestesiologistas. *Rev Bras Anestesiol*, 53(5):672-679.

Chang MH 2007. Hepatitis B virus infection. *Semin Fetal Neonatal Med*, 12:160-167.

Chekaraou MA, Brichler S, Mansour WI, Gal FL, Garba A, Dény P, Gordien E 2010. A novel hepatitis B virus (HBV) subgenotype D (D8) strain, resulting from recombination between genotypes D and E, is circulating in Niger along with HBV/E strains. *J Gen Virol*, 91:1609–1620.

Chemin I, Gullaud O, Queyron PC 2009. Close monitoring of serum HBV DNA levels and liver enzymes levels is most useful in the management of patients with occult HBV infection. *J Hepatol*, 51(4):824-5.

Chen GG, Li MY, Ho RL, Chak EC, Lau WY, Lai PB 2005. Identification of hepatitis B virus X gene mutation in Hong Kong patients with hepatocellular carcinoma. *J Clin Virol*, 34(1):7-12.

Chen DS 2009. Hepatitis B vaccination: The key towards elimination and eradication of hepatitis B. *J Hepatol*, 50:805–816.

Chen DS 2010. Toward elimination and eradication of hepatitis B. *J Gastroenterolo Hepatol*, 25:19–25.

Chevaliez S, Pawlotsky JM 2009. Concise Review: Virological techniques for the diagnosis and monitoring of hepatitis B and C. *Annals Hepatol*, 8(1): 7-12.

Couroucé-Pauty AM, Plançon A, Soulier JP 1983. Distribution of HBsAg subtypes in the world. *Vox Sang*, 44(4):197-211.

Cramp ME, Grundy HC, Perinpanayagam RM, Barnado DE 1996. Seroprevalence of hepatitis B and C virus in two institutions caring for mentally handicapped adults. *J R Soc Med*, 89:401-402.

Dane DS, Cameron CH, Briggs M 1970. Virus-like particles in serum of patients with Australiaantigen-associated hepatitis. *Lancet* 1:695-8.

Dény P, Zoulim F 2010. Hepatitis B virus: From diagnosis to treatment. *Pathol Biol*, 58:245–253.

Dias ALB, Oliveira CMC, Castilho MC, Silva MSP, Braga WSM 2012. Molecular characterization of the hepatitis B vírus in autochthonous and endogenous populations in the Western Brasilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop*, 45(1):9-12.

Doo EC, Ghany MG 2010. Hepatitis B virology for clinicians. *Clin Liver Dis*, 14:397-408.

Edey M, Barraclough K, Johbson DW 2010. Review article: Hepatitis B and dialysis. *Nephrology*, 15:137–145.

Elgouhari HM, Tamimi TIA, Carey WD 2008. Hepatitis B virus infection: Understanding its epidemiology, course, and diagnosis. *Cleve Clin J Med*, 75(12):881-889.

El Chaar M, Candotti D, Crowther RA, Allain JP 2010. Impact of hepatitis B virus surface protein mutations on the diagnosis of occult hepatitis B virusinfection. *Hepatol*, 52(5):1600-10.

Esquivel CA, Valenzuela MAA, Suárez MFM, Andrade FE 2005. Hepatitis B virus infection among inpatients of a psychiatric hospital of Mexico. *Clin Pract Epidemiol Mental Health*, 1:10.

Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F 2004. Hepatocellular Carcinoma in Cirrhosis: Incidence and Risk Factors. *Gastroenterology*, 127:S35–S50.

Ferreira RC, Teles SA, Dias MA, Tavares VR, Silva AS, Gomes AS, Yoshida CFT, Martins RMB 2006. Hepatitis B virus infection profile in hemodialysis patients in Central Brazil: prevalence, risk factors, and genotypes. *Mem Inst Oswaldo Cruz***,** 101(6):689-692.

Ferreira RC, Rodrigues FP, Teles SA, Lopes CL, Motta-Castro AR, Novais AC, Souto FJ, Martins RM 2009. Prevalence of hepatitis B virus and risk factors in Brazilian non-injecting drug users. *J Med Virol*, 81(4):602-609.

Figueiredo NC, Page-Shafer K, Pereira FE, Miranda AE 2008. Serological markers for hepatitis B virus in young women attended by the Family Health Program in Vitória, Espírito Santo, 2006. *Rev Soc Bras Med Trop*, 41(6):590-5.

Flaum A, Malmros H, Persson E 1926. Eine nosocomiale ikterus Epidemic. *Acta Med Scand*, (Suppl.) 16, 544.

Fonseca JCF 2010. Histórico das hepatites virais. *Rev Soc Bras Med Trop*, 43(3):322-330.

Franco E, Bagnato B, Marino MG, Meleleo C, Serino L, Zaratti L 2012. Hepatitis B: Epidemiology and prevention in developing countries. *World J Hepatol*, 4(3):74-80.

Gerber MA, Hadziyannis S, Vissoulis C, Schaffner F, Paronetto F, Popper H 1947. Electron microscopy and immunoelectronmicroscopy of cytoplasmic hepatitis B antigen in hepatocytes. *Am J Pathol*, 75(3): 489-502.

Gerlich WH, Robinson WS 1980. Hepatitis B virus contains protein attached to the 5' terminus of its complete DNA strand. *Cell*, 21(3):801-9.

Glebe D 2007. Recent advances in hepatitis B virus research: A German point of view. *World J Gastroenterol*, 13(1):8-13.

Guimarães MDC, Campos LN, Melo APS, Carmo RA, Machado CJ, Acurcio FA 2009. Prevalence of HIV, syphilis, hepatitis B and C among adults with mental illness: a multicenter study in Brazil. *Rev Bras Psiquiatr*, 31(1):43-47.

Gunther S 2006. Genetic variation in HBV infection: genotypes and mutants. *J Clin Virol*, 36(1): S3-S11.

Grob P, Jilg W, Bornhak H, Gerken G, Gerlich W, Günther S, Hess G, Hüdig H, Kitchen A, Margolis H, Michel G, Trepo C, Will H, Zanetti A, Mushahwar I 2000. Serological pattern "anti-HBc alone": report on a workshop. *J Med Virol*, 62(4):450-5.

Gutiérrez C, Devasa M, Loureiro CL, León G, Liprandi F, Pujol GH 2004. Molecular and serological evaluation of surface antigen negative hepatitis B virus infection in blood donors from Venezuela. *J Med Virol*, 73(2):200-7.
Gutiérrez-García ML, Fernandez-Rodriguez CM, Lledo-Navarro JL, Buhigas-Garcia I 2011. Prevalence of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*, 17(12): 1538-1542.

Hall TA 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser* 41:95-98.

Heng BH, Goh KT, Chan R, Chew SK, Doraisingham S, Quek GH 1995. Prevalence of hepatitis B virus (HBV) infection in Singapore men with sexually transmitted diseases and HIV infection: role of sexual transmission in a city state with intermediate HBV endemicity. *J Epidemiol Community Health*, 49:309-313

Hollinger FB 1996. Hepatitis B virus. In Fields Virology. 3 Ed. Philadelphia: *Lippncott-Raven* (86):2739-2807.

Hollinger FB 2007. Hepatitis B virus genetic diversity and its impact on diagnostic assays. *J Viral Hepat*, 14:11–15.

Hollinger FB 2008. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion*, 48(5):1001-26.

Hong WW, Ang LW, Cutter JL, James L, Chew SK, Goh KT 2010. Changing Seroprevalence of Hepatitis B Virus Markers of Adults in Singapore. *Ann Acad Med*, 39:591-8.

Hsu HY, Chang MH, Ni YH, Lin HH, Wang SM, Chen DS 1997. Surface gene mutants of hepatitis B vírus in infants Who develop acute or chronic infections despite immunoprophylaxis. *Hepatology*, 26(3): 786-91.

Hsu A, Lai CL, Yuen MF 2011. Update on the Risk of Hepatocellular Carcinoma in Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Curr Hepatitis Rep*, 10:106–111.

Huang LM, Lu CY, Chen DS 2011. Hepatitis B virus infection, its sequelae, and prevention by Vaccination. *Curr Opin Immunol*, 23:237–243.

Hubschen JM, Mbah PO, Forbi JC, Otegbayo JA, Olinger CM, Charpentier E, Muller CP 2011. Detection of a new subgenotype of hepatitis B virus genotype A in Cameroon but not in neighbouring Nigeria. *Clin Microbiol Infect*, 17: 88–94

Huy TTT, Ngoc TT, Abe K 2008. New Complex Recombinant Genotype of Hepatitis B Virus Identified in Vietnam. *J Virol*, 82(11):5657–5663.

ICTV 2011. Hepatitis B virus. In: *ICTVdB – The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>. Acesso em: 10 set. 2012.

Jasuja S, Thompson ND, Peters PJ, Khudyakov YE, Patel MT, Linchangco P, Thai HT, Switzer WM, Shankar A, Heneine W, Hu DJ, Moorman AC, Gerber SI 2012. Investigation of hepatitis B virus and human immunodeficiency virus transmission among severely mentally III residents at a long term care facility. *PLOS*, 7(8): e43252.

Jonas MM 2009. Hepatitis B and pregnancy: an underestimated issue. *Liver International*, 29(s1):133–139.

Júnior GMB, Braga WSM, Oliveira CMC, Castilho MC, Araújo JR 2008. Hepatite crônica B oculta: prevalência e aspectos clínicos em população de elevada endemicidade de infecção pelo vírus da hepatite B na Amazônia ocidental brasileira. *Rev Soc Bras Med Trop*, 41(6):596-601.

Kang SY, Kim MH, Lee WI 2010. The Prevalence of ‘‘Anti-HBc Alone’’ and HBV DNA Detection Among Anti-HBc Alone in Korea. *J Med Virol*, 82:1508–1514.

Kao JH 2002. Hepatitis B viral genotypes: Clinical relevance and molecular characteristics. *J Gastroenterol Hepatol*, 17:643–650.

Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS 2003. Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. Gastroenterol, 124(2):327-34.

Kay A, Zoulim F 2007. Hepatitis B virus genetic variability and evolution. *Virus Res*, 127:164–176.

Kew MC 2011. Hepatitis B virus x protein in the pathogenesis of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*, 26(1):144–152

Kidd-Ljunggren K, Holmberg A, Blackberg J, Lindqvist B 2006. High levels of hepatitis B vírus DNA in body fluids from chronic carriers. *J Hosp Infect*, 64(4): 352-7.

Kimura M 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequence. *J Mol Evol*, 16(2):111-20.

Klingmuller U, Schaller H 1993. Hepadnavirus Infection Requires Interaction between the Viral Pre-S Domain and a Specific Hepatocellular Receptor. *J Virol*, 7414-7422

Koike K, Kobayashi M, Gondo M, Hayashi I, Osuga T, Takada S 1998. Hepatitis B virus DNA is frequently found in liver biopsy samples from hepatitis C virus-infected chronic hepatitis patients. *J Med Virol*, 54(4):249-55.

Kramvis A, Arakawa K, Yu MC, Nogueira R, Stram DO, Kew MC 2008. Relationship of Serological Subtype, Basic Core Promoter and Precore Mutations to Genotypes/Subgenotypes of Hepatitis B Virus. *J Med Virol*, 80:27–46.

Krugman S 1976. Viral Hepatitis: Overview and Historical Perspectives. *Yale J Biol Med*, 49:199-203.

Kuhns MC, Busch MP 2006. New strategies for blood donor screening for hepatitis B virus: nucleic acid testing versus immunoassay methods. *Mol Diagn Ther*, 10(2):77-91.

Kurbanov F, Tanka Y, Mizokami M 2010. Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus. *Hepatol Res*, 40:14-30.

Kusumoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R 2009. Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma. *Int J Hematol*, 90(1):13-23.

Kwon SY, Lee CH 2011. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. *Korean J Hepatol*, 17:87-95.

Laras A, Koskinas J, Hadziyannis SJ 2002. In vivo suppression of precore mRNA synthesis is associated with mutations in the hepatitis B virus core promoter. *Virol*, 295(1):86-96.

Le Bouvier GL 1972. Seroanalysis by immune diffusion: the subtypes of type B hepatitis virus. In: Vyas GN, Perkins A, Schmid, R. *Hepatitis and blood transfusion. New York, Grune and Stratton*, 97-110.

Lee WM 1993. Acute liver failure. *N Engl J Med*, 329(25):1862-72.

Lee WM 1997. Hepatitis B virus infection. *The New Engl J Med*, 337(24):1733-1739.

Lepere-Douard C, Trotard M, Le Seyec J, Gripon P 2009. The First Transmembrane Domain of the Hepatitis B Virus Large Envelope Protein Is Crucial for Infectivity. *J Virol*, 11819–11829

Liang TJ 2009. Hepatitis B: The Virus and Disease. *Hepatology*, 49:S13–S21.

Lin CL, Kao JH 2011. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol*, 26:123–130.

Livingston SE, Simonetti JP, McMahon BJ, Bulkow LR, Hurlburt KJ, Homan CE, Snowball MM, Cagle HH, Williams JL, Chulanov VP 2007. Hepatitis B virus genotypes in Alaska Native People with hepatocellular carcinoma: preponderance of genotype F. *J Infect Dis*, 195: 5–11.

Lobato C, Tavares-Neto J, Rios-Leite M, Trepo C, Vitvitski L, Parvaz P, Zoulim F, D'Oliveira Jr A, Paraná R 2006. Intrafamilial prevalence of hepatitis B virus in Western Brazilian Amazon region: Epidemiologic and biomolecular study. *J Gastroenterol Hepatol*, 21: 863–868.

Locarnini S 2004. Molecular Virology of Hepatitis B Virus. *Semin Liver Dis*, 24(1): 3-10.

Lopes CLR, Martins RMB, Teles SA, Silva SA, Maggi OS, Yoshida CFT 2001. Seroepidemiological profile of hepatitis B infection in staff of hemodialysis units of Goiânia-Goiás, Central Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 34(6): 543-548.

Loomba R, Liang TJ 2007. Treatment of chronic hepatitis B. *Antivir Ther*, 12(3):H33-41.

Lurman A 1885. Eine Icterusepidemie. *Berl Klin. Wochenschr*, 22:207.

MacCallum FO 1947. Homologous serum jaundice. *Lancet*, 2: 691-692.

Magnius LO, Espmark JA 1972. New specificities in Australia antigen positive sera distinct from the Le Bouvier determinants. *J Immunol*, 109: 1017.

Mamani M, Hashemi SH, Niayesh A, Ghaleiha A, Hajilooei M 2009. Study on the frequency of hepatitis B and C infection in chronic psychiatric patients in Hamedan in 2006-2007. *J Pak Med Assoc*, 59(8): 505-507.

Martelli CMT, Andrade ALSS, Cardoso DDP, Sousa LCS, Silva AS, Sousa MA, Zicker F 1990. Soroprevalência e fatores de risco para infecção pelo vírus da Hepatite B pelos marcadores AgHBs e Anti-HBs em prisioneiros e primodoadres de sangue. *Rev Saúde Públ*, 24:270-276.

Matos MA, Reis NR, Kozlowski AG, Teles SA, Motta-Castro AR, Mello FC, Gomes SA, Martins RM 2009. Epidemiological study of hepatitis A, B and C in the largest Afro-Brazilian isolated community. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 103(9):899-905.

Mayerat C, Mantegani A, Frei PC 1999. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection? *J Viral Hepat*, 6(4):299-304.

McClary H, Koch R, Chisari FV, Guidotti LG 2000. Inhibition of Hepatitis B Virus Replication during *Schistosoma mansoni* Infection in Transgenic Mice. *J Exp Med*, 192 (2): 289–294.

McMahon BJ 2009. The influence of hepatitis B virus genotype and subgenotype on the natural history of chronic hepatitis B. *Hepatol Int*, 3:334–342.

Mello FCA, Souto FJD, Nabuco LC, Villela-Nogueira CA, Coelho HSM, Franz HCF, Saraiva JCP, Virgolino HA, Motta-Castro ARC, Melo MMM, Martins RMB, Gomes AS 2007. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. *BMC Microbiology*, 7:103.

Mello FCA, Martel N, Gomes SA, Araujo NM, 2011. Expression of Hepatitis B Virus Surface Antigen Containing Y100C Variant Frequently Detected in Occult HBV Infection. *Hepat Res Treat*, 1-4.

Motta JS, Mello FC, Lago BV, Perez RM, Gomes SA, Figueiredo FF 2010. Occult hepatitis B virus infection and lamivudine-resistant mutations in isolates from renal patients undergoing hemodialysis. *J Gastroenterol Hepatol*, 25(1):101-6.

Motta-Castro ARC, Martins RMB, Yoshida CFT, Teles SA, Paniago AM, Lima KMB, Gomes SA 2005. Hepatitis B Virus Infection in Isolated Afro-Brazilian Communities. *J Med Virol*, 77:188–193.

Motta-Castro ARC, Martins RMB, Araujo NM, Niel C, Facholi GB, Lago BV, Mello FCA, Gomes AS 2008. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in an isolated Afro-Brazilian community. *Arch Virol*, 153:2197–2205.

Moura IF, Lopes EP, Alvarado-Mora MV, Pinho JR, Carrilho FJ 2013. Phylogenetic analysis and subgenotypic distribution of the hepatitis B virus in Recife, Brazil. *Infect Genet Evol*, 14:195-9.

Mulyanto, Depamede SN, Wahyono A, Jirintai, Nagashima S, Takahashi M, Okamoto H 2011. Analysis of the full-lenght genomes of novel hepatitis B vírus subgenotypes C11 and C12 in Papua, Indonesia. *J Med Virol*, 83(1): 54-64.

Nabuco LC, Mello FCA, Gomes AS, Perez RM, Soares JAS, Coelho HSM, Nogueira CAV 2012. Hepatitis B virus genotypes in Southeast Brazil and its relationship with histological features. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 107(6): 758-789

Niel C, Moraes MT, Gaspar SM, Yoshida CF, Gomes AS 1994. Genetic diversity of hepatitis B virus strains isolated in Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Virol*, 44(2):180-186.

Norder H, Hammas B, Lofdahl S, Couroucé AM, Magnius LO 1992. Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strains. *J Gen Virol*, 73:1201-1208.

Norder H, Couroucé AM, Coursaget P, Echevarria JM, Lee SD, Mushahwar IK, Robertson BH, Locarnini S, Magnius LO 2004. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology*, 47:289–309.

Norouzi M, Ghorashi SA, Abedi F, Nejatizadeh A, Ataei B, Malekzadeh R, Alavian SM, Judaki MA, Ghamari S, Namazi A, Rahimnia R, Khedive A, Jazayeri SM 2012. Identification of Hepatitis B Virus Surface Antigen (HBsAg) Genotypes and Variations in Chronic Carriers from Isfahan Province, Iran. *Iranian J Publ Health*, 41(3): 104-111.

Ocana S, Cassas ML, Buhigas I, Lledo JL 2011. Diagnostic strategy for occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*, 17(12):1553-1557.

Ogawa M, Hasegawa K, Naritomi T, Torii N, Hayashi N 2002. Clinical features and viral sequences of various genotypes of hepatitis B virus compared among patients with acute hepatitis B. *Hepatol Res*, 23: 167–77.

Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M 1988. Typing hepatitis B vírus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol*, 69:2575-2583.

Okamoto H, Tsuda F, Akahane F, Sugai Y, Yoshiba M, Moriyama K, Tanaka T, Miyakawa Y, Mayumi M 1994. Hepatitis B virus mutations in the core promoter for an e antigen-negative phenotype in carriers with antibody to e antigen. *J Virol*, 68:8102-8110.

Oliveira MDS, Martins RMB, Matos MA, Ferreira RC, Dias, MA, Carneiros MAS, Junqueira ALN, Teles SA 2006. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection and high rate of response to hepatitis B virus Butang® vaccine in adolescents from low income families in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 101(3):251-256.

Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST 2012. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine*, 30: 2212– 2219.

Paiva EMM, Tiplle AFV, Silva EP, Cardoso DDP 2008. Serological markers and risk factors related to hepatitis B virus in dentists in the Central West region of Brazil. *Braz J Microbiol*, 39:251-256.

Palmore TN, Shah NL, Loomba R, Borg BB, Lopatin U, Feld JJ, Khokhar F, Lutchman G, Kleiner DE, Young NS, Childs R, Barrett AJ, Liang TJ, Hoofnagle JH, Heller T 2009. Reactivation of Hepatitis B with Reappearance of Hepatitis B Surface Antigen After Chemotherapy and Immune Suppression. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 7(10): 1130–1137.

Panigrahi R, Biswas A, Datta S, Banerjee A, Chandra PK, Mahapatra PK, Patnaik B, Chakrabarti S, Chakravarty R 2010. Anti-hepatitis B core antigen testing with detection and characterization of occult hepatitis B virus by an in-house nucleic acid testing among blood donors in Behrampur, Ganjam, Orissa in southeastern India: implications for transfusion. *Virol J*, 7:1-7.

Pereira LMMB, Martelli CMT, Merchán-Hamann E, Montarroyos UR, Braga MC, Lima MLC, Cardoso MRA, Turchi MD, Costa MA, Alencar LCA, Moreira RC, Figueiredo GM, Ximenes RAA 2009. Population-Based Multicentric Survey of Hepatitis B Infection and Risk Factor Differences among Three Regions in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*, 81(2):240–247.

Perrillo R, Campbell C, Wellinghoff W, Gelb L 1982. The relationship of hepatitis B e antigen, DNA polymerase activity, and titer of hepatitis B surface antigen with ongoing liver injury in chronic hepatitis B virus infection. *Am J Gastroenterol*, 77(7):445-9.

Pirl WF, Greer JA, Weissgarber C, Liverant G, Safren SA 2005. Screening for Infectious Diseases Among Patients in a State Psychiatric Hospital. *Psychiatr Serv*, 56(12): 1614-1616.

Pollicino T, Raffa G, Costantino L, Lisa A, Campello C, Squadrito G, Levrero M, Raimondo G 2007. Molecular and Functional Analysis of Occult Hepatitis B Virus Isolates from Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Hepatol*, 45(2): 277-285.

Pondé RAA, Cardoso DDP, Ferro MO 2010. The underlying mechanisms for the 'anti-HBc alone' serological profile. *Arch Virol*, 155:149–158.

Pondé RAA 2011. The underlying mechanisms for the "simultaneous HBsAg and anti-HBs serological profile". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 30:1325–1340.

Pondé RAA 2013. Atypical serological profiles in hepatitis B virus infection. *Eur J Clin Mocrobiol Infect Dis*, 2(4):461-76.

Prince AM 1968. An antigen detectes in the blood during the incubation period of serum hepatitis. *Pathology*, 60: 814-821.

Pult I, Netter HJ, Bruns M, Prassolov A, Sirma H, Hohenberg H, Chang SF, Frölich K, Krone O, Kaleta EF, Will H 2001. Identification and analysis of a new hepadnavirus in white storks. *Virology*, 289(1):114-28.

Pungpapong S, Kim WR, Poterucha JJ 2007. Natural History of Hepatitis B Virus Infection: An Update for Clinicians. *Mayo Clin Proc*, 82(8):967-975.

Qin Y, Zhang J, Mao R, Guo H, Yin Y, Wu X, Weng X, Wands J, Tong S 2009. Prevalence of basal core promoter and precore mutations in Chinese chronic hepatitis B patients and correlation with serum HBeAG titers. *J Med Virol*, 81(5):807-14.

Raimondo G, Pollicino T, Squadrito G 2005. What is the clinical impact of occult hepatitis B virus infection? *Lancet*, 365(9460):638-40.

Raimodno G, Pollicino T, Cacciola I, Squadrito G 2007. Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 46:160-170.

Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, Buendia MA, Chen DS, Colombo M, Craxi A, Donato F, Ferrari C, Gaeta GB, Gerlich WH, Levrero M, Locarnini S, Michalak T, Mondelli MU, Pawlotsky JM, Pollicino T, Prati D, Puoti M, Samuel D, Shouval D, Smedile A, Squadrito G, Trépo C, Villa E, Will H, Zanetti AR, Zoulim F 2008. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 49:652–657.

Raimondo G, Caccamo G, Filomia R, Pollicino T, 2012. Occult HBV infection. *Semin Immunopathol*, 35(1): 39-52.

Reuben A 2002. Landmarks in Hepatology: The Thin Red Line. *Hepatol*, 36(3): 770-773.

Romanò L, Velati C, Cambiè G, Fomiatti L, Galli C, Zanetti AR 2013. Hepatitis B vírus infection among first-time blood donors in Italy: prevalence and correlates between serological patterns and occult infection. *Blood Transfus*, 23:1-10.

Salehi M, Alavian SM, Tabatabaei SV, Izadi SH, Moghaddam ES, Kafiabad AS, Gharehbaghian A, Khosravi S, Abolghasemi H 2012. Seroepidemiology of HBV Infection in South-East of Iran: A Population Based Study. *Iran Red Crescent Med J*, 14(5):283-288.

Sanchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodes J 2002. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology*, 123:1848–56.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. PNAS 74: 5463-5467.

Santos AO, Alvarado-Mora MV, Botelho L, Vieira DS, Pinho JRR, Carrilho FJ, Honda ER, Salcedo JM 2010. Characterization of Hepatitis B virus (HBV) genotypes in patients from Rondônia, Brazil. *Virol J*, 7:315.

Sayan M, Dogan C 2012. Genotype/subtype distribution of hepatitis B virus among hemodialysis patients with chronical hepatitis B. *Annals Hepatol*, 11(6): 849-854.

Sawayama Y, Hayashi J, Kakuda K, Furusyo N, Ariyama I, Kawakami Y, Kinukawa N, Kashiwagi S 2000. Hepatitis C Virus Infection in Institutionalized Psychiatric Patients. *Dig Dis Sci***,** 45(2):351–356.

Schmeltzer P, Sherman K 2010. E. Occult Hepatitis B: Clinical Implications and Treatment Decisions. *Dig Dis Sci*, 55:3328–3335.

Schuttler CG, Filder N, Schmidt K, Repp R, Ferlich WH, Schaefer S 2002. Suppression of hepatitis B virus enhancer 1 and 2 by hepatitis C virus core protein. *J Hepatol* 37:855–862, 2002.

Seeger C, Mason WS 2000. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev*, 64:51–68.

Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP 2006. Hepatitis B Virus Infection: Epidemiology and Vaccination. *Epidemiol Rev*, 28:112–125.

Shih CM, Lo SJ, Miyamura T 1993. Suppression of Hepatitis B Virus Expression and Replication by Hepatitis C Virus Core Protein in HuH-7 Cells. *J Virol*, 67(10)5823-5832.

Silva CO, Azevedo MSP, Soares CMA, Martins RMB, Ramos CH, Daher RR, Cardoso DDP 2002. Seroprevalence of hepatitis B virus infection in individuals with clinical evidence of hepatitis in Goiânia, Goiás. Detection of viral DNA and determination of subtypes. *Rev Inst Med Trop*, 44(6):331-334.

Silva PA, Fiaccadori FS, Borges AMT, Silva SA, Daher RR, Martins RMB, Cardoso DDP 2005. Seroprevalence of hepatitis B virus infection and seroconvertion to anti-HBsAg in laboratory staff in Goiânia, Goiás. *Rev Soc Bras Med Trop*, 38(2):153-156.

Sitnik R, Pinho JRR, Bertolini DA, Bernardini AP, Silva LC, Carrilho FJ 2004. Hepatitis B Virus Genotypes and Precore and Core Mutants in Brazilian Patients. *J Clin Microbiol*, 42(6):2455-2460.

Sohn JA, Litwin S, Seeger C 2008. Mechanism for CCC DNA Synthesis in Hepadnaviruses *PLos ONE*, 4(11): e8093

Song EY, Yun YM, Park MH, Seo DH 2009. Prevalence of Occult Hepatitis B Virus Infection in a General Adult Population in Korea. *Intervirology*, 52:57–62.

Souza MM, Barbosa MA, Tavares ANB, Daher RR, Martins RMB, Cardoso DDP 2004. Soroprevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em portadores de doença mental. *Rev Bras Psiquiat*, 16:35-38.

Stehr-Green P, Wilson N, Miller J, Lawther A 1991. Risk factors for hepatitis B at a residential institution for intellectually handicapped persons. *N Z Med J*, 104(925):514-516.

Stief ACF, Martins RMB, Andrade SMO, Pompilio MA, Fernandes SM, Murat PG, Mousquer GJ, Teles SA, Camolez GR, Francisco RBL, Motta-Castro ARC 2010. Seroprevalence of hepatitis B virus infection and associated factors among prison inmates in State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 43(5):512-515.

Stramer SL, Wend U, Candotti D, Foster GA, Hollinger FB, Dodd RY, Allain JP, Gerlich W 2011. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med*, 364(3):236-47.

Stuyver L, Gendt S, Van Geyt S, Zoulim F, Fried M, Schinazi RF, Rossau R 2000. A new gwnotype of hepatitis B virus: complete genome and philogenetic relatedness. *J Gen Virol*, 81:67-74.

Suzuki Y, Kobayashi M, Ikeda K, Suzuki F, Arfase Y, Akuta N, Hosaka T, Saitoh S, Kobayashi M, Someya T, Matsuda M, Sato J, Watabiki S, Miyakawa Y, Kumada H 2005. Persistence of acute infection with hepatitis B virus genotype A and treatment in Japan. *J. Med. Virol*, 76: 33–9.

Tabor E, Hoofnagle JH, Barker LF, Pineda-Tamondong G, Nath N, Smallwood LA, Gerety RJ 1981. Antibody to hepatitis B core antigen in blood donors with a history of hepatitis. *Transfusion*, 21(3):366-71.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, 28(10): 2731-9.

Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, Naka Yoshi T, Wakuta M, Miyakawa Y, Mizokami M 2009. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J Virol*, 83(20):10538–10547.

Tavares RS, Barbosa AP, Teles SA, Carneiro MAS, Lopes CLR, Silva SA, Yoshida CFT, Martins RMB 2004. Seroprevalence, vaccination response and risk factors for hepatitis B virus infection in hemophiliacs in Goiás. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 26(3):183-188.

Teles AS, Martins RMB, Silva AS, Gomes DMF, Cardoso DDP, Vanderborght BOM, Yoshida CFT 1998. Hepatitis B virus infection profile in Central Brazilian hemodialusis population. *Rev Inst Med Trop S Paulo*, 40(5): 281-286.

Teles SA, Martins RM, Gomes SA, Gaspar AM, Araujo NM, Souza KP, Carneiro MA, Yoshida CF 2002. Hepatitis B virus transmission in Brazilian hemodialysis units: serological and molecular follow-up. *J Med Virol*, 68(1):41-9.

Thakur V, Guptan RC, Kazim SN, Malhotra V, Sarin SK 2002. Profile, spectrum and significance of HBV genotypes in chronic liver disease patients in the Indian subcontinent. *J. Gastroenterol. Hepatol*, 17: 165–70.

Thedja MD, Muljono DH, Nurainy N, Sukowati CHC, Verhoef J, Marzuki S 2011. Ethnogeographical structure of hepatitis B virus genotype distribution in Indonesia and discovery of a new subgenotype, B9. *Arch Virol*, 156(5):855-68.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG 1997. The CLUSTAL_X Windows interface: flexible stategies for mutiple sequence aligment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 25(24): 4876-82.

Torbenson M, Thomas DL 2002. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis*, 2(8):479-86.

Torbenson M, Kannangai R, Astemborski J, Strathdee SA, Vlahov D, Thomas DL 2004. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology*, 39(1):51-7.

Torresi J 2002. The virological and clinical significance of mutations in the overlapping envelope and polymerase genes of hepatitis B virus. *J Clin Virol* 25(2):97-106.

Tuttleman JS, Pourcel C, Summers J 1986. Formation of the pool of covalently closed circular viral DNA in hepadnavirus-infected cells. *Cell*, 47(3):451-60.

Urbain S, Fagnoni F, Missale G, Franchini M 2010. The role of anti-core antibody response in detection of occult hepatitis B virus infection. *Clin Chem Lab Med*, 48(1): 23-19.

Utama A, Octavia TI, Dhenni R, Miskad UA, Yusuf I, Tai S 2009. Hepatitis B vírus genotypes/subgenotypes in voluntary blood donors in Makassar, South Sulawesi, Indonesia. *Virol J*, 6:128.

Valente F, Lago BV, Castro CAV, Almeida AJ, Gomes SA, Soares CC 2010. Epidemiology and molecular characterization of hepatitis B virus in Luanda, Angola. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, *105*(8): 970-977.

Vellinga A, Van Damme P, Meheus A 1999. Hepatitis B and C in institutions for individuals with intellectual disability. *J Intellect Disabil Res*, 43:445-453.

Viet L, Lan NTN, Ty PX, Bjorkvoll B, Hoel H, Gutteberg T, Husebekk A, Larsen S, Skjerve E, Husum H 2012. Prevalence of hepatitis B & hepatitis C virus infection in potential blood donors in rural Vietnam. *Indian J Med Res*, 136:74-81.

Villeneuve JP 2005. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Virol*, 34(l)1:S139-42.

Wang GH, Seeger C 1992. The reverse transcriptase of hepatitis B virus acts as a protein primer for viral DNA synthesis. *Cell*, 71(4):663-70.

Wei Y, Neuveut C, Tiollais P, Buendia M-A 2010. Molecular biology of the hepatitis B virus and role of the X gene. *Pathol Biol*, 58:267–272.

Wiseman E, Fraser MA, Holden S, Glass A, Kidson BL, Heron LG, Maley MW, Ayres A, Locarnini SA, Levy MT 2009. Perinatal transmission of hepatitis B virus: an Australian experience. *MJA*, 190(9):489-492.

Wolff FH, Fuchs SC, Brandao ABM 2011. Absence of occult hepatitis B among blood donors in southern Brazil. *Braz J Infect Dis*,15(2):159-162.

World Health Organization (WHO) 2011. *Health topics. Mental disorders*. Disponível em: <http://www.who.int/topics/mental_disorders/en/>. Acesso em: 09 set. 2011.

World Health Organization (WHO) 2012b. *Health topics. Hepatitis.* Disponível em: <http://www.who.int/topics/hepatitis/en/>. Acesso em 8 de agosto de 2012.

World Health Organization (WHO) 2013. *Media Center. Hepatitis B*. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/> Acesso em: 29/01/2013

Xu ZY, Liu CB, Francis DP, Purcell RH, Gun ZL, Duan SC, Chen RJ, Margolis HS, Huang CH, Maynard JE 1985. Prevention of perinatal acquisition of hepatitis B virus carriage using vaccine: preliminary report of a randomized, double-blind placebo-controlled and comparative trial. *Pediatrics*, 76(5):713-8.

Yeh CT, Shen CH, Tai DI, Chu CM, Liaw YF 2000. Identi®cation and characterization of a prevalent hepatitis B virus X protein mutant in Taiwanese patients with hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 19:5213-5220

Yuan Q, Ou SH, Chen CR, Ge SX, Pei B, Chen QR, Yan Q, Lin YC, Ni HY, Huang CH, Yeo AET, Shih JWK, Zhang J, Xia NS 2010. Molecular Characteristics of Occult Hepatitis B Virus from Blood Donors in Southeast China. *J Clin Microbiol*, 48(2):357–362.

Zacharakis G, Kotsiou S, Papoutselis M, Vafiadis N, Tzara F, Pouliou E, Maltezos E, Koskinas J, Papoutselis K 2009. Changes in the epidemiology of hepatitis B virus infection following the implementation of immunisation programmes in northeastern Greece. Eurosurveillance, 14(32): 1-6.

Zoulim F 2005. New insight on hepatitis B virus persistence from the study of intrahepatic viral cccDNA. *J Hepatol*, 42:302–308.

ANEXO 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA, IMUNOLOGIA, PARASITOLOGIA E PATOLOGIA

Setor de Microbiologia - Laboratório de Virologia
Rua 235 s/n esq. com 1ª Avenida Setor Universitário, 74.650-050 Goiânia – GO
Fone : (062) 3209.6122 Fax: (062) 3521.1839

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Paciente,

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, em uma pesquisa. Este documento irá lhe fornecer informações importantes sobre o estudo. Por favor, leia as instruções abaixo atentamente. Após o esclarecimento sobre essas informações, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de dúvida, esclareça-as junto à equipe, para decidir se participa ou não do estudo. Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

- **Título do Projeto:** Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em população residente em uma instituição beneficente localizada em Trindade – Goiás.
- **Pesquisador Responsável:** Fabíola Souza Fiaccadori - Telefone para contato: 62 – 3209-6122
- **Pesquisadores Participantes:** Divina das Dôres de Paula Cardoso; Tatiane Cinquini Moraes - Telefone para contato: 62 – 3209-6122

- **Descrição da Pesquisa/Justificativa:**

  A hepatite B pertence a um grupo de infecções virais que apresentam como principal característica, um tropismo primário pelo fígado, sendo classificada como um tipo de hepatite viral. O agente causal desta infecção é o vírus da hepatite B (VHB). Em pacientes acometidos pela hepatite B, a infecção aguda pode ser assintomática ou sintomática, podendo evoluir para a cura ou para a cronicidade. Adicionalmente, a presença de infecção oculta tem sido reportada por vários estudos desenvolvidos em diferentes regiões do mundo. Segundo a literatura, indivíduos institucionalizados com problema mental representam um grupo de risco para aquisição da infecção pelo VHB em função do comportamento especial que apresentam, da baixa percepção dos riscos, e pela duração da permanência em instituições. Alguns indivíduos, como os portadores de Síndrome de Down, apresentam ainda déficit imunológico associado ao problema mental. No Brasil, particularmente na região Centro-Oeste, existem poucas informações a respeito da infecção pelo VHB em pacientes com

patologias psiquiátricas. Sendo a hepatite B um grande problema de saúde pública no Brasil e no mundo, devido ao número de indivíduos acometidos e às complicações resultantes das formas agudas e crônicas da infecção, torna-se importante o conhecimento da prevalência desta, os comportamentos de risco envolvidos na sua transmissão, bem como a identificação da ocorrência de infecção oculta nesta população, de forma a fornecer subsídios para o desenvolvimento de políticas de saúde pública para prevenção e controle desta virose, melhorando a saúde dos indivíduos com problemas mentais institucionalizados.

- **Objetivo Geral:**

  Avaliar o perfil soroepidemiológico e molecular da infecção pelo vírus da hepatite B em uma população institucionalizada portadora de patologias psiquiátricas e neurológicas do estado de Goiás.

- **Objetivos Específicos:**

  - Determinar a prevalência da infecção pelo VHB em uma população institucionalizada portadora de patologias psiquiátricas e neurológicas;
  - Analisar os fatores de risco associados a infecção pelo VHB;
  - Detectar o DNA viral nas amostras HBsAg reagentes e anti-HBc isolado.

- **Informações Gerais/Esclarecimentos (Resolução CNS 196/96):**

  a) Participar deste estudo será uma decisão voluntária e você pode ser recusar a participar ou retirar o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem que seja necessária qualquer explicação. Pedimos apenas que seja feito um comunicado da desistência, a qual não acarretará penalidade alguma, muito menos prejuízos;

  b) Antes e durante todo o curso da pesquisa, todos os pesquisadores participantes estarão disponíveis para esclarecer dúvidas e fornecer as informações que se fizerem necessárias em relação a qualquer ponto referente à pesquisa;

  c) Se você concordar em participar, as informações clínicas e laboratoriais relacionadas à sua pessoa serão confidencialmente mantidas em sigilo o tempo todo. Nem seu nome ou mesmo as iniciais irão constar em qualquer registro desta pesquisa. Sua identidade será então, mantida no mais absoluto sigilo;

  d) Este estudo não oferece nenhum risco para o(a) paciente, pois ele(a) apenas doa sua amostra (sangue) para a pesquisa, não ingerindo nada e nem se submete a nenhum processo que possa lhe causar desconforto, prejuízo ou alguma lesão. O sangue será colhido por técnicos treinados utilizando seringas e agulhas descartáveis, conferindo segurança ao(a) paciente;

  e) Com os resultados desta pesquisa, os futuros pacientes e até mesmo você poderão se beneficiar, indiretamente, com as novas informações que possivelmente serão obtidas a respeito do Vírus da Hepatite B. Estas informações poderão ser de extrema importância e utilidade para futuros processos de prevenção (vacinação) e até de tratamento;

f) Durante todo o período da pesquisa, toda a equipe de pesquisadores estará disponível, de forma a acompanhar os participantes da pesquisa, bem como seus responsáveis, e prestar assistência em caso de necessidade;
g) O seu compromisso com o estudo será apenas de preencher o questionário no dia da coleta de sangue, dessa forma, sua participação não acarretará nenhum gasto ou despesas, não sendo necessário o ressarcimento de despesas decorrentes da participação na pesquisa;
h) Em caso de eventuais danos decorrentes da pesquisa, estes serão avaliados por equipe responsável, a qual procederá as medidas de indenização que se fizerem necessárias;
i) O espécime clínico ficará sob nossa guarda e responsabilidade durante a execução desta pesquisa e para realização de estudos futuros para a pesquisa de outros vírus, desde que aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa;

_____

Fabíola Souza Fiaccadori
Pesquisador Responsável

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

- Eu, _____, RG/CPF _____, abaixo assinado, responsável por _____, autorizo sua participação no estudo "Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em população residente em uma instituição beneficente localizada em Trindade – Goiás", como sujeito, autorizando a realização dos procedimentos e a publicação dos resultados obtidos. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade.

Goiânia-GO, _____ de _____ de 20___

Assinatura do responsável: _____

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:_____
Assinatura:_____

Nome:_____
Assinatura:_____

ANEXO 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA, IMUNOLOGIA, PARASITOLOGIA E PATOLOGIA

UFG

Setor de Microbiologia - Laboratório de Virologia

PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B EM POPULAÇÃO RESIDENTE EM UMA INSTITUIÇÃO BENEFICENTE LOCALIZADA EM TRINDADE – GOIÁS.	
QUESTIONÁRIO – INFORMAÇÕES GERAIS	
Data Coleta:	Registro Virologia:
Nome Paciente:	Nº prontuário:
Naturalidade:	Sexo:
Data de nascimento:	Idade:
Unidade:	
Estado Civil: Solteiro ( ) Casado/Amigado ( ) Viúvo ( ) Separado/Divorciado ( ) Si ( )	
Grau de instrução: ≤5 anos ( ) 6-9 anos ( ) 10-12 anos ( ) > 12 anos ( ) Si ( )	
Renda Familiar: <1 salário mínimo ( ) 1-2 salários mínimos ( ) > 2 salários mínimos ( ) Si ( )	
Profissão:	
Possui parceiro sexual dentro da instituição? Sim ( ) Não ( ) Si ( )	
Cirurgia? Sim ( ) Não ( ) Si ( )	
Mantém contato com familiares? Sim ( ) Não ( ) Si ( )	
Há quanto tempo está na instituição?	Procedência:
Número de pessoas por quarto:	
Vítima de abuso sexual? Sim ( ) Não ( ) Si ( )	
Alguém na família já teve hepatite? Sim ( ) Não ( ) Si ( ) Caso afirmativo, grau de parentesco:	
Transfusão de sangue? Sim ( ) Não ( ) Si ( ) Caso Afirmativo, Quantas Vezes?	
Quando foi à primeira transfusão de sangue? Antes de 1994 ( ) 1994 ou Após ( ) Si ( )	
Tatuagem? Sim ( ) Não ( ) Si ( )	
Piercing?	

Sim ( ) Não ( ) Si ( )
Tratamento dentário com dentista prático? Sim ( ) Não ( ) Si ( )
Compartilhamento de objetos de uso pessoal/cortantes? Sim ( ) Não ( ) Si ( )
Acupuntura? Sim ( ) Não ( ) Si ( )
Contato com sangue de outra pessoa? Sim ( ) Não ( ) Si ( )
Nº de parceiros sexuais? ≤ 5 ( ) 6-10 ( ) > 10 ( ) Si ( )
Relação sexual com: Pessoas do mesmo sexo ( ) Pessoa que usam drogas injetáveis ( ) Profissional do sexo ( ) Si ( )
Uso de preservativo? Sempre ( ) Ocasionalmente ( ) Nunca ( ) Si ( )
Uso de drogas ilícitas? Não ( ) Sim, mas não injetável ( ) Injetável ( )
Tem ou teve alguma DST? Sim ( ) Não ( ) Si ( )
Relação sexual com uma pessoa com DST? Sim ( ) Não ( ) Si ( )
Já esteve preso? Sim ( ) Não ( ) Si ( )
Consumo de bebida alcoolica? Sim ( ) Não ( ) Si ( )
QUESTIONÁRIO – INFORMAÇÕES CLÍNICAS
QUESTIONÁRIO – Vacinação
O paciente recebeu a vacina contra Hepatite B?

Não/Comprovação pelo Cartão de Vacinação		Não/Sem comprovação	
Sim/Comprovação pelo Cartão de Vacinação		Sim/Sem comprovação	
Sem informação			

Em caso afirmativo: Quantas doses? Data 1ª dose: Data 2ª dose: Data 3ª dose:
Observações:

Responsável pelo preenchimento das informações:

Nome:_____

Assinatura: _____ Data:_____/_____/_____

ANEXO 3

UFG

PROTOCOLO N.
182/11

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER CONSUBSTANCIADO

I – Identificação:
– **Título do projeto**: Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em população em uma instituição beneficente localizada em Trindade - Goiás
– **Pesquisador Responsável**: Fabíola Souza Fiaccadori

VI – Parecer do CEP:

– Após análise dos documentos anexados, pelos pesquisadores, em atenção aos itens pendentes, constata-se o atendimento aos requisitos solicitados e por sua vez à resolução CNS 196/96, portanto o parecer, S.M.J deste comitê, é pela APROVAÇÃO.

P.S. Observações: Favor verificar as datas para entrega dos relatórios parcial e final.

VII – Data da reunião: 27 /06/2011

Assinatura do(a) relator(a):

Assinatura do(a) Coordenador(a)/ CEP:

Prof. João Batista de Souza
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/UFG