

GLÁUCIA BIGATON

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B EM
POPULAÇÃO PANTANEIRA DE MATO GROSSO DO SUL**

**CAMPO GRANDE
2009**

GLÁUCIA BIGATON

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B EM
POPULAÇÃO PANTANEIRA DE MATO GROSSO DO SUL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial à obtenção do grau de mestre, sob orientação da Prof^a Dr^a Ana Rita Coimbra Motta de Castro e co-orientação da Prof^a Dr^a Maria de Fátima Cepa Matos

**CAMPO GRANDE
2009**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Coordenadoria de Biblioteca Central – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil)

B592s Bigaton, Gláucia.
Soroepidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite B em população pantaneira de Mato Grosso do Sul / Gláucia Bigaton. -- Campo Grande, MS, 2009.
93f. ; 30 cm.

Orientadora: Ana Rita Coimbra Motta de Castro.
Co-orientadora: Maria de Fátima Cepa Matos.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Faculdade de Medicina.

1. Hepatite B - Sorodiagnóstico. 2. Hepatite B - Epidemiologia. 3. Pantaneiros – Saúde e higiene – Mato Grosso do Sul. I. Castro, Ana Rita Coimbra Motta de. II. Matos, Maria de Fátima Cepa. III. Título.

CDD (22)
616.3623



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Programa de Pós Graduação em
Doenças Infecciosas e Parasitárias

TERMO DE APROVAÇÃO

A dissertação intitulada EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B NA POPULAÇÃO PANTANEIRA DE MATO GROSSO DO SUL, apresentada à banca examinadora por GLÁUCIA BIGATON, como exigência para a obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, obteve aprovação.

BANCA EXAMINADORA:



Ana Rita Coimbra Motta de Castro – UFMS



Sheila Araújo Teles – UFG



Sonia Maria Fernandes – UFMS



Maria de Fátima Cepa Matos – UFMS

Campo Grande, 13 de julho de 2009.

À minha família, meu pai Darmo, minha mãe Odete e meus irmãos Alexand e Fabrina, obrigada por tudo, pelo amor incondicional, pelo apoio, pela paciência, pela força....Minha família: minha luz, meu alicerce.

“O agir de Deus é lindo na vida de quem é fiel,
No começo tem provas amargas,
Mas no fim tem o sabor do mel
Eu nunca vi um escolhido sem resposta
Porque em tudo Deus lhe mostra uma solução,
Até nas cinzas ele clama e Deus atende lhe protege,
Lhe defende, com as suas fortes mãos
Você é um escolhido e a tua história não acaba aqui
Você pode estar chorando agora,
Mas amanhã você irá sorrir,
Deus vai te levantar das cinzas e do pó,
Deus vai cumprir tudo que tem te prometido,
Você vai ver a mão de Deus te exaltar
Quem te vê há de falar,
Ele é mesmo escolhido.
Vão dizer que você nasceu pra vencer
Que já sabiam porque você
Tinha mesmo cara de vencedor,
E que se Deus quer agir ninguém pode impedir
Então você verá cumprir cada palavra
Que o Senhor falou,
Quem te viu passar na prova e não te ajudou,
Quando ver você na benção vão se arrepender,
Vai estar entre a platéia e você no palco,
Vai olhar e ver Jesus brilhando em você,
Quem sabe no teu pensamento você vai dizer,
Meu Deus como vale a pena a gente ser fiel,
Na verdade a minha prova tinha um gosto amargo,
Mas minha vitória hoje tem sabor de mel,

Tem sabor de mel, tem sabor de mel,
A minha vitória hoje tem sabor de mel,
Tem sabor de mel, tem sabor de mel,
A minha vitória hoje tem sabor de mel

A minha vitória hoje tem sabor de mel,
Minha vitória hoje tem sabor de mel
Sabor de mel”

DAMARES.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer à DEUS fonte de vida, meu Senhor e Salvador, Lhe agradeço pela vida, por tudo que tenho e por tudo que sou, pela minha família e por mais esta etapa realizada;

À minha família pelo lar maravilhoso que tenho, pela união, pela alegria, pelos princípios valiosos repassados, pelo apoio, sem vocês não sei viver;

Ao meu namorado Gustavo, meu amor, pela força e imensa paciência em horas tão difíceis, amo você.

Em especial quero agradecer a minha querida e amada orientadora Prof^a Dr^a Ana Rita Coimbra Motta de Castro pelo seu desprendimento, confiança, por ter me dado o primeiro sim, por todos seus ensinamentos passados com tanto carinho, paciência em todos os momentos que passamos horas escrevendo, pelas vezes que deixou de dar atenção aos seus filhos para dar atenção a mim, muito obrigada pelos puxões de orelha, pois sei que foram para meu crescimento pessoal e profissional, você é um exemplo de força, admiro sua inteligência e por dar conta de tanta coisa ao mesmo tempo, enfim aprendi muita coisa que vou levar para sempre em minha vida. Você é demais, quando crescer quero ser como você. Obrigada pela sua amizade.

Meus agradecimentos à Fundect – Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino Ciência e Tecnologia do Mato Grosso do Sul, pelo apoio financeiro.

À equipe do Laboratório de Imunologia Clínica (LAC) à mestre Alcione, Paula, Gina, Fernanda, Rodrigo, Danilo e a técnica Edy, pela imensa ajuda, colaboração para realização deste trabalho, vocês foram fundamentais.

À querida professora Beth, pela torcida constante, pelos bons conselhos, pela disposição em sempre querer ajudar, pela colaboração para realização desta pesquisa, enfim obrigada por tudo. Amo muito a senhora.

Às Dras Regina e Sheila do Instituto de Patologia e Medicina Tropical (IPTSP) de Goiânia, pela contribuição neste trabalho e por ter-nos recebido tão bem e com tanto zelo no IPTSP;

À professora Fátima pela colaboração em todos os processos burocráticos no decorrer do mestrado, pelo desprendimento e pela confiança;

Aos amigos e colegas Delso e Íris pela grande colaboração neste trabalho, pela disposição nas viagens, vocês foram muito importantes para a realização deste estudo, obrigada pela amizade e companheirismo, pelos bons momentos compartilhados;

Às professoras Sônia Fernandes e Sônia Andrade pela valiosa contribuição nesta pesquisa que irá enriquecer muito este estudo, pela paciência e disposição nas horas que precisei de ajuda, Soninha Fernandes obrigada pela compreensão em todas as horas que precisei. Vocês são pessoas maravilhosas e muitos competentes.

Ao meu amigo e colega o mestre Roberto Dias, pela disposição, pela colaboração e por horas de divertimento e alegrias;

Aos queridos parceiros André, Jean e Patrícia que representam a ECOA, nossa parceira nas viagens, por proporcionar o contato com as comunidades, obrigada pela indispensável parceria sem vocês as viagens não teriam acontecido;

À querida amiga professora Márcia Andreasi pela torcida, apoio, ajuda e amizade;

À professora Inês minha eterna madrinha, pela constante preocupação em me direcionar pelos melhores caminhos, obrigada pela torcida;

À professora e colega de trabalho Ana Paula, obrigada por sua compreensão apoio;

Aos amigos que conquistei no mestrado que serão amizades para toda a vida, Tiago, Janaína, Robertinha, Serjão;

À minha grande e querida amiga Elisângela, obrigada por estar presente em momentos que precisei de ajuda, por sua amizade que é verdadeira, por tudo que fez por mim desde a época da faculdade, você é muito importante na minha vida e você merece tudo de bom;

À minha prima Francisca pela amizade, amor, orações e pela importante ajuda no meu processo de crescimento pessoal, você é muito especial;

Ao meu primo Pedro pela ajuda, apoio e companheirismo, te amo.

RESUMO

A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) possui distribuição mundial e sua prevalência varia amplamente nas diversas regiões geográficas do mundo. No Brasil, taxas variadas de prevalência têm sido encontradas em diferentes áreas e agrupamentos populacionais. O presente estudo teve como objetivo investigar a prevalência dos marcadores sorológicos para hepatite B na população ribeirinha residente no Pantanal Sul-matogrossense, considerada uma região com condições sócio-econômicas e de moradia precárias. A população de estudo foi constituída por 321 indivíduos residentes em quatro comunidades remotas da Bacia do Alto Paraguai: Serra do Amolar/São Lourenço (n=74), Paraguai Mirim (n=100), Porto da Manga (n=74) e Passo do Lontra (n=73). As amostras coletadas foram testadas para detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBc total e anti-HBs por ensaio imunoenzimático. As amostras HBsAg positivas foram submetidas à pesquisa do HBeAg e anti-HBe. O HBV DNA das amostras HBsAg reagentes foi detectado pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Do total de 321 ribeirinhos investigados, com idade variando de 1 a 89 anos (média de 26,7 anos e desvio padrão de $\pm 19,3$), 52% (167/321) eram do sexo masculino, sendo que 54,2% eram de cor branca e 43,3% relataram ter companheiro fixo. A maioria (93,4%) dos indivíduos apresentava baixos níveis sócioeconômicos e educacionais, precárias condições de higiene e moradia e suas casas não apresentavam sistema de saneamento básico. A pesca era a principal atividade de subsistência. A prevalência global da infecção pelo HBV foi de 36,5% com variação de 15,1% (comunidade Passo do Lontra) a 61% (comunidade Paraguai Mirim). A positividade para o anti-HBc total associado ao HBsAg foi de 1,6% e a associação do anti-HBc com anti-HBs, indicativo de infecção passada e resposta imune, foi encontrada em 32,1% (103/321) dos indivíduos. A presença do anti-HBc isolado, foi encontrado em 2,8% (9/321) dos indivíduos. A presença de anti-HBs como marcador isolado, indicativo de antecedente de resposta vacinal foi detectada em 32,4% (104/321) dos indivíduos. Das duas amostras HBsAg positivas, quatro eram anti-HBe reagentes. O HBV DNA foi detectado em 40% (02/05) das amostras HBsAg reagentes e em 80% (04/05) das anti-HBe positivas. Os isolados do HBV foram identificados como genótipos D e F. Esses resultados reforçam a necessidade de programas adicionais de educação em saúde e esquemas alternativos de vacinação contra hepatite B visando ao aumento da cobertura vacinal nas comunidades pantaneiras isoladas do Brasil Central.

Palavras chaves: Hepatite B, Pantanal, Soroepidemiologia.

ABSTRACT

The hepatitis B virus infection (HBV) is spread worldwide and its prevalence varies largely in several geographical regions in the world. In Brazil, varied prevalence rates have been found in different areas and population groups. The objective of this paper is to investigate the prevalence of the serological markers for hepatitis B in the riverside population living in Pantanal sul-mato-grossense, a region considered to be socioeconomically poor. The study involved 321 individuals living in four remote communities in the Alto Paraguai Basin: Serra do Amolar/São Lourenço (n=74), Paraguai Mirim (n=100), Porto da Manga (n=74) and Passo do Lontra (n=73). The samples were tested for detection of HBsAg, total anti-HBc and anti-HBs markers using immune enzymatic assay. The positive HBsAg samples were analyzed for HBeAg and anti-HBe. PCR was used to detect the HBV DNA of the HBsAg reagent samples. Out of 321 riverside dwellers with ages ranging from 1 to 89 years (mean 26,7 and standard deviation $\pm 19,3$), 52% (167/321) were males, 54,2% were Caucasians and 43,3% reported to have a steady relationship. Most individuals (93,4%) presented low socioeconomic and educational levels, poor hygiene and housing conditions and their houses did not have proper sewage system. Fishing was the main subsistence activity. The global prevalence of HBV infection was 36,5% , ranging from 15,1% (Passo do Lontra community) to 61% (Paraguai Mirim community). Positivity for total anti-HBc associated with HBsAg was 1,6% and the association of anti-HBc with anti-HBs, indicating former infection and immune response, was found in 32,1% (103/321). Isolated anti-HBc was seen in 2,8% (9/321). The presence of anti-HBs as an isolated marker, indicating antecedent of vaccine response was detected in 32,4% (104/321) of the individuals. From the two HBsAg positive samples, four were anti-HBe reagent. HBV DNA was detected in 40% (02/05) of the HBsAg reagent samples and in 80% (04/05) of the positive anti-HBe. The HBV isolates were identified as genotypes D and F. The findings reinforce the need for additional programs of health education and alternative schemes against hepatitis B with a view to increasing the vaccine coverage in isolated communities of Central Brazil.

Keywords: Hepatitis B, Pantanal, Seroepidemiology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Hepatite B – Breve Histórico	13
2.2 O vírus da hepatite B	13
2.3 Transmissão do HBV	21
2.4 Diagnóstico Laboratorial da hepatite B	23
2.5 Aspectos Clínicos e tratamento	25
2.6 Prevenção e controle	27
2.7 Epidemiologia da infecção pelo HBV	29
3 POPULAÇÃO PANTANEIRA DE MATO GROSSO DO SUL	34
4 OBJETIVOS	38
4.1 Objetivos específicos	38
5 METODOLOGIA	39
5.1 Tipo de estudo	39
5.2 População estudada	39
5.3 Procedimentos para coleta dos dados	43
5.4 Tratamento dos dados	44
5.5 Detecção do HBV-DNA	48
5.6 Aspectos éticos	51
6 RESULTADOS	52
6.1 Características sócio-demográficas	52
6.2 Marcadores Sorológicos da infecção pelo vírus da hepatite B -	53
6.3 Variáveis associadas à infecção para o vírus da hepatite B ----	55
6.4 Estudo dos agrupamentos familiares em relação à positividade dos marcadores de infecção para o vírus da hepatite B	58
6.5 Características moleculares dos pacientes HBsAg positivos ----	60
7 DISCUSSÃO	61
8 CONCLUSÃO	68
9 PERSPECTIVAS	69
REFERÊNCIAS	70
APÊNDICES	85
ANEXOS	92

1 INTRODUÇÃO

A hepatite B é uma das mais comuns e graves doenças infecciosas, constituindo um importante problema de Saúde Pública mundial, devido à elevada morbimortalidade. Estima-se que, no mundo, existem mais de dois bilhões de indivíduos infectados e destes, 350 milhões são portadores crônicos do vírus da hepatite B. Aproximadamente 15 a 40% dos indivíduos portadores crônicos desenvolvem doença hepática progressiva, incluindo cirrose hepática e carcinoma hepatocelular. Destes, de 15 a 25% irão a óbito em consequência da infecção (LOK; MACHON, 2007).

Estudos epidemiológicos sobre a infecção pelo HBV têm demonstrado uma ampla variação nos níveis de endemicidade em todo o mundo. No Brasil, grandes variações de prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) são relatadas, dependendo da região geográfica e do grupo populacional estudado.

Acredita-se que a transmissão da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) seja grandemente influenciada por processos sociais. Em investigações sobre hepatite B em populações de áreas urbanas e rurais, observou-se um risco maior para esta infecção em indivíduos residentes em zona rural com condições sócio-econômicas desfavoráveis, situação semelhante em que se encontra o homem pantaneiro.

A preservação do pantanal sul-mato-grossense, tido como santuário ecológico devido a sua exuberância em fauna e flora, tem sido amplamente estudada, discutida e divulgada pelos meios de comunicação, entretanto, pouco se sabe a respeito da influência do meio ambiente sobre a vida e saúde do pantaneiro que reside em área rural com condições socioeconômicas e de moradia precárias, favoráveis à aquisição de doenças infecciosas inclusive a hepatite B.

Atualmente, não existem dados referentes à prevalência da infecção para o vírus da hepatite B na população pantaneira de Mato Grosso do Sul. Considerando que as estratégias de controle dependem primariamente do conhecimento da epidemiologia da infecção, o presente estudo teve por objetivo estimar a prevalência dos marcadores sorológicos do HBV, investigar os principais fatores de risco associados a essa infecção, bem como identificar os genótipos circulantes do HBV na população pantaneira. Os resultados obtidos fornecerão informações

imprescindíveis para o delineamento de programas e medidas efetivas de prevenção e controle da hepatite B em população pantaneira de Mato Grosso do Sul.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Hepatite B - breve histórico

Relatos de ocorrência de icterícia epidêmica são encontrados desde o período anterior a Era Cristã cuja primeira referência foi atribuída a Hipócrates (400 a.C). A primeira descrição de hepatite transmitida por inoculação direta de sangue ou por produtos sanguíneos foi em 1885, durante uma campanha de imunização contra o vírus da varíola em trabalhadores de estaleiros em Bremen, Alemanha, evidenciando associação dessa icterícia a uma agente de transmissão parenteral (FREITAS, 2003; KRUGMAN; GILES; HAMMOND, 1967; RANGER-ROGEZ; DENIS; 2004).

Estudos clínicos, epidemiológicos e experimentais realizados durante as décadas de 30 a 60 do século passado, permitiram a diferenciação entre dois tipos de hepatite, reconhecidas como hepatite A e hepatite B (HOLLINGER; LIANG; 2001; MACCALLUM, 1947).

Em 1965, Baruch Blumberg, Alter e Visnich, observando a reação do soro de um aborígene australiano com soro de hemofílicos politransfundidos identificaram a presença de um isoantígeno, posteriormente denominando-a antígeno Austrália (Au) (BLUMBERG, ALTER, VISNICH; 1965; FONSECA, 2006).

Prince (1968) correlacionou o antígeno Au com o vírus da hepatite B. Esse antígeno, posteriormente, recebeu o nome de antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) e foi o primeiro marcador sorológico da infecção viral. Em 1970, Dane, Cameron e Briggs identificaram a partícula completa do HBV por meio da microscopia eletrônica, denominando-a de Partícula de Dane.

2.2 O vírus da Hepatite B

2.2.1 Classificação e morfologia do HBV

O vírus da hepatite B (HBV) pertence à família *Hepadnaviridae*, gênero *Orthohepadnavirus*, no qual também estão incluídos outros vírus DNA hepatotrópicos (SHAEFER, 2007).

A partícula viral completa, denominada partícula de Dane, é esférica com diâmetro de 42 nm e apresenta uma estrutura complexa. É formada por um envelope externo lipoproteico, composto pela proteína HBsAg, por um nucleocapsídeo icosaédrico, o qual contém a proteína do nucleocapsídeo (HBcAg) que envolve o genoma viral (DANE; CAMERON; BRIGGS, 1970).

Partículas subvirais esféricas (20 nm) ou tubulares (22nm), produzidas em excesso e formadas por proteínas do envelope, não infecciosas, são também encontradas no soro de indivíduos infectados pelo HBV (figura 1) (KHOURI; SANTOS, 2004; LÜSEBRINK; SCHILDGEN; SCHILDGEN, 2009).

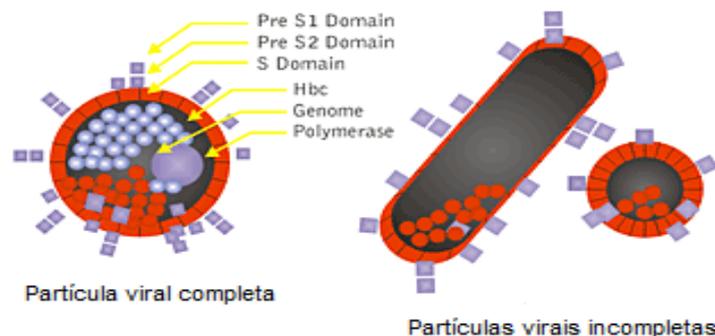


Figura 1 - Representação esquemática das partículas completas e incompletas do HBV

Fonte: BURNS et al., 1998 (modificado)

2.2.2 Organização genômica do HBV

O genoma do HBV é formado por uma molécula de DNA circular, de fita parcialmente dupla, possuindo aproximadamente 3,2 Kb formando um círculo quase contínuo. A fita maior, denominada de negativa ou L (-) tem um comprimento de 3200 nucleotídeos. A fita menor, positiva ou S (+), é incompleta e apresenta-se com tamanho variado. A circularidade da estrutura genômica é mantida pelo pareamento de bases das terminações 5' das duas fitas, formando um final coesivo de 224 pares de bases (NORDER et al., 1992; GHANY; LIANG, 2007).

A fita externa L (-) contém quatro sequências de leitura aberta (ORF - *open reading frames*), designadas de pré-S/S, pré-core/core, P e X (figura 2).

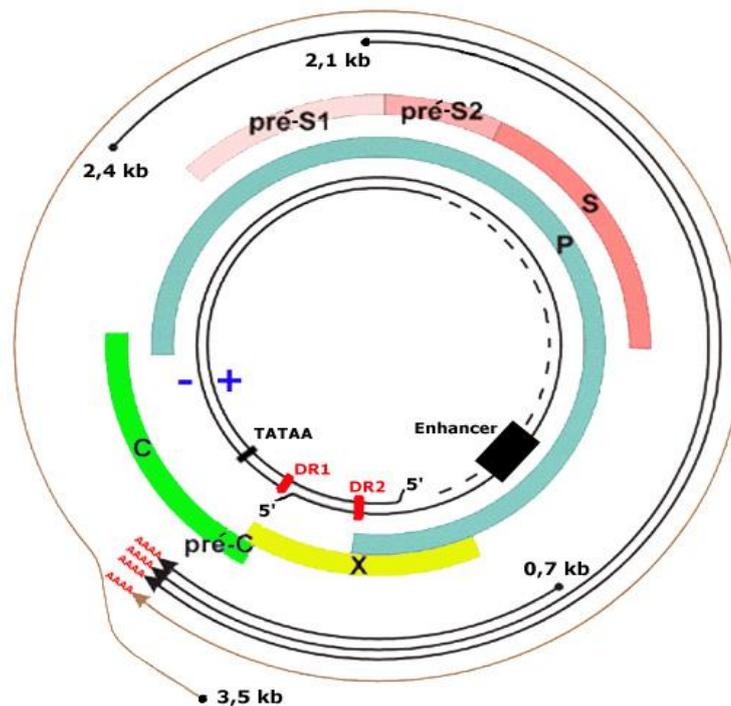


Figura 2 - Genoma do HBV com quatro regiões de leitura aberta (ORF): pré- S/S, pré-C/C, P e X.

Fonte: KIDD- LJUNGGREN; MIYAKAWA; KIDD, 2002.

Estas quatro regiões apresentam-se sobrepostas de forma que o HBV pode sintetizar aproximadamente 50% mais proteínas do que o esperado para o tamanho do seu genoma (GANEM; VARMUS, 1987).

O gene pré-S/S inclui as regiões pré-S1, pré-S2 e S, com três códons de iniciação na mesma fase de leitura e codifica a síntese das proteínas do envelope viral denominadas L (*large*), M (*middle*) e S (*small*). A maior proteína que compõe o HBsAg, proteína *large* L (368 aminoácidos), é codificada pelas sequências pré-S1, pré-S2 e S. Essa proteína é responsável pelos sítios de ligação do HBV à receptores específicos no hepatócito. A proteína de tamanho intermediário, *middle* M (281 aminoácidos) é codificada pelas regiões pré-S2/S e S. A proteína M apresenta função ainda não bem elucidada, mas acredita-se estar relacionada com a adsorção e penetração do HBV no hepatócito. A menor proteína e a mais abundante proteína do envelope viral, *small* S (226 aminoácidos), é sintetizada a partir do códon de iniciação localizado no início da região S. Nela estão localizados os epítomos específicos que são alvo primário da neutralização viral conferida pela resposta

imune do hospedeiro (GOMES, 2007; KAO; CHEN, 2002; SEEGER; MANSON, 2000).

A região pré-*core/core* possui dois códon de iniciação na mesma fase de leitura aberta que permitem sintetizar duas proteínas funcionalmente distintas: a proteína “e” (HBeAg) e a proteína *core* (HBcAg). O HBeAg é traduzido a partir de um único códon de iniciação da região pré-*core*. Inicialmente, é produzido um polipeptídeo precursor de 214 aminoácidos que é translocado para o retículo endoplasmático, onde é clivado, resultando na formação do HBeAg com 159 aminoácidos. O HBeAg é secretado na circulação sanguínea de indivíduos infectados, indicando replicação viral (GANEM; PRINCE, 2004; GOMES, 2007; KHOURI; SANTOS, 2004).

A proteína *core* (HBcAg) é codificada a partir do códon de iniciação da região C (*core*). O HBcAg corresponde a um polipeptídeo de 185 aminoácidos, responsável pela formação do nucleocapsídeo viral, no qual, 180 monômeros desta proteína espontaneamente se autoagrupam para formar uma partícula icosaédrica. O HBcAg está presente no tecido hepático de pacientes infectados pelo HBV, não sendo detectado no soro e induz a produção de anticorpos anti-HBc das classes IgM e IgG (GANEM; PRINCE, 2004; GOMES, 2007; KHOURI; SANTOS, 2004).

A região P compreende a maior região de leitura aberta do genoma do HBV, abrangendo 75% do genoma viral (LOCARNINI, 2004; SHELDON et al., 2006). O produto dessa região é uma proteína de 832 aminoácidos, com quatro domínios funcionais: o domínio amino-terminal, que atua como proteína terminal, necessário para o início da síntese da fita de DNA de polaridade negativa; uma região denominada de espaçadora de função desconhecida; o domínio de transcriptase reversa e o domínio carboxi-terminal, que exibe atividade de RNase H (GANEM; SCHNEIDER, 2001; GHANY; LIANG, 2007).

A sequência X, menor região genômica do HBV, é responsável pela síntese da proteína HBxAg de 154 aminoácidos, cujo papel durante a infecção pelo HBV ainda não foi totalmente definido. Contudo, estudos em animais têm demonstrado que esta proteína é importante para a replicação viral. Acredita-se que a mesma seja multifuncional, capaz de ativar vários elementos transcricionais virais e celulares. (LOK; MACHMAHON, 2001; MICHIELSEN; FRANQUE; VAN DONGEN, 2005). Estudos têm sugerido que a proteína HBxAg interfere na atividade da p53, a qual

possui função supressora de tumor e ativadora de apoptose celular, influenciando, desta forma, na persistência e no desenvolvimento de cirrose e carcinoma hepatocelular em portadores crônicos do HBV (GANEM; VARMUS, 1987; MOOLA; KEW; ARBUTHNOT, 2002; SEEGER; MANSON, 2000; YOKOSUKA; ARAI, 2006).

2.2.3 Replicação viral

O hepatócito é considerado o sítio de replicação do vírus da hepatite B (LOCARNINI; OMATA, 2006; SEEGER; MANSON, 2000). Os *Hepadnavírus* são os únicos vírus de DNA que replicam seu genoma por meio da transcrição reversa, tendo um RNA pré-genômico como molde. As novas partículas produzidas no interior da célula infectada são liberadas por brotamento na membrana celular (BECK; NASSAL, 2007).

O ciclo de replicação do HBV inicia-se com a adsorção da partícula viral ao hepatócito (figura 3), sendo os domínios pré-S1 e S os principais sítios de ligação do HBV aos receptores presentes na célula hepática. Após a adsorção, o vírus penetra no citoplasma dos hepatócitos e perde o envoltório glicoprotéico. No interior da célula, o nucleocapsídeo libera o HBV-DNA e este é transportado para o núcleo, onde por ação da DNA polimerase da célula hospedeira é convertido em DNA circular de fita dupla covalentemente ligada (cccDNA –*covalently closed circular*) (BECK; NASSAL, 2007; GANEM; SCHNEIDER, 2001; NASSAL, 1999).

A RNA polimerase II celular transcreve o genoma do HBV a partir da forma cccDNA em RNA pré-genômico (pgRNA) e genômicos. Entre estes RNA, alguns servirão de mensageiros e irão ao citoplasma onde serão traduzidos para gerar a DNA polimerase do HBV, o HBcAg e o HBeAg. O RNA pré-genômico é, então, encapsidado dentro das partículas do *core* (HBcAg) juntamente com a polimerase viral. No interior do nucleocapsídeo, o pgRNA é convertido na cadeia negativa do DNA pela transcriptase reversa, seguido da síntese da cadeia positiva, que permanece incompleta. Após a síntese das duas fitas de DNA, as partículas do *core*, contendo DNA viral, são então envolvidas pelas proteínas L, M e S no retículo endoplasmático e secretadas para fora do hepatócito ou transportadas para o núcleo, onde se completa a síntese da cadeia positiva e forma-se novamente o

cccDNA, dando origem a um novo ciclo de replicação (BECK; NASSAL, 2007; GANEM; SCHNEIDER, 2001; SEEGER; MASON, 2000).

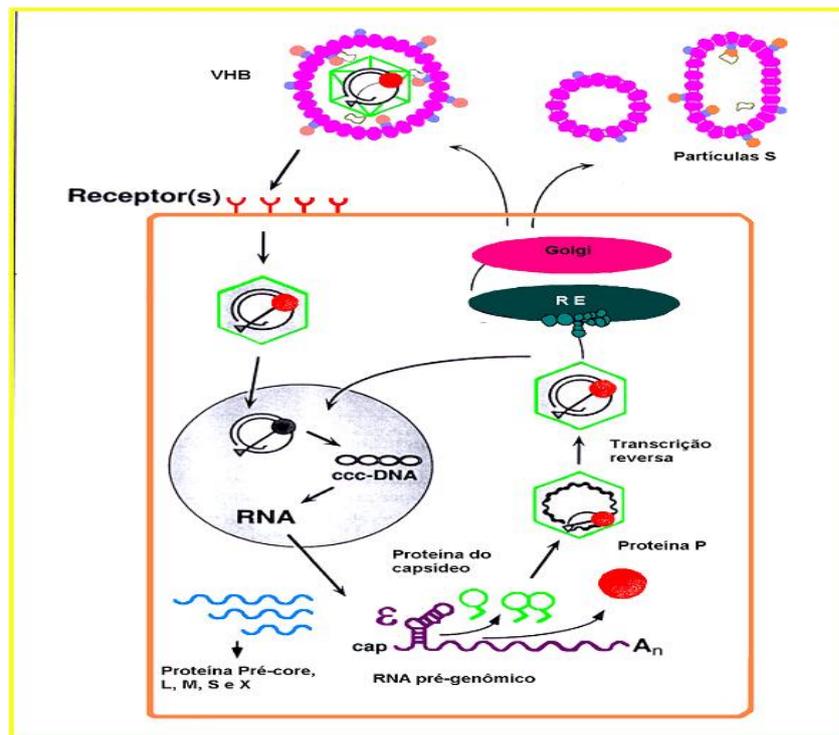


Figura 3 – Representação esquemática da replicação viral do HBV
Fonte: NASSAL (1999)

2.2.4 Variabilidade antigênica e genética do HBV

2.2.4.1 Subtipos sorológicos

Variações antigênicas no HBsAg têm resultado em diferentes subtipos sorológicos do HBV, o que permitiu a classificação do HBV em nove subtipos ou sorotipos sorológicos: ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, adw2, adw4, ayr, adr^{q+} e adr^{q-}, de acordo com os determinantes e subdeterminantes antigênicos do HBsAg (BANCROFT; MUNDON; RUSSEL, 1972; COUROUCÉ-PAUTY; PLANÇON; SOULIER, 1983; LE BOUVIER, 1971; MAGNUS; NORDER, 1995).

2.2.4.2 Genótipos e subgenótipos

A comparação de sequências genômicas completas de amostras do HBV possibilitou a classificação desse vírus em oito grupos genômicos, denominados de A a H, baseada em uma divergência intergenotípica na sequência completa de nucleotídeos de no mínimo 8% (ARAUZ-RUIZ et al., 2002; NAUMANN et al., 1993; NORDER et al., 1992; OKAMOTO et al., 1988; STUYVER et al., 2000).

Diferenças intragenotípicas de 4% ou mais na sequência completa do genoma tem resultado em classificação do HBV em subgenótipos, cujos portadores apresentam origens étnicas e geográficas distintas (KRAMVIS et al., 2002; SUGAUCHI et al., 2002).

Dentre os isolados do genótipo A, três clusters genéticos foram relatados: subgenótipo A1 (também conhecido como A' ou Aa) que representa os isolados oriundos da África e Ásia; subgenótipo A2, denominados anteriormente com A-A' ou Ae, inclui isolados de origem americana e européias e subgenótipo A3 ou Ac, descrito em isolados encontrados em Camarões (BOWYER et al., 1997; KRAMVIS et al., 2002; KURBANOV et al., 2005; SUGAUCHI et al., 2004).

O genótipo B é subdividido em cinco subgenótipos: B1, BA ou B2, B3, B4 e B5 (SAKAMOTO et al., 2006; SUGAUCHI et al., 2002). Quanto ao genótipo C, já foram descritos os subgenótipos C1, C2, C3, C4 e C5 (HUY et al., 2004; KRAMVIS; KEW; FRANCOIS, 2005). O genótipo D tem sua subdivisão em cinco subgenótipos (BANERJEE et al., 2006; MIYAKAWA; MIZOKAMI, 2003; SCHAEFER, 2007). Recentemente, Lusida et al. (2008) identificaram os subgenótipos C6 e D6 de doadores de sangue provenientes de Pápua na Indonésia. A subdivisão de isolados do genótipo F em cinco subgenótipos (Ia, Ib, II, III e IV) foi proposta por Mbayed et al. (2001); Ia e Ib associados ao subgenótipo F1 são achados representativos da América Central e Argentina respectivamente; subgenótipo F2 inclui clusters II da Nicarágua, Venezuela e Brasil, III inclui amostras primeiramente encontradas no Panamá, Venezuela e Colômbia e cluster IV na Argentina e Bolívia. Além desses já foram identificados os subgenótipos F3 e F4 (CAMPOS; MBAYED; LEONE y PINEIRO, 2005; DEVESA et al., 2004; HUY et al., 2006).

2.2.4.3 Mutações no genoma

A frequência de mutações do HBV tem sido estimada em aproximadamente 1,4 a $3,2 \times 10^5$ substituições/nucleotídeo/sítio/ano, sendo esta taxa 10 vezes maior que a encontrada em outros vírus DNA. A taxa de mutação é influenciada, principalmente, por fatores relativos ao HBV (genoma compacto e replicação por transcrição reversa), ao hospedeiro (fase clínica da doença, imunotolerância, imunoe eliminação, imunossupressão) e a fatores externos como transplante e tratamentos anti-virais (BAUMERT; THIMME; WEUZSACKER, 2007; SUMMERS; MANSON, 1982, OKAMOTO et al., 1994).

A proteína S, principal proteína que forma o HBsAg, é capaz de induzir resposta imunológica protetora (anti-HBs) contra o HBV, sendo este o antígeno utilizado na formulação da vacina recombinante. Estudos revelam que mutações no epítipo protetor do determinante “a” do HBsAg podem interferir na proteção vacinal, impedindo o reconhecimento do anticorpo neutralizante derivado da cepa selvagem, denominado *escape* vacinal. Interferem ainda, na análise dos resultados sorológicos, bem como prejudicam a terapia baseada na utilização de anticorpos específicos para suprimir a infecção em indivíduos transplantados. A mutação mais comum do determinante “a” é a substituição da glicina pela arginina no códon 145 do HBsAg (sG145R) ou aspartato pela alanina no códon 144 (sD144A) (GONÇALES; GONÇALES JR., 2006; WEBER, 2005).

Diversas mutações na região pré-*core*/core têm sido descritas. A mutação na região pré-*core* do HBV DNA que resulta em uma falha na expressão do HBeAg é uma das mais importantes. A mutação mais frequentemente observada é a troca do aminoácido glicina pelo aminoácido arginina no nucleotídeo 1896, que altera o *codon* UGG da proteína HBeAg por um códon de terminação UAG, denominado *stop codon* prematuro, impedindo, desta forma, a produção de HBeAg. Essa mutação é encontrada não só em doentes com hepatite fulminante ou hepatite crônica ativa, mas também em portadores assintomáticos, com hepatite aguda ou auto-limitada (CARMAN et al., 1989; SUGIYAMA et al., 2007; WEBER, 2005).

A segunda mutação mais comum é a mutação dupla do promotor basal do *core* (BCP) que envolve duas substituições de nucleotídeos (A1762T e G1764A), levando a uma queda na regulação da produção do HBeAg. Essas mutações são

encontradas predominantemente em doentes com um curso mais agressivo da doença, tais como hepatite fulminante ou hepatite crônica ativa. (BAUMERT; THIMME; WEUZZACKER, 2007; TONG, 2005).

Variantes resistentes à terapêutica podem emergir em pacientes com tratamento prolongado com anti-retrovirais (50%-60% em três anos de tratamento contínuo). Estas ocorrem devido às mutações no motivo YMDD (tirosina-metionina-aspartato-aspartato) da região responsável pelo sítio catalítico da transcriptase reversa. As substituições no códon 550 (metionina) pela valina (M550V) ou por uma isoleucina (M550I) são comumente encontradas em pacientes sob terapêutica prolongada com lamivudina, um antiviral análogo de nucleosídeo que inibe a síntese do DNA viral. Mutantes com alterações nesse gene são resistentes ao tratamento com esse tipo de droga e estão associados à persistência da infecção (GONÇALES; GONÇALES JR., 2006; SHELDON et al., 2006).

Mutações na região X podem também envolver elementos regulatórios que controlam a replicação viral, como o promotor basal do *core*. Tais deleções regulam negativamente o promotor pré-*core*, impedindo, assim, a síntese de proteínas virais e, conseqüentemente, dificultam a detecção de antígenos pelos testes diagnósticos utilizados rotineiramente (FRANÇOIS et al., 2001; LOCARNINI, 2004).

2.3 Transmissão do HBV

O vírus da hepatite B é transmitido por meio do contato com fluídos orgânicos de hospedeiros infectados tais como: sangue, sêmen, secreção vaginal e líquido menstrual (MAST et al., 2005). Já foi detectado em menores concentrações na saliva, na bile e nos fluídos ascítico, pleural e cerebrospinal de indivíduos infectados (HEATHCOTE; GATEAU; SHERLOK, 1974; VAN-DAMME; VELLINGA, 1998). Além disso, o HBV é estável em superfícies ambientais por mais de sete dias, podendo ocorrer a transmissão indireta por objetos inanimados (ALTER, 2003a; BOND et al., 1983; MAST et al., 2005).

Atualmente, são reconhecidos quatro modos de transmissão para o HBV: da mãe para o filho no momento do parto (transmissão perinatal); por via intrafamiliar (transmissão horizontal) que pode ocorrer por meio de um portador para seus familiares e outros contactantes; por contato sexual (transmissão sexual) e via

parenteral por exposição percutânea ao sangue e outros fluidos corpóreos (ALTER, 2003a; HOU; LIU; GU, 2005, MAHONEY, 1999).

A transmissão vertical é comum principalmente em regiões de elevada prevalência, ocorrendo preferencialmente em neonatos de mães HBsAg e HBeAg positivas (CHANG, 2007). O risco é maior para crianças nascidas de mães com altos níveis de replicação viral, das quais 90% podem adquirir a infecção se não houver a imunoprofilaxia, porém, esse percentual é menor, caso a mãe seja HBeAg negativa. Mulheres com infecção aguda pelo HBV, no último trimestre de gravidez apresentam um risco maior de transmissão do vírus para o concepto (HOU; LIU; GU, 2005; MAST et al., 2005).

A transmissão parenteral pode incluir transfusão de sangue e hemoderivados, hemodiálise, acupuntura, uso de drogas injetáveis, tatuagens, *piercings* e acidentes pérfuro-cortantes com material contaminado principalmente entre profissionais da área da saúde. O HBV não consegue penetrar a pele ou a mucosa, sendo necessário que, de algum modo, essas barreiras naturais sejam rompidas, mesmo que de forma mínima ou insignificante (MARGOLIS; ALTER; HADLER, 1991; SOUTO et al., 1998).

A transmissão sexual é uma importante via de disseminação do HBV e ocorre principalmente em áreas de baixa prevalência. A infecção ocorre, geralmente, em indivíduos adultos com padrões de transmissão dependentes do ambiente e de características comportamentais. Indivíduos que apresentam comportamentos de risco como relações sexuais desprotegidas, múltiplos parceiros e história de doenças sexualmente transmissíveis (DST) estão mais expostos ao HBV (ALTER, 2003b; HEGNIST, 1973; MADDREY, 2000).

A transmissão horizontal no contexto do agregado familiar apresenta risco de 3 a 6%, sendo responsável por um número significativo de infecções pelo HBV em todo o mundo, principalmente, em áreas de elevada endemicidade como no Sudeste Asiático e África subsahariana (AKHTAR et al., 2005; BOTHA et al., 1984; KIIRE, 1996). O mecanismo de transmissão ainda não é bem conhecido, porém parece envolver o contato interpessoal entre pele não intacta ou mucosa com secreções que contenham sangue infectado, ou por contato direto, provavelmente devido a lesões de pele, provocadas por escabiose e impetigo (BRASIL et al., 2003; SALKIC et al., 2007). Alguns fatores exercem influência na associação entre prevalência da

infecção pelo HBV e transmissão intrafamiliar como: tamanho da família; nível educacional e sócio-econômico baixos; grau de agregação familiar, número de portadores HBsAg e/ou HBeAg na família que potencializam exposições frequentes e repetidas de inóculos com grande concentração do HBV (DEGERTEKIN; GÜNES, 2008, EROL et al.; 2003; KARIM; THEJPAL; COOVADIA, 1991; THAKUR et al., 2003; TOUKAN et al., 1990).

2.4 Diagnóstico laboratorial da hepatite B

Do ponto de vista clínico, as hepatites virais apresentam um quadro bastante similar. O diagnóstico etiológico consiste em identificar o agente causal da infecção e pode ser realizado através de técnicas sorológicas, imunohistoquímicas ou moleculares.

Nas técnicas sorológicas, o diagnóstico é realizado rotineiramente por meio da detecção de antígenos virais (HBsAg e HBeAg) e de anticorpos (anti-HBs, anti-HBc IgM e IgG e anti-HBe). Nos métodos moleculares, o genoma viral (HBV DNA) pode ser detectado qualitativa ou quantitativamente (LEE, 1997; FERREIRA, 2000).

O HBsAg é o primeiro marcador sorológico encontrado em pacientes infectados pelo HBV, sendo detectado cerca de duas a quatro semanas antes da elevação do nível de alanina aminotransferase (ALT), e, três a cinco semanas antes do início da fase prodrômica da hepatite. Com a resolução da infecção (figura 4), os títulos de HBsAg declinam lentamente a níveis normais, surgindo então anticorpos anti-HBs que indica recuperação e imunidade contra hepatite B (FATTOVICH, 2003).

O antígeno “e” do HBV (HBeAg) aparece concomitantemente com o HBsAg e está presente no soro de pacientes com infecção aguda ou crônica. A positividade para o HBeAg indica uma concentração de 10^9 a 10^{10} partículas de HBV por mL de sangue e, portanto, constitui importante marcador sorológico de infecciosidade. O seu desaparecimento e o surgimento do anti-HBe sugere diminuição ou ausência de replicação viral (FATTOVICH, 2003).

O HBcAg, potente imunógeno expresso em hepatócitos infectados, estimula uma efetiva resposta humoral com produção de anticorpos anti-HBc. A fração IgM do anti-HBc é detectado geralmente no curso da infecção aguda, desaparecendo durante a fase de convalescença. Posteriormente, o marcador anti-HBc total

aparece e permanece detectável por toda a vida, sendo considerado marcador de exposição ao HBV (KAO, 2008, MAHONEY, 1999).

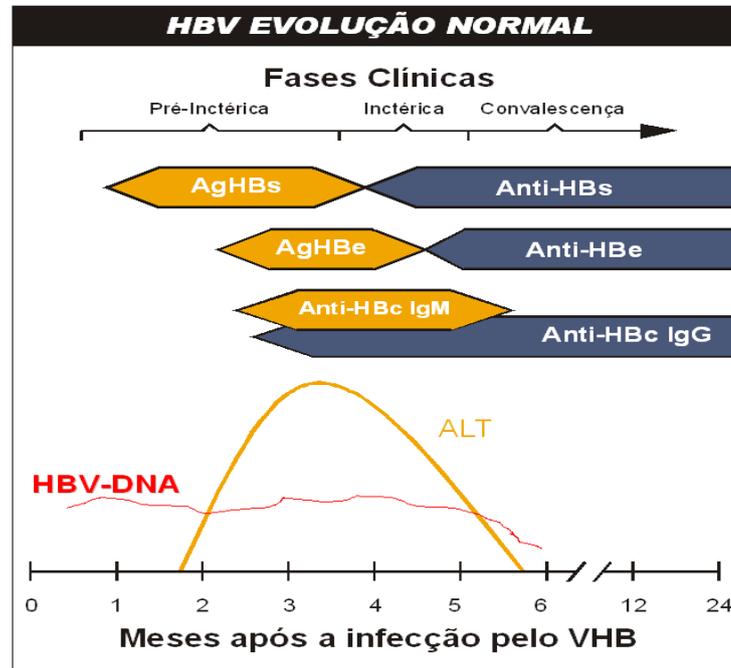


Figura 4 – Perfil sorológico da hepatite B no seu curso normal.
Fonte: ALQUÉZAS; BASSIT; SABINO, 2001.

A persistência do HBsAg no soro por mais de seis meses indica evolução para hepatite B crônica (BOWDEN, 2006; HOLLINGER; LIANG, 2001) (figura 5). Os marcadores HBsAg e anti-HBc total permanecerão por toda a vida nos pacientes, enquanto o HBeAg poderá ser detectado ou não. Pacientes infectados com isolados que apresentam mutação na região pré-core podem apresentar significativa replicação viral mesmo na ausência de HBeAg (CHANG, 2007; FERREIRA, 2000; RIZZETTO; CIANCIO, 2008).

O emprego de técnicas moleculares permitiu a detecção do HBV DNA em amostras de sangue ou biópsias hepáticas na ausência do HBsAg, caracterizando esta infecção como oculta (CONJEEVARAM; LOK, 2001; MINUK et al., 2005; TORBENSON; THOMAS, 2002)

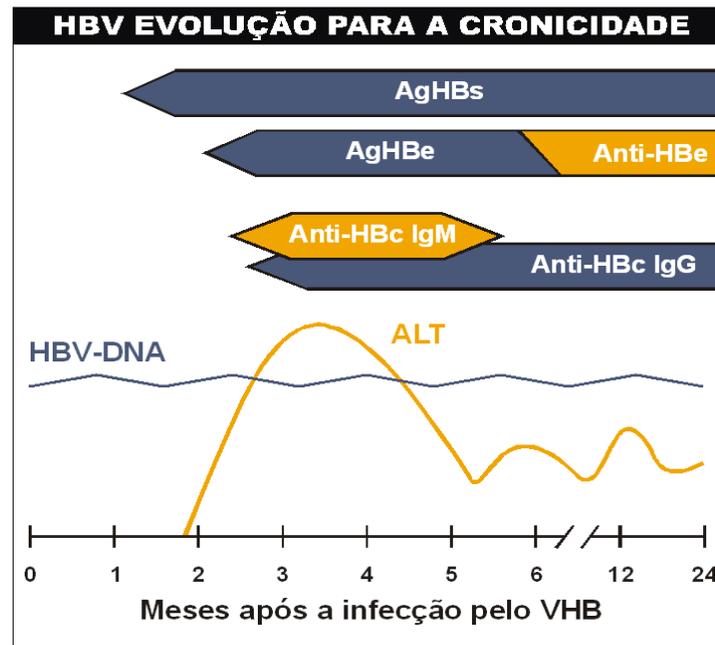


Figura 5 - Perfil sorológico da hepatite B crônica
 Fonte: ALQUÉZAS; BASSIT; SABINO, 2001.

2.5 Aspectos clínicos e tratamento da hepatite B

A história natural da infecção pelo vírus da hepatite B caracteriza-se pela variabilidade no seu curso e complicações. O curso da doença varia de acordo com alguns fatores como: idade no momento da infecção, sexo, estágio da doença no momento do diagnóstico, nível de replicação viral, estado imunológico do hospedeiro, resposta imunológica do hospedeiro e concomitante infecção com outros vírus, especialmente HIV, vírus da hepatite C e vírus da hepatite D (MENDONÇA; VIGANI, 2006; SHAMLIYAM et al., 2009).

2.5.1 Hepatite B aguda

O período de incubação da hepatite B aguda varia de 50 a 180 dias, com duração média de 75 dias e, caracteriza-se pela presença do antígeno de superfície do HBV (HBsAg) e ausência de sintomas. O surgimento de sintomas inespecíficos como anorexia, náusea, vômitos, fraqueza, intolerância alimentar, artralgia, desconforto abdominal e febre caracterizam o período pré-ictérico. No momento em que surgem estes sintomas ocorre elevação das transaminases e os anticorpos anti-

HBcAg das classes IgM e IgG estão presentes no soro. No início da doença aguda os marcadores de replicação viral, HBeAg e HBV-DNA, são encontrados em altas concentrações. O anti-HBc IgM também se apresenta com títulos elevados neste momento. A partir da resposta imunológica do hospedeiro ocorre progressivo decréscimo da replicação viral e redução nestes títulos. A maioria dos adultos com infecção aguda pelo HBV desenvolvem doença auto limitada (90%) com resolução do quadro em até 6 meses. No entanto, uma minoria (< que 1%) evolui para hepatite fulminante em decorrência da lise maciça, imuno-mediada, dos hepatócitos infectados (FATTOVICH, 2003; MENDONÇA; VIGANI, 2006).

2.5.2 Hepatite B crônica

A infecção crônica pelo HBV é caracterizada pela persistência do HBsAg por um período maior que 6 meses, altos níveis de HBV-DNA. O paciente com infecção crônica pelo HBV pode transitar entre doença ativa e inativa, dependendo da interação “vírus e hospedeiro”. Quando a resposta imune é suficiente para controlar a replicação viral a doença estabiliza-se (fase não replicativa) e o indivíduo torna-se um portador inativo do HBV. Por outro lado, quando a resposta imune não é suficiente para controlar a replicação viral, a doença progride com atividade inflamatória e fibrose hepática. Dentre os indivíduos com infecção crônica, aproximadamente 70% evoluem para estabilização da infecção, 30% apresentam progressão da doença com evolução para cirrose e destes, 25% desenvolvem descompensação hepática em 5 anos, e 5 a 10% desenvolvem carcinoma hepatocelular (HCC) (FERREIRA; BORGES, 2007; FONSECA, 2007).

O risco de evolução para cirrose em pacientes com infecção crônica pelo HBV varia de 2 a 6% ao ano. Alguns fatores, incluindo idade avançada, replicação viral persistente com longos períodos de necroinflamação hepática, uso crônico de álcool ou de drogas hepatotóxicas, influenciam a taxa de progressão para cirrose. A média de idade dos pacientes com diagnóstico de cirrose em estágio inicial é aproximadamente de 40 anos (FERREIRA; BORGES, 2007; VILLENEUVE, 2005).

A hepatite B crônica é um fator de risco para o desenvolvimento do hepatocarcinoma. Os infectados ao nascer possuem um risco de desenvolver hepatocarcinoma em uma taxa de 5% por década, o que representa uma

possibilidade 100 vezes superior ao que acontece na população em geral. Os pacientes com elevada carga viral, presença do HBeAg e transaminases elevadas apresentam maior possibilidade de desenvolver hepatocarcinoma. Os mecanismos pelos quais o vírus da hepatite B induz o carcinoma hepático ainda não estão completamente esclarecidos (FATTOVICH, 2003; SHAMLIYAM et al., 2009).

2.5.3 Tratamento

O grande contingente de indivíduos infectados pelo HBV com indicação para tratamento específico é representado principalmente pelos doentes com hepatite B crônica e cirrose hepática. Nos pacientes com hepatite B crônica, a terapia antiviral tem sido indicada somente aos indivíduos que apresentam inflamação hepática de intensidade moderada a grave (MUTIMER et al., 2000). As metas no tratamento da hepatite B são: eliminar o vírus, com conseqüente remissão da doença hepática necroinflamatória, melhorar o quadro clínico e histológico, prevenir a progressão do dano hepático incluindo a cirrose, o hepatocarcinoma e a morte do paciente (FERREIRA; BORGES, 2007; SHAMLIYAM et al., 2009).

Nos EUA, sete medicamentos foram aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento da hepatite B: interferon alfa, interferon peguilado, lamivudina, adefovir dipivoxil, entecavir, telbivudine e tenofovir. Alguns países, incluindo o Brasil, ainda não aprovaram a disponibilidade de todos estes medicamentos. Os cinco últimos são análogos de nucleosídeos utilizados por via oral, que inibem a transcrição reversa, durante o ciclo de replicação viral no hepatócito. No caso de crianças infectadas, por enquanto, somente estão aprovados o interferon alfa e a lamivudina (SHAMLIYAM et al., 2009)

2.6 Prevenção e controle

As principais medidas de prevenção e controle da infecção pelo HBV incluem: vacinação das populações suscetíveis, triagem sorológica para detecção do HBsAg e anti-HBc em unidades hemoterápicas, monitoramento da hepatite B em gestantes, profilaxia pós exposição ou durante o parto, programas de redução de danos em

usuários de drogas e adoção de medidas de biossegurança por profissionais de saúde (BRASIL, 2008).

A primeira vacina contra o HBV foi licenciada em 1981 e era derivada de plasma humano de portadores crônicos do HBV. No entanto, a possibilidade de ocorrer transmissão de outros patógenos veiculados pelo plasma, juntamente com o avanço da engenharia genética, levou ao desenvolvimento de vacinas recombinantes de segunda geração, mais seguras, compostas de HBsAg. A inclusão da vacina contra a hepatite B nos Programas de Imunização em diversos países ocorreu a partir de 1991, seguindo as recomendações da Organização Mundial da Saúde, OMS e foi oferecida apenas a grupos em alto risco para essa infecção como usuários de drogas injetáveis, profissionais do sexo, trabalhadores da saúde e indivíduos politransfundidos (KAO; CHEN, 2002; MAST et al., 2005; SHOUVAL, 2003).

Em 1992, no Brasil, a vacina passou a ser oferecida para pacientes em risco como profissionais da saúde, pacientes em hemodiálise, usuários de drogas e em áreas de alta endemicidade. Em 1997, o Programa Nacional de Imunização (PNI) passou a recomendar a vacinação universal contra hepatite B para menores de um ano. A partir de 2001, o esquema vacinal proposto foi estendido a indivíduos com idade de até 19 anos e em 2007, a menores de um ano, preferencialmente nas primeiras 12 horas de vida (BRASIL, 2003; 2008; LOPES, 2006).

A vacina contra hepatite B deve ser administrada por via intramuscular, na região deltóide ou no vasto lateral da coxa, em crianças pequenas com idade menor que 12 meses. Três doses da vacina induzem títulos protetores de anticorpos (anti-HBs ≥ 10 UI/mL) em mais de 90% dos adultos e jovens saudáveis, e em mais de 95% dos lactentes, crianças e adolescentes. A imunogenicidade diminui para 40 a 60% com o avanço da idade sendo menor em maiores de 40 anos (BRASIL, 2008; LOPES, 2006).

Por prevenir a infecção pós exposição, a imunoprofilaxia por meio da associação da vacinação e gamaglobulina hiperimune (HBIG) apresenta níveis elevados de eficácia e tem sido recomendada após acidentes com material biológico positivo ou fortemente suspeito de infecção por HBV, comunicantes sexuais de casos agudos de HBV, vítimas de abuso sexual e imunodeprimidos. A HBIG também é administrada em neonatos de mães HBsAg reagentes, nas primeiras horas de vida

para prevenir a infecção perinatal pelo vírus da hepatite B. Para indivíduos que não respondem à vacina, uma dose (0,06 mg/Kg/peso) de HBIG pode significar 70% a 90% de proteção, quando administrada dentro de sete dias de exposição percutânea (BRASIL, 2008; FERREIRA; SILVEIRA, 2004).

2.7 Epidemiologia da infecção pelo HBV

A infecção pelo HBV encontra-se distribuída universalmente, embora sua prevalência apresente considerável variação étnica e geográfica (figura 6) (LAVANCHY, 2004; MADDREY, 2000).

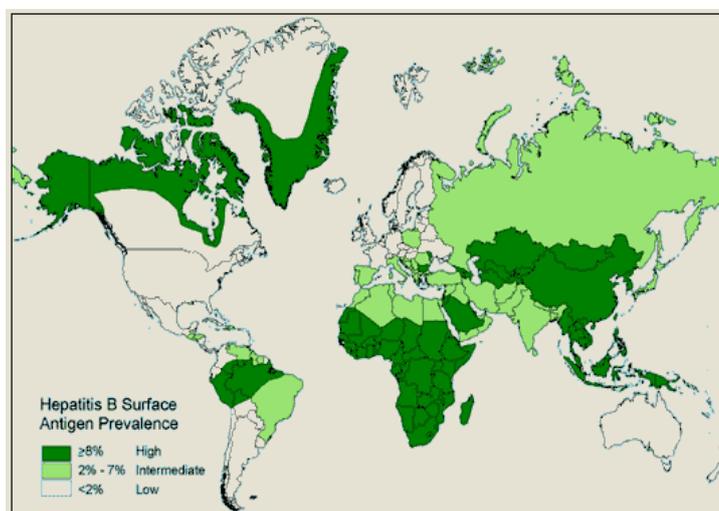


Figura 6 - Representação esquemática da distribuição geográfica mundial da hepatite B crônica

Fonte: WEINBAUM et al., 2008

A infecção pelo HBV apresenta alta endemicidade (prevalência $\geq 8\%$ de HBsAg), nas regiões da África subsaariana, China, sudeste Asiático, Bacia Amazônica, parte da Oceania e do Caribe, ilhas do Oceano Pacífico e grande parte do Oriente Médio, além de populações como aborígenes australianos e esquimós da Groenlândia e Alasca (ALTER, 2003a; CUSTER et al., 2004; HOU; LIU; GU, 2005; LAVANCHY, 2004; SHEPARD et al., 2006; TANAKA, 2000). Nesses locais, o risco do indivíduo adquirir a infecção é superior a 60% e ocorre principalmente no período perinatal ou na infância, apresentando, portanto, maiores chances de evolução para a cronicidade (ALTER, 2003a; LOU; LIU; GU, 2005; SHEPARD et al., 2006).

As áreas que apresentam endemicidade intermediária (prevalência de HBsAg entre 2% e 8%) incluem o Leste Europeu, Mediterrâneo, Ásia Central, Israel,

Turquia, Japão, parte das Américas do Sul e Central e Rússia (CUSTER et al., 2004; HOU; LIU; GU, 2005; LAVANCHY, 2004; PARANÁ; ALMEIDA, 2005; SHEPARD et al., 2006). Nessas áreas, a possibilidade de um indivíduo adquirir a infecção pelo HBV é de 20 a 60%, podendo ocorrer em diferentes faixas etárias (SHEPARD et al., 2006).

América do Norte, Europa Ocidental, Nova Zelândia, Austrália e sul da América Latina apresentam uma endemicidade baixa para o HBV. A prevalência para HBsAg é menor que 2%, e o risco de adquirir a infecção durante a vida do indivíduo é de 20% (SHEPARD et al., 2006; TENGAN; ARAÚJO, 2006).

O Brasil, embora considerado uma área de endemicidade que varia de baixa a intermediária, apresenta uma variação significativa nas taxas de prevalência de HBsAg nas diferentes regiões, sendo as mesmas crescentes no sentido sul-norte. A Bacia Amazônica constitui uma área de alta endemicidade, com prevalência de 3,3% a 15%. No Nordeste, taxas de 0,8% e 0,6% foram encontradas no Ceará e Rio Grande do Norte, respectivamente. Prevalências de 0,4% e 1,7% foram observadas em Porto Alegre e no Rio de Janeiro, respectivamente, quando estudadas as regiões Sudeste e Sul (GASPAR; YOSHIDA, 1987; SOUTO, 1999; TANAKA, 2000; TANNO; FAY, 1999; VIANA et al., 2005).

Pesquisas realizadas em alguns municípios situados na Região Centro-Oeste revelaram taxas baixas a moderadas em Mato Grosso do Sul, Goiás e sul de Mato Grosso, e altas taxas na região norte de Mato Grosso (porção amazônica) de HBsAg (SOUTO; FONTES; GASPAR, 1998; SOUTO, 1999). Em Goiânia-GO, foram encontradas diferentes taxas de prevalência para o HBsAg de 0,5% em gestantes (CARDOSO et al., 1996), 2% em meninos de/na rua (FERREIRA et al., 2006), 2,4% em pacientes em tratamento hemodialítico (OLIVEIRA et al., 2006) e 0,6% em adolescentes de baixa renda (PORTO et al., 1994). Em Mato Grosso do Sul, estudos conduzidos em população de primodadores mostrou prevalência de 9,4% para anti-HBc e 0,7% para HBsAg (AGUIAR, 2001), em usuários de drogas ilícitas foi encontrado uma prevalência de 0,4% (RODRIGUES, 2006) de HBsAg, em dentistas de Campo Grande-MS, uma prevalência de 0,6 % (BATISTA et al., 2006).

Considerando-se os estudos realizados em populações rurais do Brasil, um estudo realizado por Passos et al. (1992) no município de Cássia dos Coqueiros- SP encontrou uma prevalência de 0,1% para o HBsAg e de 7,6% para o marcador de

prevalência global. No estado da Bahia, Almeida et al. (2006) encontraram prevalência para anti-HBc de 9,3% e de 2,6% para o marcador HBsAg. Na região Centro-Oeste, investigações sobre hepatite B em populações rurais de Mato Grosso demonstraram uma prevalência global de 22,8% em nativos da cidade de Nossa Senhora do Livramento (região do Pantanal ao sul do Estado) (SOUTO et al., 1997) e de 31% no vilarejo Ranchão, pertencente ao município de Nova Mutum (SOUTO et al. 2001). Estudos realizados em populações afro-descendentes da região Centro-Oeste verificaram elevadas taxas de soroprevalência para a infecção pelo HBV em comunidades de Goiás (35,4%) e de Mato Grosso do Sul (19,8%), respectivamente (MATOS et al., 2009; MOTTA-CASTRO et al., 2005). Estes e outros estudos realizados em populações rurais no Brasil e no mundo estão listados na figura 7.

Referência	N°	Prevalência	
		HBsAg (%)	Anti- HBc (%)
Yodfat et al., 1982 (Israel)	1411	3,3	31,6
Tabor et al., 1985 (Zambia)	662	6,0	55,0
Lingao et al., 1986 (Filipinas)	2842	12,0	58,0
Graham; Blanco; Magee, 1992 (Texas)	4452	0,1	-
Passos et al., 1992 (Brasil, São Paulo)	1951	0,1	7,6
Souto et al., 1997 (Brasil, Mato Grosso)	740	1,2	22,8
Souto et al., 1998 (Brasil, Mato Grosso)	783	3,9	54,7
Souto et al., 1998 (Brasil, Mato Grosso)	374	10,4	53,8
Martinson et al., 1998 (Ghana)	1385	20,9	74,7
Chowdhury et al., 1999 (Índia)	960	5,3	-
Singh et al., 2000 (Índia)	44	8,0	50,0
Souto et al., 2001 (Brasil, Mato Grosso)	149	3,0	31,0
Motta-Castro et al., 2003 (Brasil, MS)	260	9,2	27,3
Sonwane; Birare; Kulkarni, 2003 (Ambajogai)	12240	2,78	4,8
Braga et al., 2005 (Brasil, Amazonas)	605	3,3	49,9
Kurien et al., 2005 (Índia)	1981	5,7	27,4
Motta-Castro et al., 2005 (Brasil, MS)	1058	2,2	19,8
Almeida et al., 2006 (Brasil, Bahia)	460	2,6	9,3
Nguyen et al., 2007 (Vietnã)	-	19,0	68,2
Matos et al., 2009 (Brasil, GO)	878	1,8	35,4
Merat et a., 2009 (Irã)	6583	2,6	16,4

Figura 7 – Estudos sobre a prevalência da infecção pelo HBV realizados em populações rurais no Brasil e no mundo.

2.7.1 Distribuição geográfica dos subtipos e genótipos

A análise genética permitiu classificar o HBV em nove subtipos virais e oito genótipos distintos (A-H) encontrados em diferentes regiões geográficas e que possuem associações com diferentes grupos de risco para infecção (KRAMVIS; KEW; FRANÇOIS, 2005; RONCATO; BALLARDIN; LUNGE, 2008).

Em relação à distribuição mundial, o subtipo ayw1 é mais encontrado no Vietnã, ayw2 no Mediterrâneo, África central e Grécia, ayw3 na Índia, Antilhas, América do Norte e Sul, ayw4 na África Ocidental, ayr no Vietnã, adrq na Polinésia Francesa, adrq+ no Sul e Leste Asiático, adw2 no centro e norte Europeu, leste da África do Sul e adw4 na Polinésia Francesa, Arquipélago de Marquesa e Argentina (NORDER et al., 2004).

No Brasil, estudo realizado por Gaspar e Yoshida (1987) subtipando amostras das cinco regiões brasileiras, detectou prevalência dos subtipos ayw2, ayw3, adw2 e adw4. O subtipo adw4 e adw2 foram predominantes na região Norte, adw2 no Nordeste, ayw3 e ayw2 no Sul, adw2 e ayw3 no Sudeste e adw2 na região Centro Oeste.

O genótipo A é predominantemente encontrado no noroeste da Europa, América do Norte, Índia e África subsahariana (KRAMVIS; KEW; FRANÇOIS, 2005; NORDER et al., 1993). Os genótipos B e C são predominantes na Ásia, sendo o genótipo B encontrado na Indonésia, China e Vietnã e o genótipo C encontrado na Ásia ocidental, Coreia, China e Japão (SUGAUCHI et al., 2002, OKAMOTO, et al., 1988). Apesar de ser encontrado em todo mundo, o genótipo D tem maior prevalência na região do Mediterrâneo e Índia. O genótipo E (NORDER; COUROUCÉ; MAGNIUS, 1994) é encontrado predominantemente na África ocidental e, o mais divergente entre todos os genótipos, genótipo F (CAMPOS; MBAYED; LEONE y PINEIRO, 2005; NAUMANN et al., 1993) é encontrado predominantemente entre as populações indígenas nas Américas Central e do Sul (Argentina, Venezuela, Colômbia, Bolívia, Costa Rica, El Salvador e Nicarágua) e sua origem está ligada a população aborígene do Novo Mundo. O genótipo G (STUYVER et al., 2000) circula nos Estados Unidos e na Europa. A distribuição geográfica do genótipo H (ARAUZ-RUIZ et al., 2002; BOWYER et al., 1997; MAGNUS; NORDER, 1995) parece ser restrita às Américas Central e do Sul.

Diversos estudos conduzidos no Brasil, em diferentes grupos populacionais, demonstraram a circulação dos genótipos A, B, C, D e F, com predomínio dos genótipos A, D e F (figura 8) (ARAUJO et al., 2004; DE CASTRO; NIEL; GOMES, 2001; MATOS et al., 2009; MORAES; GOMES; NIEL, 1996; MOTTA-CASTRO et al., 2005; SITNIK et al., 2004; TELES et al., 2002).

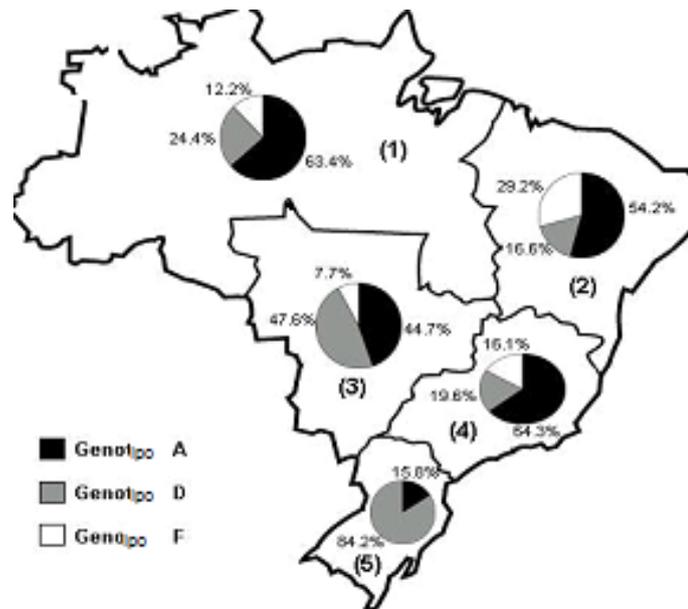


Figura 8 - Mapa do Brasil mostrando a distribuição dos genótipos do HBV
 Fonte: MELLO et al., 2007 (modificado)

3 POPULAÇÃO PANTANEIRA DE MATO GROSSO DO SUL

O Pantanal, uma das maiores planícies de sedimentação do mundo, ocupa grande parte do Centro Oeste brasileiro, localizado em parte dos Estados do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, estende-se pela Argentina, Bolívia e Paraguai. Com uma área de 110.776.237 km² (31% da área total de Mato Grosso do Sul), o Pantanal sul-mato-grossense abrange sete municípios: Corumbá, Ladário, Porto Murtinho, Miranda, Aquidauana, Anastácio e Dois Irmãos do Buriti (GRESSLER; VASCONCELOS; SOUZA, 2005).

O Pantanal apresenta declividade quase nula, o que favorece as frequentes inundações, causadas pelas enchentes periódicas provocadas pelos rios da região. Essa imensa planície é pontilhada por raros morros isolados e rica em depressões rasas. Tem seus limites marcados por variados sistemas de elevações como chapadas e serras e é cortada por grande quantidade de rios, todos pertencentes à Bacia do Rio Paraguai (FARIAS; CRUZ; OLIVEIRA, 2007).

A paisagem pantaneira altera-se profundamente nas duas estações bem definidas do ano: a seca e a chuvosa. O ritmo de vida do Pantanal é ditado pelas águas, sendo o rio a única via de transporte para grande parte da população, pois no período chuvoso, muitas estradas ficam alagadas e intransitáveis, apresentando, desta forma, dificuldades com meio de transporte e de comunicação (MAGALHÃES, 1992).

No Pantanal sul-mato-grossense, as comunidades que vivem no entorno dos rios ao longo da Bacia do Rio Paraguai constituem as populações ribeirinhas pantaneiras localizadas em áreas distantes e de difícil acesso. O homem pantaneiro nativo da região e inserido nesta imensa área do Pantanal habita um mundo onde as condições são muito particulares. Integrado a tudo que o rodeia, habituado a conviver com alterações constantes do ambiente, sabe que as enchentes periódicas, causa de prejuízos e dificuldades, são também responsáveis pela riqueza da região. No decorrer do tempo, o homem pantaneiro assimilou hábitos indígenas, paraguaios, bolivianos e de outros povos que lá se estabeleceram (MAGALHÃES, 1992).

Durante a presente investigação observou-se que o modo de vida dos pantaneiros é bastante simples. A principal atividade ocupacional é a pesca

artesanal e a coleta e venda de iscas vivas. As casas não possuem banheiro e apresentam poucos cômodos (sala, quarto e cozinha), sendo rústicas e feitas de pau-a-pique, construídas com troncos (figura 9) e cobertas com folhas de carandá da própria região. O chão é feito de terra batida, os móveis resumem-se a bancos, camas, armários e o cozimento dos alimentos é feito no fogão a lenha.

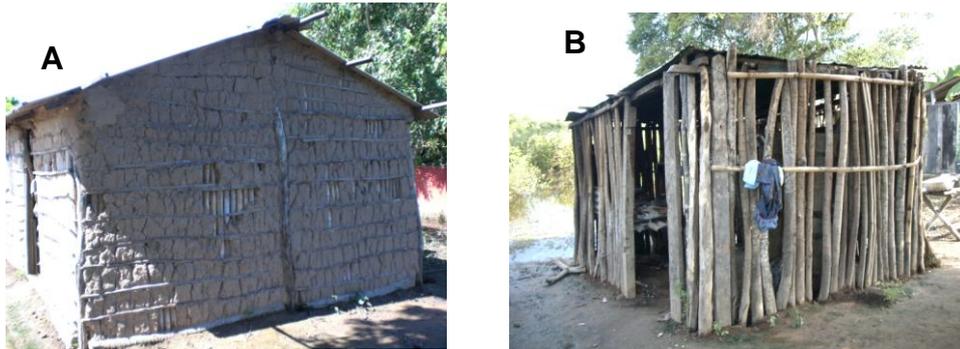


Figura 9 – A e B: Casas da comunidade São Lourenço

As casas estão dispostas de frente para o rio, onde se desenrola a vida pública, as festividades, as negociações e as relações sociais. Nos locais alagáveis, as casas são feitas de palafitas, onde a comunidade fica segura do aumento do nível das águas nos períodos de cheia (figura 10).



Figura 10 – A e B: Casas da comunidade Porto da Manga, região alagável

Nas áreas atrás das casas são realizadas algumas atividades agrícolas de subsistência como plantações de mandioca, arroz e feijão e a criação de animais domésticos (FARIAS; CRUZ; OLIVEIRA, 2007).

Os banhos, assim como a lavagem de roupas e de utensílios domésticos (figura 11) são realizados no rio. Não possuem unidade de saúde local, nem

qualquer infra-estrutura de saneamento básico, como água tratada e rede de esgotos, nem energia elétrica. Sua alimentação consiste basicamente de arroz, feijão, mandioca, farinha, peixe e, raramente, carne. Muitos alimentos retirados diretamente da natureza, como frutos silvestres, raízes e animais que caçam ou pescam são também utilizados.



Figura 11 - Mulheres da Comunidade Paraguai Mirim lavando os utensílios no rio

A taxa de natalidade é considerada alta o que justifica o predomínio de crianças. Existem escolas construídas com o apoio do Governo municipal de Corumbá que oferecem o ensino fundamental completo e o ensino médio (figura 12). O transporte dos alunos para as escolas é realizado por meio de barcos e canoas (figura 13).



Figura 12 - Escola da comunidade São Lourenço



Figura 13 – A e B: Transporte da população

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Caracterizar o perfil soropidemiológico da infecção pelo vírus da hepatite B em população pantaneira de Mato Grosso do Sul.

4.2 Objetivos específicos

Para a consecução do objetivo geral foram estabelecidos como objetivos específicos:

- a) estimar a prevalência da infecção pelo HBV em população pantaneira de Mato Grosso do Sul;
- b) investigar os principais fatores de risco associados à infecção;
- c) identificar os genótipos do HBV circulantes nessa população;

5 METODOLOGIA

5.1 Tipo de estudo

Trata-se de estudo analítico transversal.

5.2 População estudada

A população de estudo foi constituída por 321 indivíduos residentes em quatro comunidades remotas da Bacia do Rio Paraguai: Serra do Amolar/São Lourenço (n=74/121), Paraguai Mirim (n=100/190), Porto da Manga (n=74/230) e Passo do Lontra (n=73/150) (figura 14). Estas comunidades pertencem ao município de Corumbá, Mato Grosso do Sul (MS). Os pantaneiros estudados vivem em áreas distantes e de difícil acesso, às margens da Bacia do Rio Paraguai.

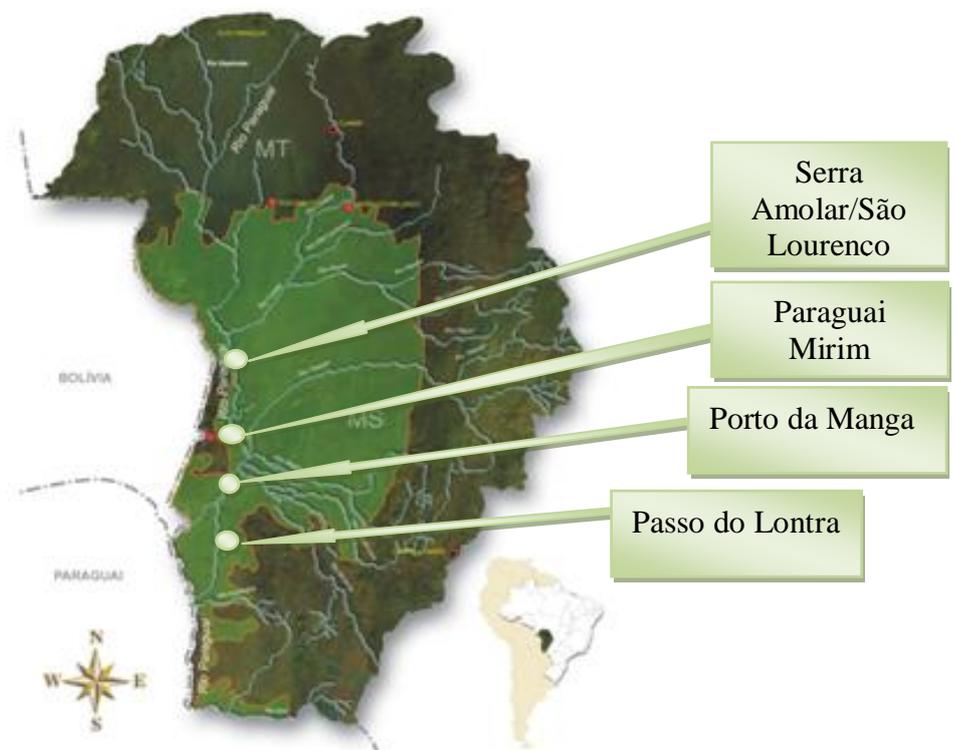


Figura 14 - Localização geográfica das comunidades pantaneiras em estudo
Fonte: AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, 2007

Por se tratar de amostra de conveniência, não há, a priori, definição do número de sujeitos. Foram incluídos no estudo todos os moradores das comunidades acima citadas que aceitaram participar do presente trabalho.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Anexo A).

5.2.1 Comunidade Serra do Amolar/São Lourenço

Esta comunidade, localizada a 217 km de Corumbá (via fluvial), caracteriza-se por estar entre a foz dos rios Paraguai e São Lourenço, constituindo uma planície inundável entre baías e corixos e com uma vegetação ripária. É a comunidade mais distante e de difícil acesso, o que contribui para seu isolamento. É constituída por 121 moradores, entre crianças e adultos. Esta comunidade conta com uma unidade educacional que atende principalmente as crianças e adolescentes em idade escolar. A atividade econômica gira em torno da pesca de iscas vivas e também do trabalho como brigadistas do Parque Nacional do Pantanal mato-grossense, aproximando o pantaneiro dos processos de conservação da biodiversidade (figura 15).

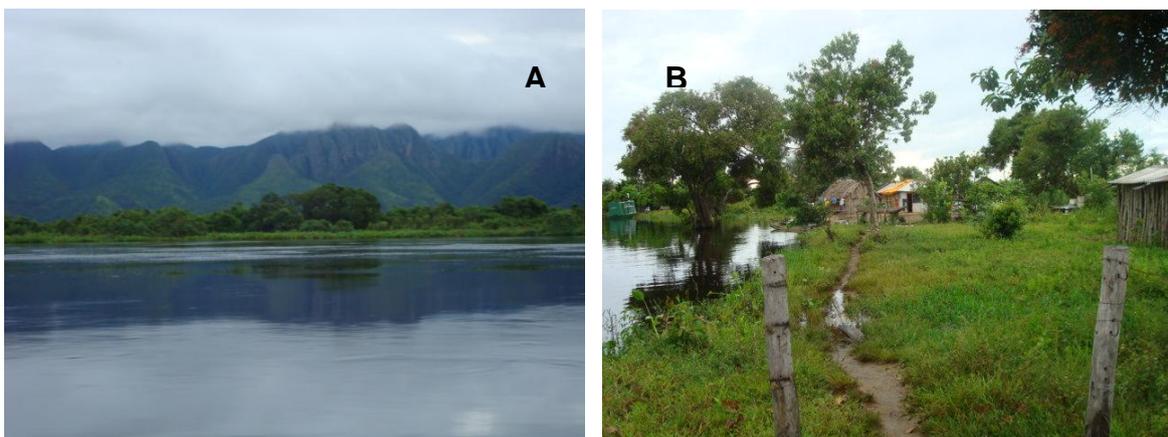


Figura 15 - A e B: Comunidade Serra Amolar/São Lourenço

5.2.2 Comunidade Paraguai Mirim

A comunidade Paraguai Mirim, localizada a 170 km de Corumbá (via fluvial), é formada por 190 pessoas, distribuídas em, aproximadamente, 24 famílias com predomínio de crianças (figura 16).

Esta região é caracterizada por planície inundável e a população está distribuída em uma extensa área ao longo do rio paraguai-mirim. É característica da região uma vegetação ripária e ciliar. A atividade econômica principal é a pesca e coleta e venda de iscas vivas. Existe uma escola que atende as crianças e adolescentes da comunidade.



Figura 16 – A e B: População da comunidade Paraguai Mirim

5.2.3 Comunidade Porto da Manga

Localizada na estrada Parque do pantanal sul-mato-grossense a 385 km da capital Campo Grande. A comunidade Porto da Manga é constituída por 230 moradores aproximadamente entre adultos e crianças. Esta comunidade conta com uma unidade de ensino e a principal atividade econômica de coleta de iscas vivas e pesca artesanal recebe o apoio e incentivo de projetos de instituições não-governamentais. Nesta região, caracterizada por planície inundável, os habitantes constroem as palafitas, casas suportadas por toras de árvores, que evitam que as águas alcancem o interior das casas (figura 17).



Figura 17 – A e B: Comunidade Porto da Manga

5.2.4 Comunidade Passo do Lontra

Localizada na estrada Parque do Pantanal, a 300 km da Capital Campo Grande. A comunidade Passo do Lontra composta por 150 pessoas, distribuídas em, aproximadamente, 23 famílias. É constituída basicamente por pescadores, piloteiros de barcos e trabalhadores que vivem dos serviços dos hotéis da região. Nesta região está localizada a Base de Estudos do Pantanal da UFMS que oferece atendimento médico e odontológico periódico (figura 18).



Figura 18 – A e B: Base de estudos do Pantanal da UFMS, Passo do Lontra

O deslocamento da equipe de saúde de Corumbá até as comunidades Serra do Amolar/São Lourenço e Paraguai Mirim, foi realizado por via fluvial. Foram utilizados dois barcos pequenos com os quais foram percorridos 220 Km em, aproximadamente 7 horas de duração (figura 19). A Estrada Parque do Pantanal permitiu o acesso às comunidades Passo do Lontra e Porto da Manga.



Figura 19 – Deslocamento da equipe de saúde até as comunidades

5.3 Procedimentos para coleta dos dados

O presente estudo contou com o apoio logístico (transporte fluvial, alimentação e estada) da Organização Não Governamental (ONG) Ecologia e Ação (ECOIA).

Previamente à data da coleta das amostras, foi realizada uma ampla divulgação dos objetivos do presente estudo à população pantaneira e agendamento das “Ações em Saúde”, utilizando o rádio que constitui o único meio de comunicação existente na região.

No período de abril a setembro de 2008, foram realizadas duas “Ações em Saúde” que consistiram em atendimento médico-laboratorial, dispensação de medicamentos e educação em saúde. A equipe multidisciplinar era formada por médicos, enfermeiros, farmacêuticos bioquímicos e estudantes da área de saúde. As famílias foram atendidas nas escolas das comunidades, conforme a distribuição de senhas por ordem de chegada.

Após informação prévia sobre os objetivos e metodologia da pesquisa, os indivíduos consentiram em participar da investigação por meio da assinatura no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A). A população menor de 18 anos participou do estudo, após a autorização dos pais ou responsáveis. Cada participante foi submetido à entrevista individual realizada por pesquisadores da equipe devidamente treinados, sobre as características sócio demográficas e fatores de risco relacionados à infecção pelo HBV, utilizando-se um questionário padrão (Apêndice B).

Foi coletada uma amostra de sangue por técnica de punção venosa periférica, utilizando-se tubo de coleta à vácuo com gel separador. Sem ultrapassar o tempo máximo de cinco horas, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm, em temperatura ambiente, durante dez minutos para obtenção de soro. O soro foi fracionado em quatro alíquotas, identificadas com o número de cada participante. Mantendo-se a condição de resfriamento, as alíquotas foram transportadas para o Laboratório de Imunologia Clínica do Departamento de Farmácia-Bioquímica e estocadas em freezer a -20°C até a realização das análises sorológicas e moleculares.

5.4 Diagnóstico laboratorial

5.4.1. Testes sorológicos

Os exames sorológicos envolvidos na pesquisa para detecção da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) foram realizados no Laboratório de Imunologia Clínica do Departamento de Farmácia-Bioquímica da UFMS. Inicialmente, todas as amostras foram testadas para a detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBc, anti-HBs por meio do ensaio imunoenzimático de terceira geração MONOELISA, HBsAg Plus, MONOELISA anti-HBc Plus e MONOELISA Anti-HBs, respectivamente (*Bio-Rad[®] Laboratories*), seguindo as instruções do fabricante. As amostras reagentes ao HBsAg foram testadas para detecção do anti-HBc IgM, HBeAg e anti-HBe. As amostras inicialmente reativas ao anti-HBc total foram submetidas a retestagem em duplicata.

5.4.1.2 Detecção do HBsAg

A detecção do marcador HBsAg foi realizada empregando-se reagentes comerciais (MONOLISA HBsAg ULTRA, *Bio-Rad[®]*, France). Este teste consiste em uma técnica imunoenzimática ELISA baseada no princípio “antígeno *sandwich*”. Em uma placa, previamente sensibilizada com anticorpos monoclonais anti-HBs, foram adicionados os soros controles, as amostras e o conjugado anti-HBs marcado com peroxidase. Após este procedimento, a placa foi incubada e, posteriormente, lavada

com tampão fosfato. Em seguida, a solução de cromógeno/substrato (tetrametilbenzidina/peróxido de uréia) foi adicionada. Após este procedimento, a placa foi novamente incubada e a reação interrompida pela adição do ácido sulfúrico 1N.

Conforme instruções do fabricante, a leitura espectrofotométrica foi realizada em 450/620nm, sendo consideradas positivas as amostras com absorbâncias maiores ou iguais ao valor do *cut-off*, obtido através do cálculo da soma ($C_{nx} + 0,050$), onde C_{nx} é a média das absorbâncias dos controles negativos.

5.4.1.3 Detecção do anti-HBc total

Para detecção do marcador anti-HBc empregou-se reagente comercial (MONOLISA anti-HBc PLUS *Bio-Rad*[®], France). Este teste consiste em uma técnica imunoenzimática ELISA baseada no princípio tipo “indireto” que permite a detecção simultânea de anticorpos totais (IgG e IgM) específicos para o HBcAg.

Em uma microplaca sensibilizada com o antígeno *core* do vírus da hepatite B recombinante (fase sólida), as amostras e os controles foram incubados. Após lavagem com tampão fosfato, foi adicionada a solução de conjugado (anticorpos de cabra anti-IgM e/ou anti-IgG humanos, marcados com peroxidase). Em seguida foram realizadas incubação e lavagem. Após este procedimento, adicionou-se a solução de cromógeno/substrato, e a placa incubada durante 30 minutos em temperatura ambiente e protegida da luz. Posteriormente, a reação foi interrompida com ácido sulfúrico 1N.

Conforme instruções do fabricante, a leitura espectrofotométrica foi realizada em 450/620 nm, por meio de um leitor de placa, onde foram consideradas positivas as amostras cuja razão fosse igual ou superior ao valor do *cut-off* obtido por meio do cálculo da média da densidade óptica (DO) dos controles positivos (C_p) dividido por 5 ($DO_{Cp}/5$). A intensidade da coloração é proporcional à quantidade de anticorpos anti-HBc ligados na fase sólida.

5.4.1.4 Detecção do anti-HBs

A detecção do marcador anti-HBs foi realizada empregando-se reagente comercial (MONOLISA HBsAg ULTRA *Bio-Rad*[®], France). Este teste consiste em uma técnica imunoenzimática ELISA baseada no princípio direto tipo “*sandwich*” em microplacas sensibilizadas com HBsAg (*ad* e *ay*). As amostras e controles foram adicionados às suas respectivas câmaras e a microplaca foi incubada e em seguida lavada. Após a adição do conjugado (HBsAg marcado com peroxidase), a placa foi incubada novamente e após lavagem, a mistura de substrato/cromógeno foi adicionada, sendo a placa novamente incubada. A reação foi bloqueada pela ação do ácido sulfúrico, e a leitura realizada em filtro duplo (450nm e 620nm). Foram consideradas positivas as amostras com razão igual ou superior ao valor do *cut-off* obtido por meio do cálculo da média da DO dos calibradores ($DO_{C1}=10$ mUI/mL). A intensidade da coloração é proporcional à concentração de anti-HBs na amostra. Os valores de absorvância medidos por espectrofotometria para cada amostra foram comparados a um valor limite (V_s), sendo que V_s corresponde à média das DO dos calibradores (DO_{C1}).

5.4.1.5 Detecção do HBeAg e anti-HBe

A detecção de HBeAg e anti-HBe foi realizada no Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso do Sul–LACEN, por meio do método Enzimaimunoensaio por micropartículas (MEIA) no equipamento da ABBOTT-AXSYM SYSTEM.

Para a detecção do HBeAg, as amostras e todos os reagentes necessários para o teste são pipetados pela *probe* de amostragem dentro de vários poços de uma célula de reação (RV). Se o HBeAg estiver presente na amostra, este liga-se as micropartículas recobertas de HBeAg formando um complexo HBeAg-anti-HBe na mistura da reação. Uma porção da mistura de reação é transferida a matriz de fibra de vidro (matrix cell). O conjugado anti-HBe marcado com fosfatase alcalina é dispensado sobre a matriz de fibra de vidro, ligando-se ao complexo antígeno-anticorpo. A matriz é lavada para a remoção dos materiais não ligados as micropartículas. Em seguida, é adicionado o substrato 4-metilumbiliferil fosfato. O

conjugado de fosfatase alcalina catalisa a remoção do grupo fosfato do substrato, resultando no produto fluorescente, 4-metilumbiliferona. Esse produto fluorescente é medido pelo sistema ótico MEIA. A presença ou a ausência de HBeAg na amostra é determinada pela comparação da taxa de formação do produto fluorescente com a taxa de corte (*cut off*), calculada a partir de uma calibração índice. Se a taxa de formação do produto fluorescente da amostra for superior ou igual a taxa de corte, a amostra é considerada positiva para o marcador HBeAg.

Para a detecção do anti-HBe, as amostras e o reagente neutralizante (rHBeAg) necessários para o teste são pipetados pela *probe* de amostragem dentro de vários poços de uma célula de reação (RV). Se o anti-HBe estiver presente na amostra, este liga-se ao reagente neutralizante, formando um complexo antígeno-anticorpo na mistura da reação. O diluente da amostra e as micropartículas revestidas com o anti-HBe são misturados em outro poço da mesma célula de reação e adicionadas ao complexo antígeno-anticorpo anteriormente formado. Todos os rHBeAg não ligados do reagente neutralizante irão se ligar as micropartículas. Uma porção da mistura de reação é transferida a matiz de fibra de vidro (matrix cell). O conjugado anti-HBe marcado com fosfatase alcalina é dispensado sobre a matriz de fibra de vidro, ligando-se ao rHBeAg nas micropartículas. A matriz é lavada para a remoção dos materiais não ligados as micropartículas. Em seguida, é adicionado o substrato 4-metilumbiliferil fosfato. O conjugado de fosfatase alcalina catalisa a remoção do grupo fosfato do substrato, resultando no produto fluorescente, 4-metilumbiliferona. Esse produto fluorescente é medido pelo sistema ótico MEIA. A presença ou a ausência de anti-HBe na amostra é determinada pela comparação da taxa de formação do produto fluorescente com a taxa de corte (*cut off*), calculada a partir de uma calibração índice. Se a taxa de formação do produto fluorescente da amostra for menor ou igual a taxa de corte, a amostra é considerada positiva para o marcador anti-HBe.

5.4.1.6 Detecção do anti-HBc IgM

A detecção do marcador anti-HBc IgM foi realizada empregando-se reagentes comerciais (MONOLISA anti-HBc IgM PLUS Bio-Rad, France). Este teste

consiste em uma técnica imunoenzimática ELISA baseado no princípio tipo “sanduiche” que permite a captura de anticorpos séricos IgM na fase sólida.

Em uma microplaca sensibilizada com anti-HBc IgM obtido em cabra foram distribuídos o diluente, as amostras e os controles. Após este procedimento, a placa foi incubada durante uma hora e meia a 37°C e se estiverem presentes anticorpos anti-HBc IgM estes se ligam aos anti-HBc IgM fixado na fase sólida. Posteriormente à lavagem, foi adicionada a solução de conjugado (HBcAg marcados com peroxidase) e a placa foi incubada por duas horas a 37° e, em seguida lavada com tampão Tris. Após eliminação do conjugado, foi adicionada a solução de revelação de atividade enzimática (tampão do substrato da peroxidase + cromógeno – tetrametilbenzidina TMB), após este procedimento, a placa foi incubada durante 30 minutos em temperatura ambiente e protegida da luz. Posteriormente, a reação foi interrompida pela adição da solução de paragem (ácido sulfúrico 1N).

Após o termino da reação e conforme instruções do fabricante, a leitura espectrofotométrica foi realizada em 450/620 nm, por meio de um leitor de placa, onde foram consideradas positivas as amostras cuja razão (DO amostra/valor do *cut off*) seja igual ou superior a 1. O valor do *cut-off* pode ser obtido por meio do cálculo da média da densidade óptica dos controles negativos (DOCn) somados à média da DO dos controles positivos (DOCp) dividido por 7 (DOCn + (DOCp/7)). A intensidade da coloração é proporcional à quantidade de anticorpos anti-HBc IgM ligados na fase sólida.

5.5 Detecção do HBV-DNA

Todas as amostras positivas para HBsAg foram submetidas à detecção do DNA viral utilizando a metodologia de *semi-nested* PCR no aparelho *BIOER XP*, China, e genotipadas por meio da Análise do polimorfismo de comprimento dos fragmentos e restrição (RFLP) realizado no Laboratório de Biologia Molecular e Cultura de células da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

5.5.1 Extração do DNA viral

A extração do DNA viral foi feita a partir do sistema de Kits da Invitrogen (PureLink™ viral RNA / DNA) seguindo as instruções do fabricante. Inicialmente, 200µL de soro foram adicionados em 25µL de proteinase K, seguido da adição de 200µL de Tampão de Lise (RNACarrier + tampão de lisado). O soro juntamente com a solução de lise foram incubados à 56°C por 15 minutos. Após este procedimento, o DNA foi precipitado adicionando 250µL de etanol 100%. Em seguida, o material foi transferido para um tubo coletor contendo uma coluna “viral spin” e centrifugado a 6.800 rpm por 1 minuto. Após centrifugação, eliminou-se o sobrenadante e o material foi transferido para outro tubo de lavagem limpo, seguido de centrifugação e lavagem com etanol a 70%. Após nova centrifugação, a coluna “viral spin” foi transferida para um tubo de recuperação e o DNA foi eluído com 50µL de água estéril RNase livre. Os tubos foram identificados e o DNA estocado a -20°C para posterior amplificação.

5.5.2 Amplificação do DNA viral- *Semi-nested* PCR

Após a extração do DNA, realizou-se a amplificação da região pré-S/S do HBV-DNA por meio da metodologia *semi-nested* PCR, segundo Motta-Castro et al. (2005). Para a primeira amplificação (PCR-1), foi adicionado ao HBV-DNA extraído uma mistura contendo os *primers* PS1 e S2/S22 (Invitrogen®) (figura 20), responsáveis pela amplificação dos fragmentos de DNA do nucleotídeo 2826 ao 841 do genoma; água miliQ, dNTPs (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) tampão, cloreto de magnésio (MgCl₂) e Taq DNA polimerase. Dois microlitros do HBV DNA extraído de cada amostra, juntamente com os controles positivos (amostra positiva para HBV-DNA) e negativos (água miliQ) foram misturados aos componentes descritos acima, e em seguida esta mistura foi levada ao termociclador, com o seguinte programa: 94°C por 3 minutos (desnaturação inicial), 30 ciclos de 95°C por 30 segundos cada; 52°C por 40 segundos e 72°C por 2 minutos (desnaturação, anelamento e extensão, respectivamente), seguindo um período de alongamento final de sete minutos a 72°C. O produto final desta PCR-1 era composto de 1236 pares de base (pb).

Primers	Sentido	Sequência
PS1	sense	CCATATTCTTGGGAACAAGA
S2	anti-sense	GGGTTTAAATGTATACCCAAAGA
S22	anti-sense	GTATTTAAATGGATACCCACAGA
SR	anti-sense	CGAACCACTGAACAAATGGC

Figura 20 - Seqüência dos *primers* utilizados na PCR-1 e PCR-2

O produto final da PCR-1 foi amplificado novamente utilizando os *primers* PS1 e SR. A reação foi realizada nas mesmas condições da primeira amplificação sendo adicionado ao produto final da PCR-1 (2 µL) a mistura da reação. O material foi levado ao termociclador com o programa: 94°C por 3 minutos (desnaturação inicial), 30 ciclos de 94°C por 20 segundos cada; 55°C por 20 segundos e 72°C por 1 minuto (desnaturação, anelamento e extensão, respectivamente) e 72°C por 7 minutos (alongamento final). O produto final da PCR-2 era composto de 1099 pares de bases (pb).

Os produtos amplificados pela segunda PCR foram analisados por corrida eletroforética em tampão TBE (89mM de Tris, 89mM de ácido bórico e 2,5 mM de EDTA, pH 7,5-7,8) utilizando gel de agarose preparado a 1% em tampão TBE (10 vezes diluído), para a confirmação de amplificação. Foram misturados 5 µL de material amplificado a 5 µL de azul de bromofenol (corante marcador da corrida). Esta mistura foi aplicada ao gel, e foi submetido à eletroforese a 100V e 400 mA durante duas horas. Após a corrida, o gel foi colocado em uma solução de brometo de etídio preparado com solução tampão e as bandas formadas foram visualizadas por meio de um transluminador de luz ultravioleta e comparadas aos controles positivos.

5.5.3 Genotipagem por RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism- Análise do polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição)

O produto da segunda amplificação foi genotipado pelo método de RFLP utilizando 3 enzimas de restrição ou endonucleases, conforme descrito por De Castro *et al.* (2000). Resumidamente, os produtos de PCR sintetizados com os oligonucleotídeos PS1-SR foram digeridos independentemente com *Bam*HI, *Stu*I e

EcoRI, preparadas segundo as recomendações do fabricante, tendo como componentes água milQ, tampão específico para cada enzima e enzima.

Dez microlitros do produto obtido após a PCR-2 com igual volume de cada enzima foram incubados em banho maria a 37⁰C por quatro horas. Todos os produtos de digestão foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2%. Utilizou-se também um marcador de peso molecular (100bp DNA Ladder - Invitrogen®). O gel foi corado por brometo de etídio e as bandas coradas foram visualizadas com luz ultravioleta e comparadas às bandas do marcador de peso molecular.

Este método permite através da interpretação dos padrões eletroforéticos, a distinção entre os genótipos que circulam no Brasil: A (A1-A5), D (D1-D14) e F (F1-F3).

5.4.2 Análise estatística

Os dados das entrevistas e os resultados dos testes sorológicos e moleculares foram digitados em microcomputador e analisados no programa *Epi Info 2000, versão 3.4.1*, desenvolvido pelo *Centers for Disease Control and Prevention*, Atlanta. Foi realizada análise estatística descritiva com cálculo de médias, medianas, freqüências e intervalos de confiança. Para comparação de prevalências foram utilizados o teste de Qui-quadrado e o nível de significância estabelecida como $p < 0,05$. Foram calculados *Odds ratio* e seus respectivos intervalos de confiança para avaliar associação entre fatores de risco analisados e a infecção pelo HBV na população estudada. Após o cálculo da estimativa de risco dos fatores associados à exposição ao HBV (positividade ao marcador anti-HBc) pela análise univariada, realizou-se a análise multivariada, por regressão logística múltipla, por meio do pacote estatístico SPSS, versão 17.0 for Windows para identificar possíveis variáveis confundidoras.

5.6 Aspectos éticos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul com o protocolo n° 926 (ANEXO A).

6 RESULTADOS

6.1 Características sócio-demográficas

As características sócio-demográficas dos 321 pantaneiros estudados encontram-se apresentadas na Tabela 1. A idade variou de 1 a 89 anos, com diminuição progressiva conforme o aumento da idade.

Com relação ao sexo, observou-se uma equivalência entre as populações masculina e feminina, 167 indivíduos (52%) eram do sexo masculino e 154 (48%) do sexo feminino.

Quanto ao estado civil, 104 (42,8%) indivíduos foram incluídos na categoria de sem companheiros (solteiros e separados), e 139 (57,2%) na categoria de indivíduos com companheiro (casados, viúvos e união consensual).

O nível de escolaridade foi predominantemente baixo. Indivíduos sem escolaridade (18,6%) e com apenas o ensino fundamental (74,7%), constituíram o maior grupo com 93,4% dos indivíduos (280/300).

Em relação à naturalidade, observou-se que grande parte da população (92%) era constituída por indivíduos naturais de Mato Grosso do Sul.

Do total dos pantaneiros estudados, 48,4% relataram renda familiar menor que um salário mínimo e 51,6% de um a três salários mínimos. Quanto à atividade ocupacional, 26,4% informaram que exerciam atividades relacionadas à pesca.

Quando as comunidades foram analisadas separadamente observou-se que nas comunidades São Lourenço e Paraguai Mirim, houve um maior grau de agregação familiar, chegando à 18 pessoas residindo na mesma casa. A comunidade que apresentou menor grau de agregação foi a comunidade Passo do Lontra (dados não mostrados).

Tabela 1 – Distribuição da população pantaneira segundo características sócio demográficas, Mato Grosso do Sul, 2008 (n=321)

Variáveis	Nº	%
Idade (anos) ¹		
≤ 10	87	27,4
11 – 20	62	19,5
21 – 30	44	13,8
31 – 40	45	14,2
41 – 50	41	12,9
51 – 60	22	6,9
≥ 61	17	5,3
Sexo		
Feminino	154	48,0
Masculino	167	52,0
Estado Civil ²		
Com Companheiro	139	43,3
Sem companheiro	104	32,4
Escolaridade ³		
Médio e Superior	20	6,6
Fundamental	224	74,7
Analfabeto	56	18,6
Naturalidade ⁴		
MS	288	92,0
Outros estados	25	8,0
Renda Familiar (salários mínimos) ⁵		
< 1 SM	152	48,4
1 a 3 SM	162	51,6
Atividade Ocupacional ⁶		
Pesca	79	26,4
Outros (dona de casa, estudantes e serviços gerais)	220	73,6
Número de pessoas por habitação ⁷		
< 10	202	63,7
≥ 10	115	36,3

⁽¹⁾Sem informação para 3 participantes, ⁽²⁾Crianças ≤ de 14 anos (n=78), ⁽³⁾Sem informação para 21 participantes, ⁽⁴⁾Sem informação para 8 participantes, ⁽⁵⁾Sem informação para 7 participantes, ⁽⁶⁾Sem informação para 22 participantes, ⁽⁷⁾Sem informação para 4 participantes.

6.2 Marcadores sorológicos da infecção pelo vírus da hepatite B

A tabela 2 mostra a prevalência dos marcadores sorológicos para o vírus da hepatite B na população estudada.

Dos 321 ribeirinhos, 117 apresentaram positividade para o anti-HBc, considerado marcador de exposição prévia, o que resultou em uma prevalência global de 36,5%.

A presença do marcador HBsAg associado ao anti-HBc foi detectada em 1,6% (5/321) dos indivíduos estudados. Nenhuma amostra HBsAg positiva apresentou reatividade para o anti-HBc IgM. Em 32,1% (103/321) dos indivíduos, o marcador anti-HBc estava associado ao anti-HBs, e em nove (2,8%) este marcador foi detectado isoladamente. Verificou-se positividade isolada ao marcador anti-HBs em 32,4% (104/321) dos indivíduos, sugerindo imunidade ao HBV. Por outro lado, em 31,1% (100/321), nenhum marcador para hepatite B foi detectado, sendo estes indivíduos, portanto, considerados susceptíveis à infecção pelo HBV.

Tabela 2 – Prevalência dos marcadores sorológicos da infecção pelo vírus da hepatite B na população pantaneira, Mato Grosso do Sul, 2008 (n= 321).

Categoria	Marcadores Sorológicos	N°	%	(IC 95%)¹
Infectados	HBsAg/Anti-HBc	5	1,6	1,1-1,9
	Anti-HBc isolado	9	2,8	2,3-3,3
	Anti-HBc/Anti-HBs	103	32,1	27,0 – 37,2
	<u>Total</u> (anti-HBc positivo)	117	36,5	31,2 – 41,7
Vacinados	Anti- HBs isolado	104	32,4	27,3 – 37,5
Suscetíveis	Nenhum marcador	100	31,1	26,1 – 36,2

⁽¹⁾ Intervalo de Confiança

Quando as comunidades pantaneiras foram analisadas separadamente observou-se uma ampla variação nas taxas de prevalência para o HBV que variaram de 15,1% na comunidade Passo do Lontra a 61% na comunidade Paraguai Mirim (tabela 3).

Tabela 3 – Distribuição da população pantaneira nas comunidades segundo prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B, Mato Grosso do Sul, 2008 (n=321).

Comunidades (n)	N°	Prevalência (%)	IC¹ (95%)
P. Mirim (100)	61	61	51,0-70,0
S. Lourenço (74)	26	35,2	24,0-46,0
P. da Manga (74)	19	25,7	15,7-35,6
P. do Lontra (73)	11	15,1	6,9-23,3

⁽¹⁾ Intervalo de confiança

Na figura 21 são apresentadas as prevalências dos marcadores anti-HBc e anti-HBs de acordo com a faixa etária.

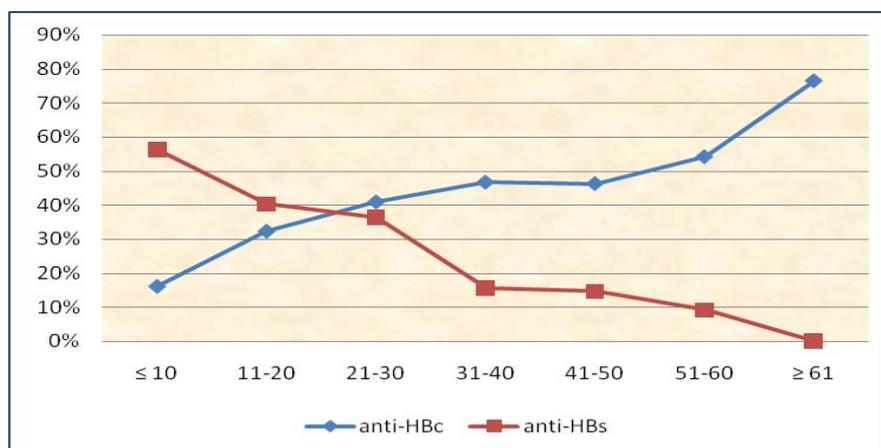


Figura 21 – Prevalência para os marcadores anti-HBc e anti-HBs de acordo com a faixa etária da população pantaneira estudada, Mato Grosso do Sul, 2008 (n= 321).

Observou-se um aumento progressivo da prevalência do anti-HBc com o aumento da idade. Indivíduos com idade ≤ 10 anos apresentaram 16,1% para o anti-HBc e essa positividade alcançou 76,5% no grupo com idade ≥ 61 anos (IC 95%, $p < 0,001$).

Ao analisar a distribuição da positividade isolada para o anti-HBs, de acordo com a faixa etária, observou-se que a maioria dos soropositivos era constituída por crianças menores de 10 de anos (56,3%). Em indivíduos na faixa de 11-20 anos, um índice de 40,3% foi observado, seguindo-se um declínio para 36,4% de 21-30 anos, chegando a 0% nos maiores de 61 anos (figura 21).

6.3 Variáveis associadas à infecção para o vírus da hepatite B

Na análise univariada, o aumento da idade, estado civil, analfabetismo, pertencer às comunidades Serra Amolar/São Lourenço e Paraguai Mirim, atividade ocupacional relacionada à pesca, número de indivíduos por habitação, cirurgia e o não uso de preservativo mostraram-se associados à infecção pelo HBV (tabela 5).

Outras variáveis como hemodiálise, hemotransfusão, história de prisão, tratamento odontológico, compartilhamento de objetos pessoais, uso de drogas ilícitas, história de DST e tabagismo foram pouco relatados pelos indivíduos com marcadores de infecção pelo HBV e não alcançaram significância estatística.

Tabela 5 - Análise univariada dos fatores de risco associados à infecção pelo vírus da hepatite B na população pantaneira, Mato Grosso do Sul.

Variáveis	HBV		Odds ratio (IC ⁽¹⁾ 95%)	p
	Positivo/total	%		
Sexo				
Feminino	62/154	40,3	1,0	
Masculino	55/167	32,9	0,73 (0,46 – 1,15)	0,21
Idade(anos) ⁽²⁾				
≤ 10	14/87	16,1	1,0	
11 – 20	20/62	32,3	2,48 (1,06 - 5,84)	
21 – 30	18/44	40,9	3,61 (1,46 - 9,1)	
31 – 40	21/45	46,7	4,56 (1,87 – 11,26)	0,00 ¹³
41- 50	19/41	46,3	4,5 (1,8 – 11,39)	
51 – 60	12/22	54,5	6,26 (2,03 – 19,65)	
≥ 61	13/17	76,5	16,95 (4,26 – 73,5)	
Estado Civil ⁽³⁾				
Com companheiro fixo	70/139	50,4	1,0	
Sem companheiro fixo	32/104	30,8	0,4 (0,26 – 0,75)	< 0,01
Raça ⁽⁴⁾				
Negro/Mulato	49/132	37,1	1,0	
Branco	62/174	35,6	0,94 (0,57 – 1,54)	0,88
Ameríndio	5/14	35,7	0,94 (0,26 – 3,31)	0,85
Grau de instrução ⁽⁵⁾				
Médio	4/20	20,0	1,0	
Fundamental	72/224	32,1	1,89 (0,57 – 6,98)	
Analfabeto	41/56	73,2	10,9 (2,79 – 46,7)	0,02 ¹³
Naturalidade ⁽⁶⁾				
MS	101/288	35,1	1,0	
Outros estados	13/25	52,0	2,0 (0,89 – 4,6)	0,09
Comunidade				
Passo do Lontra	11/73	15,1	1,0	
Porto da Manga	19/74	25,7	2,01 (0,82 – 5,0)	0,14
Serra o Amolar/São Lourenço	26/74	35,1	3,05 (1,3 – 7,36)	< 0,01
Paraguai Mirim	61/100	61,0	8,9 (4,0 – 20,3)	< 0,01
Atividade Ocupacional ⁽⁷⁾				
Outros	67/220	30,5	1,0	
Pesca	48/79	60,7	0,28 (0,16 – 0,50)	< 0,01
Número pessoas por habitação ⁽⁸⁾				
1	1/11	9,1	1,0	
2-4	29/110	26,4	3,6 (0,44 - 78,0)	
5-10	72/175	41,1	7,0 (0,89 - 149,1)	0,00 ¹³
> 10	13/21	61,9	16,2 (1,53 - 409,2)	
Hepatite na Família ⁽⁹⁾				
Não	87/253	34,4	1,0	
Sim	22/47	46,8	1,7 (0,9 – 3,2)	0,14
Cirurgia ⁽¹⁰⁾				
Não	80/241	33,2	1,0	
Sim	36/74	48,6	1,9 (1,1 – 3,2)	0,02
Tatuagem ⁽¹¹⁾				
Não	110/256	43,0	1,0	
Sim	5/24	20,8	0,3 (0,12 – 0,9)	0,06
Uso de preservativo ⁽¹²⁾				
Sempre	19/61	31,1	1,0	
Ocasionalmente	31/67	46,3	1,9 (0,87 – 4,2)	
Nunca	43/78	55,1	2,7 (1,27 – 5,84)	0,01 ¹⁴

⁽¹⁾Intervalo de confiança; ⁽²⁾Sem informação para 3 participantes; ⁽³⁾Crianças ≤ 14 anos (n=78); ⁽⁴⁾Sem informação para 1 participante; ⁽⁵⁾Sem informação para 21 participantes; ⁽⁶⁾Sem informação para 8 participantes; ⁽⁷⁾Sem informação para 22 participantes; ⁽⁸⁾Sem informação para 4 participantes; ⁽⁹⁾Sem informação para 21 participantes; ⁽¹⁰⁾Sem informação para 6 participantes; ⁽¹¹⁾Sem informação para 41 participantes; ⁽¹²⁾ Crianças ≤ 14 anos (n=78) e sem informação para 37 participantes; ⁽¹³⁾χ² para tendência.

Após a análise multivariada, ajustada para variáveis confundidoras, verificou-se que o aumento da idade, naturalidade, pertencer à comunidade Paraguai Mirim e residir em habitações com mais de 10 indivíduos permaneceram como fatores de risco associados à infecção pelo HBV (tabela 6).

Tabela 6 - Análise multivariada dos fatores de risco associados à infecção pelo HBV na população pantaneira de Mato Grosso do Sul-MS.

Fatores de risco	Odds ratio não ajustada (IC ¹ 95%)	Odds ratio ajustada (IC 95%)	p
Sexo ^a			
Feminino	1,0	1,0	
Masculino	0,7 (0,5 – 1,5)	1,4 (0,7 – 2,7)	0,37
Idade(anos) ^a			
≤ 10	1,0	1,0	
11 – 20	2,5 (1,1 – 6,0)	3,1 (0,9 – 9,9)	0,06
21 – 30	3,6 (1,5 – 9,1)	10,5 (2,5 – 43,1)	0,00
31 – 40	4,6 (2,0 – 11,2)	9,1(2,3– 36,5)	0,00
41 – 50	4,5 (1,8 – 11,4)	18,0 (4,1 – 79,0)	0,00
51 – 60	6,3 (2,0 – 19,7)	13,6 (2,7 – 67,9)	0,00
≥ 61	17,0 (4,3 – 73,5)	54,3 (8,2 – 357,9)	0,00
Estado Civil ^b			
Com companheiro	1,0	1,0	
Sem companheiro	0,4 (0,3 – 0,8)	1,1 (0,4 - 3,0)	0,80
Grau de Instrução ^a			
Médio	1,0	1,0	
Fundamental	1,9 (0,6 – 7,0)	2,7 (0,5 – 13,3)	0,22
Analfabeto	11,0 (2,8 – 46,7)	4,1 (0,7 – 22,6)	0,11
Naturalidade ^a			
MS	1,0	1,0	
Outros estados	2,0 (0,9 – 4,6)	4,0 (1,2 – 14,0)	0,03
Comunidade ^a			
Passo do Lontra	1,0	1,0	
Porto da Manga	2,0 (0,8 – 5,0)	2,0 (0,7 – 5,9)	0,18
Serra Amolar/São Lourenço	3,0 (1,3 – 7,4)	2,5 (0,8 – 7,6)	0,09
Paraguai Mirim	8,9 (4,0 – 20,3)	28,3 (8,1 – 98,5)	0,00
Ocupação ^b			
Outros	1,0	1,0	
Pesca	0,28 (0,16 – 0,50)	0,7 (0,3 - 1,5)	0,30
Número pessoas por habitação ^a			
1	1,0	1,0	
2-4	3,6 (0,44 - 8,0)	3,2 (0,3 - 33,4)	0,32
5-10	7,0 (0,89 - 149,1)	7,9 (0,7 - 85,8)	0,09
> 10	16,2 (1,53 - 409,2)	17,0 (1,1 - 256,9)	0,04
Cirurgia ^a			
Não	1,0	1,0	
Sim	1,9 (1,1 – 3,2)	1,3 (0,6 - 2,9)	0,49
Tatuagem ^a			
Não	1,0	1,0	
Sim	0,3 (0,1 – 0,9)	0,4 (0,1 - 1,7)	0,23
Uso de preservativo ^b			
Sempre	1,0	1,0	
Ocasionalmente	1,9 (0,8 – 4,2)	0,8 (0,3 – 2,3)	0,70
Nunca	2,7 (1,3 – 5,8)	0,8 (0,2 – 2,3)	0,60

⁽¹⁾IC 95%: intervalo de confiança; ^(a) ajustado por sexo, idade, grau de instrução, naturalidade, comunidade, numero de pessoas no lar e cirurgia; ^(b) ajustado por idade ≥ 14 anos e todas as outras variáveis.

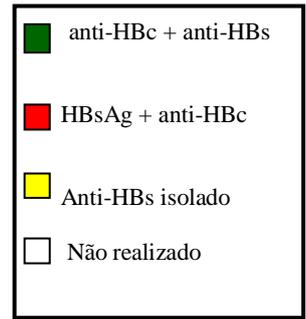
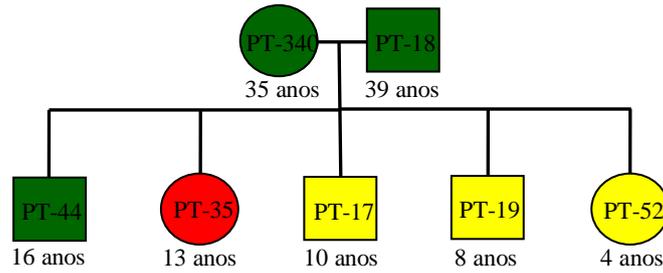
6.4 Estudo dos agrupamentos familiares em relação à positividade dos marcadores de infecção para o vírus da hepatite B

A transmissão do vírus da hepatite B é um evento que pode ocorrer em indivíduos de uma mesma família quando um dos membros apresenta positividade para o marcador HBsAg. Embora as rotas de transmissão sejam difíceis de serem estabelecidas, foram desenhados cinco agrupamentos familiares mostrando a positividade para o HBV em alguns dos membros das diferentes famílias e os diferentes perfis sorológicos, permitindo sugerir possíveis rotas de transmissão intrafamiliar do HBV nas famílias F5, F7, F30, F31 e F32. Os Heredogramas das famílias dos indivíduos reativos ao HBsAg estão evidenciados na figura 22.

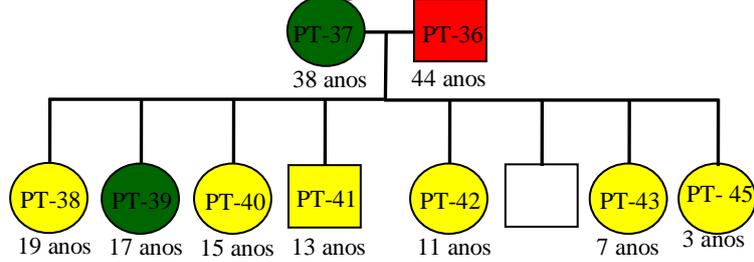
Na comunidade São Lourenço, a família F5 possui um indivíduo portador crônico (13 anos), cujos pais e um irmão (16 anos) são reagentes para os marcadores anti-HBc e anti-HBs. A família F7 possui um indivíduo portador crônico (44 anos), cuja esposa e um dos filhos são reagentes para os marcadores anti-HBc e anti-HBs.

Na comunidade Paraguai Mirim, das três mães que apresentavam reatividade para o anti-HBc e anti-HBs, todas tinham filhos com positividade para os marcadores HBsAg associado ao anti-HBc e 2 delas tinham filhos reativos ao anti-HBc associado ao anti-HBs (F30, F31 e F32).

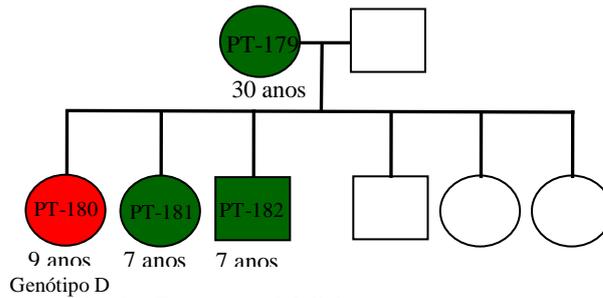
Família 05: Comunidade São Lourenço



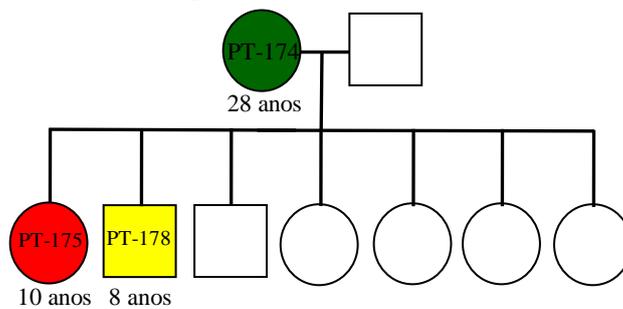
Família 07: Comunidade São Lourenço



Família 31: Comunidade Paraguai Mirim



Família 30: Comunidade Paraguai Mirim



Família 32: Comunidade Paraguai

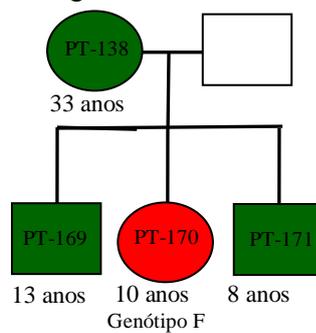


Figura 22: Heredograma das famílias dos portadores crônicos da hepatite B

6.5 Características moleculares dos pacientes HBsAg positivos

A tabela 7 apresenta as características sorológicas e moleculares das cinco amostras HBsAg positivas. Somente quatro (80%) amostras foram positivas para o marcador anti-HBe. O HBV DNA esteve presente em duas (40%) das cinco amostras HBsAg reagentes.

As amostras reagentes para marcador HBsAg foram submetidas a detecção do HBV DNA, sendo este detectado por *semi-nested* PCR em duas amostras HBsAg positivas (40%).

Tabela 7 - Características sorológicas e moleculares das amostras HBsAg positivas.

Amostra	HBeAg	Anti-HBe	HBV DNA	Genótipo
PT- 35	-	+	-	-
PT - 36	-	-	-	-
PT - 170	-	+	+	F
PT - 175	-	+	-	-
PT - 180	-	+	+	D

As amostras HBV DNA positivas foram genotipadas pela técnica RFLP sendo estas pertencentes ao genótipos D e F.

7 DISCUSSÃO

De uma maneira geral, no Brasil, há escassez de informações precisas sobre o estado de saúde da população brasileira, especialmente da população rural. Estudos epidemiológicos abordando a distribuição da hepatite B em grupos populacionais, com características semelhantes às do presente estudo, são pouco freqüentes (SOUTO et al., 1997). Neste contexto, a presente pesquisa visou estimar a prevalência da infecção pelo vírus da hepatite B em comunidades ribeirinhas do Pantanal sul-mato-grossense.

Constitui-se, portanto, o primeiro estudo sobre a infecção pelo vírus da hepatite B na população pantaneira de Mato Grosso do Sul, esclarecendo aspectos não apenas quanto à caracterização da infecção pelo HBV, mas também quanto aos principais fatores de risco associados a esta infecção e quanto às condições sócio-demográficas e econômicas da população pantaneira, uma vez que, a presença de hepatite B numa comunidade tem sido, com freqüência, associada a fatores relacionados à pobreza (PASSOS et al., 1993).

No presente estudo, não foi observada diferença na distribuição da população em relação ao sexo feminino (48%) e masculino (52%). A média de idade dos pantaneiros foi de 26,7 anos sendo que, aproximadamente, 46% da população estudada eram compostas, predominantemente, por indivíduos com idade inferior a 20 anos. Dados semelhantes foram encontrados em estudos conduzidos no vilarejo Cavunge, Bahia (ALMEIDA et al., 2006) e em comunidades afro-descendentes de Mato Grosso do Sul e Goiás (MATOS et al., 2009; MOTTA-CASTRO et al., 2003; 2005). O predomínio de indivíduos com idade inferior a 20 anos pode ser justificado pela elevada taxa de natalidade de 5 a 7 filhos por mulher, pela falta de planejamento familiar devido ao difícil acesso aos métodos contraceptivos e migração para as regiões urbanas em busca de mais oportunidades de trabalho.

O nível educacional dos pantaneiros estudados revelou-se baixo, pois a maioria (74,7%) cursou apenas o ensino fundamental e 18,7% eram analfabetos. Estes dados estão de acordo com diversos estudos conduzidos em populações rurais (MATOS et al., 2009; MERAT et al., 2009, MOTTA-CASTRO et al., 2005). Somente a partir de 2004, foi oferecida educação de ensino básico com construção de escolas nas comunidades estudadas.

Foi detectado ainda, um baixo nível sócio econômico, devido ao predomínio de renda familiar inferior a três salários mínimos e devido às condições higiênic-sanitárias e de moradia precárias. Essas características também foram observadas em outros estudos realizados em populações rurais do Brasil e de outros países (CHOWDHURY et al., 1999; MATOS et al., 2009; MOTTA-CASTRO et al., 2005; PASSOS et al., 1992).

A elevada prevalência global da infecção pelo HBV de 36,5% encontrada na população pantaneira estudada assemelha-se as prevalências encontradas em populações rurais como as comunidades afro-descendentes Furnas dos Dionísios (42,4%) e Kalungas (35,4%) de Mato Grosso do Sul e Goiás, respectivamente (MATOS et al., 2009; MOTTA-CASTRO et al., 2005) e em Mato Grosso (31%) (SOUTO et al., 2001). Estes e outros estudos (KEW et al., 1996; KIIRE et al., 1996) demonstraram que o risco de infecção pelo HBV foi maior em indivíduos residentes em zona rural e com condições sociais menos favorecidas. A prevalência global encontrada na população pantaneira foi menor que a observada numa região considerada de alta endemicidade como a região Amazônica (49,9%) (BRAGA et al., 2005). Esta prevalência foi maior que a encontrada em primodoadores (9,4%) de Campo Grande-MS (AGUIAR et al. 2001).

Ainda, a prevalência global da infecção pelo HBV, segundo a faixa etária, demonstrou que há tendência de crescimento da taxa de infecção proporcionalmente ao aumento da idade. Este resultado foi confirmado pela análise multivariada que demonstrou associação significativa ($p < 0,01$) para essa variável com tendência ao aumento da prevalência da infecção pelo HBV com o aumento da idade dos indivíduos estudados. Esta situação pode sugerir a participação da atividade sexual como importante via de transmissão do HBV. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos realizados no Brasil (BRAGA et al., 2005; MATOS et al., 2009; MOTTA-CASTRO et al., 2005; PASSOS et al., 1992; SILVEIRA et al., 1999; SOUTO et al., 2001).

A positividade ao anti-HBc de acordo com a faixa etária revelou que 16,1% das crianças até 10 anos de idade já foram expostas ao HBV, esse índice se mostrou alto em relação aos estudos de Motta-Castro et al. (2005) no qual apenas 8,1% das crianças menores que 10 anos já tinham tido contato com o HBV, no estudo de Matos et al. (2009) onde 7,4% das crianças encontravam-se na mesma

situação e no estudo relatado por Clemens et al. (2006) em quatro centros do Brasil, em Manaus onde 5,2% das crianças ≤ 10 anos já tinham sido expostas ao HBV. Estes dados refletem a aquisição da infecção pelo HBV no início da vida, situação que é característica de regiões endêmicas, onde a disseminação ocorre preferencialmente na infância, por meio de contatos com portadores do vírus B no ambiente familiar e social (EROL et al., 2003; RONCATO; BALLARDIN; LUNGE, 2008; THAKUR et al., 2003). Estudos demonstram que em áreas rurais a disseminação do HBV entre crianças é favorecida pela higiene pessoal precária, com grandes chances de transmissão por meio de lesões de pele e cabelo (micoses, escabioses, pediculoses e parasitoses como larva *migrans*), fluidos, secreções e picadas de insetos (BRASIL et al., 2003; KIIRE, 1996; MARTINSON et al., 1998). Na ocasião da coleta, quando foram realizados os exames clínicos, todas essas características foram observadas na maioria dos pantaneiros, inclusive na população infantil.

A soroprevalência para o HBsAg verificada nos pantaneiros foi de 1,6% (5/321). Esse índice foi próximo aos encontrados por Souto et al. (1997) na região alagada do Pantanal situada ao sul de Mato Grosso (1,2%) e em populações afro-descendentes do Brasil central (1,8% em Goiás e 2,2% em Mato Grosso do Sul). As quatro amostras HBsAg positivas pertenciam a crianças com idade que variaram de 9 a 13 anos. Segundo Karim, Thejpal, Coovadia (1991), o risco de se tornar portador crônico do HBV é maior quando a infecção ocorre na infância. Estes dados refletem também a aquisição da infecção pelo HBV nos primeiros anos de vida, sugerindo existência de prováveis mecanismos de transmissão horizontal, como observado em outras áreas endêmicas para essa infecção (DEGERTEKIN; GÜNES, 2008; LAVANCHY, 2004).

Aproximadamente 32,4% dos pantaneiros estudados apresentaram positividade isolada para o marcador anti-HBs, este índice foi semelhante ao encontrado na população afro-descendente de Goiás (MATOS et al., 2009), superior as taxas encontradas na comunidade Cavunge da Bahia (6,8%) (ALMEIDA et al., 2006) e nos afro-descendentes do Mato Grosso do Sul (9,1%) (MOTTA-CASTRO et al., 2005). Ao estratificar este índice por faixa etária, observou-se que a maioria dos vacinados era crianças com idade menor ou igual a 10 anos (56,3%), ou jovens entre 11 a 20 anos de idade (40,3%). Estes percentuais são baixos, uma vez que,

considera-se como boa cobertura vacinal, quando 95% da população alvo encontram-se imunizados (BRASIL, 2008). Nas demais faixas etárias, foram encontradas frequências muito baixas de vacinação (15,6% a 0,0%). Portanto, a distribuição da infecção pelo HBV de acordo com a idade mostra valores inversamente proporcionais aos de vacinação prévia contra esta infecção, evidenciando a necessidade de vacinação contra hepatite B em todos os indivíduos, independente de idade.

Grande parte dos indivíduos (31,1%) não apresentou positividade para qualquer marcador da hepatite B, evidenciando número elevado de pessoas ainda suscetíveis a infecção pelo HBV e a necessidade urgente de implantação de esquemas alternativos de vacinação neste grupo populacional, considerando as particularidades de populações isoladas geograficamente e de difícil acesso que apresentam dificuldades com meios de transporte e comunicação como as do presente estudo.

Observou-se uma ampla variação da infecção pelo HBV, quando as comunidades pantaneiras foram analisadas separadamente. A menor prevalência (15,1%) foi encontrada na comunidade Passo do Lontra, enquanto a mais elevada (61%), na comunidade Paraguai Mirim. Indivíduos que residem na comunidade Paraguai Mirim apresentaram 28,3 (IC 95%: 8,1 – 98,5) vezes mais chance de positividade para o HBV quando comparados aos das outras comunidades, sugerindo que alguns fatores observados na comunidade Paraguai Mirim como alto grau de agregação familiar, maior números de filhos, condições higiênico-sanitárias e de moradia extremamente precárias e difícil acesso às informações de educação em saúde, possam ter contribuído para a maior prevalência da infecção pelo HBV nesta comunidade. Características sócio-demográficas semelhantes foram observadas em diversos estudos de transmissão intra-domiciliar da infecção pelo HBV influenciado por processos sociais (KARIM; THEJPAL; COOVADIA, 1991; KIIRE, 1996; MARTINSON et al., 1998; MERAT et al., 2009).

As associações observadas na análise univariada entre a positividade para a infecção pelo HBV e a ausência de companheiros fixos e o não uso de preservativos estão de acordo com os dados na literatura, que apontam a atividade sexual como uma das principais causas de transmissão do HBV (PASSOS; FIGUEIREDO, 2004; ROSENBLUM et al., 1992). Embora na análise multivariada, estas variáveis não

tenham permanecido como fatores associados à infecção pelo HBV, o resultado da análise univariada sugere a importância dos comportamentos sexuais de risco como múltiplos parceiros e relação sexual sem proteção. No Brasil, Rodrigues (2006) relatou associação significativa do uso irregular de preservativos com a infecção pelo HBV em usuários de drogas de Campo Grande, MS.

Foi verificada uma elevada prevalência de infecção pelo HBV entre os indivíduos analfabetos. Apesar dessa variável não ter permanecido estatisticamente associada à infecção na análise multivariada, este achado não surpreende, uma vez que representa um fato comumente relatado por diversos autores. Geralmente, essa variável tem sido relacionada a baixas condições sócioeconômicas, reduzidos padrões de higiene e o acesso mais restrito aos serviços de saúde (MATOS et al., 2009; PASSOS et al., 1992). Além disso, o grau de instrução tem importante papel no conhecimento dos modos de transmissão e na adoção de medidas preventivas (MERAT et al., 2009).

Merece ser ainda destacada a importância de procedimentos invasivos como um dos mecanismos de transmissão desse agente viral (CDC, 2001). Entretanto, a associação observada na análise univariada entre a positividade para anti-HBc e antecedente de cirurgia não permaneceu como um fator associado à infecção pelo HBV após análise multivariada.

A elevada prevalência da hepatite B entre imigrantes, também foi observada na comunidade Cássia dos Coqueiros-SP (PASSOS et al. 1993), em Vilarejo Ranchão-MT (SOUTO et al., 2001) e em adolescentes de baixa renda de Goiânia-GO (OLIVEIRA et al., 2006). Verificou-se uma frequência maior de positividade para o HBV em pantaneiros naturais de outros estados, sugerindo que o processo migratório possa ser o responsável pela introdução do HBV nas comunidades estudadas.

Diferentes modos de transmissão horizontal, incluindo contatos entre familiares infectados, têm sido documentados em regiões de alta endemicidade para a hepatite B (BOTHIA et al., 1984; EROL et al., 2003; THAKUR et al., 2003). A transmissão horizontal pode ser favorecida por fatores relacionados ao ambiente familiar como condições de moradia e higiênico-pessoal precárias e grande agregação familiar (DEGERTEKIN; GÜNES, 2008; KARIM et al., 1991; MARTINSON et al., 1998; SZMUNESS; HARLEY; PRINCE, 1975). Neste estudo,

observou-se uma freqüência maior deste marcador em indivíduos que residiam em casas com número de habitantes maior ou igual a 10. Este resultado permaneceu associado à infecção após análise multivariada, evidenciando que a transmissão intrafamiliar é uma via importante para a disseminação e propagação do HBV no ambiente familiar (BRASIL et al., 2003; DEGERTEKIN; GÜNES, 2008; MARTINSON et al., 1998).

A transmissão do HBV é um evento relativamente comum entre indivíduos que residem com portadores crônicos (KIIRE, 1996). Quando os indivíduos soropositivos para o HBsAg foram agrupados em famílias, observou-se a importância do contato interpessoal como um dos prováveis mecanismos de transmissão.

Dos cinco indivíduos HBsAg positivos, quatro eram filhos de mães soropositivas para o marcador de infecção passada. Destes, três tinham irmãos soropositivos somente para o anti-HBc associado ao anti-HBs. Estes resultados demonstram que os familiares podem ser considerados como um reservatório para a transmissão da infecção e que possivelmente os irmãos são de grande importância para a circulação destes vírus, adquirindo a transmissão, um caráter predominantemente, horizontal e familiar conforme observado em outros estudos (BRASIL et al. 2003; HEGNIST et al., 1973). Além disso, o número baixo de portadores crônicos ratifica a ocorrência da transmissão horizontal no grupo populacional estudado.

Diversos estudos têm sido publicados a respeito da transmissão vertical (mãe/filho durante a gestação ou parto) do HBV, que parece ser mais frequente em áreas hiperendêmicas (CHANG, 2007; HOU, LIU, GU et al., 2005). Como no presente estudo não evidenciamos a presença de mães portadoras do HBsAg, nem de filhos menores que 1 ano reativos para este marcador, a existência de transmissão vertical não pôde ser suposta. Somente um caso de pai portador crônico (PT36) foi identificado, sendo este pertencente à família F7 da comunidade Serra do Amolar/São Lourenço. Somente um filho deste pai foi infectado pelo HBV, tendo sido os demais imunizados passivamente. Casos de pais portadores crônicos com filhos suscetíveis foram evidenciados em estudos em que a transmissão de pais HBsAg positivos para seus filhos é relativamente limitada em contradição com a

transmissão de mães portadoras (HEGNIST et al., 1973; SZMUNESS; HARLEY; PRINCE, 1975).

Estudos moleculares reportam a circulação dos genótipos A, B, C, D e F no Brasil, sendo os genótipos A, D e F os mais prevalentes no País (ARAÚJO et al., 2004; CARRILHO et al., 2004; MELLO et al., 2007; MORAES; GOMES; NIEL, 1996; MOTTA-CASTRO et al., 2005; SITNIK et al., 2004; TELES et al., 1999; 2002). A caracterização genômica das amostras HBV DNA positivas possibilitou a identificação dos genótipos D e F na população estudada. A identificação do genótipo D na população estudada está de acordo com estudos conduzidos por Mello et al. (2007) que relataram a presença do genótipo D em doadores de sangue da região Centro-Oeste. O genótipo F, isolado de uma criança natural de Corumbá, fronteira com a Bolívia, reflete a circulação deste genótipo entre os países das Américas do Sul e Central, já que este é autóctone nessas regiões, particularmente na Argentina, Nicarágua, Brasil, Bolívia, Panamá, Venezuela e Colômbia (BLITZ et al., 1998; CAMPOS; MBAYED; PINEIRO, 2005; MELLO et al., 2007)

Portanto, a elevada prevalência da infecção pelo HBV encontrada na população pantaneira pode ser justificada pela presença de fatores de risco sociais e comportamentais que apresentam importante papel na transmissão horizontal (intrafamiliar) e sexual do vírus da hepatite B nessas comunidades. Além disso, considerando o grande número de indivíduos suscetíveis a essa infecção, fazem-se necessário programas adicionais de educação em saúde e esquemas alternativos de vacinação contra hepatite B, para que uma maior cobertura vacinal possa ser alcançada, melhorando, assim, a prevenção e controle desse agravo nas comunidades pantaneiras de Mato Grosso do Sul.

8 CONCLUSÕES

- Foi observada uma elevada prevalência global para a infecção pelo HBV (36,5%) nas comunidades pantaneiras estudadas, variando de 15,1% na comunidade Passo do Lontra a 61% na comunidade Paraguai Mirim;
- após análise multivariada, fatores de risco como aumento da idade, residir na comunidade Paraguai Mirim, ser natural de outro Estado e agregação familiar maior ou igual a 10 indivíduos permaneceram associados à infecção pelo HBV na população estudada;
- foram encontrados os genótipos D e F nas amostras HBsAg positivas;
- há forte evidência de transmissão intradomiciliar demonstrada pela positividade entre os familiares dos indivíduos portadores crônicos da hepatite B;
- os achados epidemiológicos ressaltam a necessidade urgente de implantação de medidas de controle e prevenção da hepatite B nas comunidades pantaneiras estudadas.

9 PERSPECTIVAS

- Ampliar o estudo de prevalência da infecção pelo HBV para outras comunidades ribeirinhas da região do Pantanal;
- avaliar a prevalência da infecção oculta pelo HBV nas comunidades pantaneiras estudadas;
- imunizar os indivíduos suscetíveis à infecção pelo HBV e avaliar a resposta vacinal;
- analisar o relacionamento filogenético entre os isolados do HBV dessas comunidades, considerando a agregação familiar, bem como com outros isolados do Brasil.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Projeto GEF: Pantanal/ Alto Paraguai, 2007. Disponível em: <http://www.ana.gov.br/gef/graficos/mapaGEF.jpg>. Acesso em: 13 maio 2009.
- AGUIAR, J. I.; AGUIAR, E.; PANIAGO, A. M.; CUNHA, R. V.; GALVÃO, L.; DAHER, R. Prevalence of antibodies to hepatitis B core antigen in blood donors in the middle West region of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 2, p. 185-187, Feb. 2001.
- AKHTAR, S.; YOUNUS, M.; ADIL, S.; HASSAN, F.; JAFRI, S. H. Epidemiologic study of chronic hepatitis B virus infection in male volunteer blood donors in Karachi, Pakistan. **BMC Gastroenterology**, v. 5, p. 1-26, 2005.
- ALMEIDA, D.; TAVARES-NETO, J.; VITVITSK, L.; ALMEIDA, A.; MELLO, C.; SANTANA, D.; TATSCH, F.; PARANÀ, R. Serological markers of hepatitis A, B and C viruses in rural communities of the semiarid Brazilian Northeast. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, n. 5, p. 317-321, 2006.
- ALQUÉZAS, A. S.; BASSIT, L.; SABINO, E. C. Hepatites virais, In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**, 2. ed, Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. cap. 6, p.74-91.
- ALTER, M.J. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. **Journal of Hepatology**, v. 39, suppl 1, p. s64-s69, 2003a.
- ALTER, M. J. Epidemiology and prevention of hepatitis B. **Seminars of Liver Diseases**, v. 23, p. 39-46, 2003b.
- ARAÚJO, N. M.; MELLO, F. C. A.; YOSHIDA, C. F. T.; NIEL, C.; GOMES, S. High proportion of subgroup A (genotype A) among Brazilian isolates of hepatitis B virus. **Archives of Virology**, v. 149, n. 7, p. 1383-1395, July 2004.
- ARAUZ-RUIZ, P.; NORDER, H.; ROBERTSON, B. H.; MAGNIUS, L. O. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. **Journal of General Virology**, v. 83, p. 2059-2073, Aug. 2002.
- BANCROFFT, W. H.; MUNDON, F. K.; RUSSEL, P. K. Detection of additional antigenic determinants of hepatitis B antigen. **Journal of Immunology**, v. 109, p. 842-848, 1972.
- BANERJEE, A.; KUBANOV, F.; DATTA, S.; CHANDRA, P. K.; TANAKA, Y.; MIZOKAMI, M.; CHAKRARTY, R. Phylogenetic relatedness and genetic diversity of hepatitis B virus isolates in Eastern India. **Journal of Medical Virology**, v. 78, p. 1164-1174, 2006.

BATISTA, S. M. F.; ANDREASI, M. S. A.; BORGES, A. M. T.; LINDENBERG, A. S. C.; SILVA, A. L.; FERNANDES, T. D.; PEREIRA, E. F.; BASMAGE, E. A. M.; CARDOSO, D. D. P. Seropositivity for hepatitis B virus, vaccination coverage and vaccine response in dentists from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 3, p. 263-267, May 2006.

BAUMERT, T. F.; THIMME, R.; WEUZZSACKER, F. V. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. **World of Journal Gastroenterology**, v. 13. n. 1, p. 82-90, 2007.

BECK, J.; NASSAL, M. Hepatitis B virus replication. **World of Journal Gastroenterology**, v. 13, n. 1, p. 48-64, 2007.

BLITZ, L.; PUJOL, F. H.; SWENSON, P. D.; PORTO, L.; ATENCIO, R.; ARAÚJO, M.; COSTA, L.; CALLEJAS-MONSALVE, D.; TORRES, J. R.; FIELDS, H. A.; LAMBERT, S.; VAN GEYT, C.; NORDER, H.; MAGNIUS, L. O.; ECHEVARRÍA, J. M.; STUYVER, L. Antigenic diversity of hepatitis B virus strains of genotype F in Amerindians and other population groups from Venezuela. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, n. 3, p. 648-651, Mar. 1998.

BLUMBERG, B. S.; ALTER, H. J.; VISNICH, A. S. A new antigen in leukemia sera. **JAMA, The Journal of American Medical Association**, v. 191, p. 541-546, 1965.

BOND, W. W.; FAVERO, M. S.; PETERSEN, N. J.; EBERT, J. W. Inactivation of hepatitis B virus by intermediate-to-high-level disinfectant chemicals. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 535-538, Sept. 1983.

BOTHA, J. F.; RITCHIE, M. J. J.; DUSCHIEKO, G. M.; MOUTON, H. W. K.; KEW, M. C. Hepatitis B virus carrier state in black children in Ovamboland: role of perinatal and horizontal infection. **Lancet**, v. 1, n. 8388, p. 1210-1212, 1984.

BOWDEN, S. Serological and molecular diagnosis. **Seminars in Liver Disease**, v. 26, n. 2, p. 97-103, 2006.

BOWYER, S. M.; VAN STADEN, L.; KEW, M. C.; SIM, J. G. M. A unique segment of the hepatitis B virus group A genotype identified in isolates from South Africa. **Journal of General Virology**, v. 78, p. 1719-1729, 1997.

BRAGA, W. S. M.; SILVA, E. B.; SOUZA, R. A. B.; TOSTA, C. E. Soroprevalência da infecção pelo vírus da hepatite B e pelo plasmódio em Lábrea, Amazonas: estimativa da ocorrência de prováveis coinfeções. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 38, n. 3, p. 218-223, 2005.

BRASIL, L. M.; FONSECA, J. C. F.; SOUZA, R. B.; BRAGA, W. S. M.; TOLEDO, L. M. Prevalência de marcadores para o vírus da hepatite b em contatos domiciliares no Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 5, p. 565-570, set./out. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Programa Nacional de imunizações, 30 anos**. Brasília-DF, Ministério da Saúde, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Hepatites virais: o Brasil está atento**. 3. ed. Brasília-DF, Ministério da Saúde, 2008.

BURNS, M.; MISKA, S.; CHASSOT, S.; WILL, S. Enhancement of hepatitis B virus infection by noninfectious subviral particles. **Journal of Virology**, v. 72, n. 22, p. 1462-1468, 1998.

CARMAN, W. F.; JACYNA, M. R.; HADZIYANNIS, S.; KARAYIANNIS, P.; MCGARVEY, M. J.; MAKRIS, A.; THOMAS, H. C. Mutation prevent formation of hepatitis B and antigen in patients with chronic hepatitis B infection. **The Lancet**, v. 2, n. 8663, p. 588-591, 1989.

CAMPOS, R. H.; MBAYED, V. A.; LEONE y PINEIRO, F. G. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Latin America. **Journal of Clinical Virology**, v. 34, suppl. 2, p. s8-s13, Dec. 2005.

CARDOSO, D. D. P.; FARIA, E. L.; AZEVEDO, M. S. P.; QUEIROZ, D. A. O.; MARTINS, R. M. B.; SOUZA, T. T.; DAHER, R. R.; MARTELLI, C. M. T. Soroepidemiologia para o vírus da hepatite B (VHB) em gestantes/parturientes e sua transmissão para recém-nascidos em Goiânia-GO. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 29, n. 4, p. 349-353, jul./ago. 1996.

CARRILHO, F. J.; MORAES, C. R.; PINHO, J. R.; MELLO, I. M.; BETOLINI, D. A.; LEMOS, M. F.; MOREIRA, R. C.; BASSIT, L. C.; CARDOSO, A.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, G.; DA SILVA, L. C. Hepatitis B virus infection in Hemodialysis Centers from Santa Catarina State, Southern Brazil. Predictive risk factors for infection and molecular epidemiology. **BMC Public Health**, v. 4, p. 13, 2004.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Hepatitis B vaccination for injecting drugs users, Pierce County, Washington, 2000. **Morbidity and Mortality Weekend Report**, v. 50, n.19, p. 380-390, 2001.

CHANG, M. H. Hepatitis B infection. **Seminars of Fetal and Neonatal Medicine**, v. 12, n. 3, p. 160-167, 2007.

CHOWDHURY, A.; SANTRA, A.; CHAUHURY, S.; GHOSH, A.; BANERJEE, P.; MAZUMDER, D. N. Prevalence of hepatitis B infection in the general population: a rural community based study. **Tropical of Gastroenterology**, v. 20, n. 2, p. 75-77, Apr./June 1999.

CLEMENS, S. A. C.; FONSECA, J. .; AZEVEDO, T.; CAVALCANTI, A.; SILVEIRA6, T. R.; CASTILHO, M. C.; CLEMENS, R. Soroprevalência para hepatite A e hepatite B em quatro centros no Brasil Hepatitis A and hepatitis B seroprevalence in four centers in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 1, p. 1-10, jan./fev. 2006.

CONJEEVARAN, H. S.; LOK, A. S. Occult hepatitis B virus infection: a hidden manace. **Hepatology**, v. 34, p. 204-205, 2001.

COUROUCÉ-PATY, A. M.; PLANÇON, A.; SOULIER, J. P. Distribution of HBsAg subtypes in the world. **Vox Sanguines**, v. 44, p. 197-211, 1983.

CUSTER, B.; SULLIVAN, S. D.; HAZLET, T. K.; LLOEJE, U.; VEENSTRA, D. L.; KOWDLEY, K. V. Global epidemiology of hepatitis B virus. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 38, n. 3, p. s158-s168, Nov./Dec. 2004.

DANE, D. S.; CAMERON, C. H.; BRIGGS, M. Virus-like particles in serum of patients with Australian-antigen-associated hepatitis. **Lancet**, v. 295, p. 2695-2698, 1970.

DE CASTRO, L.; NIEL, C.; GOMES, S. A. Low frequency of mutations in the core promoter and precore regions of hepatitis B virus in the anti-HBe positive Brazilian carriers. **BMC Microbiology**, v. 1, p. 10, 2001.

DEGERTEKIN, H.; GÜNES, G. Horizontal transmission of hepatitis B virus in Turkey. **Journal of the Royal Institute of Public Health**, v.10, p. 1-3, 2008.

DEVESA, M.; RODRIGUÉZ, LÉON, G.; LIPRANDI, F.; PUJOL, F. H. Clade analysis and surface antigen polymorphism of hepatitis B virus American genotypes. **Journal of Medical Virology**, v. 72, n. 3, p. 377-384, Mar. 2004.

EROL, S.; OZKURT, Z.; ERTEK, M.; TASYARAN, M. A. Intrafamilial transmission of hepatitis B virus in the eastern Anatolian region of Turkey. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 15, n. 4, p. 345-349, 2003.

FARIAS, J. K. N. P.; CRUZ, L. C.; OLIVEIRA, M. E. A. Sustentabilidade ambiental de comunidades rurais ribeirinhas do Pantanal do Mato Grosso. In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007. Caxambú, MG. **Anais...** Niterói, RJ: Sociedade de Ecologia do Brasil, 2007. p.1-2.

FATTOVICH, G. Natural history of hepatitis B. **Journal of Hepatology**, v. 39, p. s50-s58, 2003.

FERREIRA, M. S. Diagnóstico e tratamento da hepatite B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 4, p. 389-400, julho./ago. 2000.

FERREIRA, C. T.; SILVEIRA, T. R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 4, p. 473-487, 2004.

FERREIRA, R. C.; TELES, S. A.; DIAS, M. A.; TAVARES, V. R.; SILVA, S. A.; GOMES, S. A.; YOSHIDA, C. F. T.; MARTINS, R. M. B. Hepatitis B virus infection profile in hemodialysis patients in Central Brazil: prevalence, risk factors and genotypes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, p. 689-692, 2006.

FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S. Avanços no tratamento da hepatite pelo vírus B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 4, p. 451-462, julho./ago. 2007.

FONSECA, J. C. F. Histórico das hepatitis B e D. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, suppl. 1, p. s2-s5, 2006.

FONSECA, J. C. F. História natural da hepatite crônica B. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 6, p. 672-677, Nov./Dez. 2007.

FRANÇOIS, G.; KEW, M.; VAN DAMME, P.; MPHAHLELE, M. J.; MEHEUS, A. Mutants hepatitis B viruses: a matter of academic interest only or a problem with far-reaching implications? **Vaccine**, v. 19, p. 3799-3815, 2001.

FREITAS, J. Perspectiva histórica. In: COTTER, J.(ED). Hepatites víricas. Lisboa: Núcleo de Gastroenterologia dos Hospitais Distritais, 2003. p.15-41. Disponível em: <www.aidsportugal.com/hepatitis/9_35.pdf> Acessado em : 07 Jan. 2009.

GANEM, D.; VARMUS, H. E. The molecular biology of the hepatitis B viruses. **Annual Review of Biochemistry**, v. 56, p. 651-693, July 1987.

GANEM, D.; SCHNEIDER, R. J. Hepadnaviridae the viruses and their replication. In: KNIPE, D. N.; HOWLEY, P. M. **Fields Virology**. Philadelphia: Lippicott-Willians Wilkins, Philadelphia, 2001. p. 2923-2969.

GANEM, D; PRINCE, A. M. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. **New England of Journal Medicine**, v. 350, n. 11, p. 1118-29, Mar. 2004.

GASPAR, A. M. C.; YOSHIDA, C. F. T. Geographic distribution of HBsAg subtypes in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, n. 2, p. 253-258, Apr./June 1987.

GHANY, M.; LIANG, T. J. Drug targets and molecular mechanisms of drug resistance in chronic hepatitis B virus. **Gastroenterology**, v. 132, p. 1574-1585, 2007.

GOMES, S. A. Genoma viral. In: FOCACCIA, R. **Tratado de Hepatites Virais**. 2º Ed. São Paulo: Atheneu, 2007. cap. 3.1, p. 108-110.

GONÇALES, N. S. L.; GONÇALES JR., F. L. Perfis anômalos, genótipos e mutantes. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, suppl 1, p. s23-s28, 2006.

GRAHAM, J. M.; BLANCO, J. D.; MAGEE, K. P. Screening for hepatitis B among pregnant patients in a rural population. **South Medical of Journal**, v. 85, n. 6, p. 594-596, June 1992.

GRESSLER, L. A.; VASCONCELOS, I. M.; SOUZA, Z. P. Mato Grosso do Sul. In: GRESSLER, L. A.; VASCONCELOS, I. M.; SOUZA, Z. P. **História e Geografia do Mato Grosso do Sul**. São Paulo: FTD, 2005. Cap. 26, p. 48-60.

HEATHCOTE, J.; GATEAU, P.; SHERLOCK, S. Role of the hepatitis B antigen carriers in non parenteral transmission of hepatitis B virus. **The Lancet**, v. 304, n. 7877, p. 370-372, Aug. 1974.

HEGNIST, W. Sexual transmission of infectious associates with hepatitis B antigen. **The Lancet**, v. 2, p. 1395, 1973.

HOLLINGER, F. B. Hepatitis B virus. In: FIELDS, B. N.; KNIPE, P.M.; HOWLEY, P.M. (eds): **Fields Virology**. Philadelphia: Lippecontt Raven, 1996. p. 2739-2807.

HOLLINGER, F. B.; LIANG, T.J. Hepatitis B virus. In: KNIPE, P.M.; HOWLEY, P.M. (eds): **Fields Virology**. 4. ed Philadelphia: Lippecontt Williams & Wilkins, 2001. p. 2971-3036.

HOU, J; LIU, Z.; GU, F. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. **International Journal of Medical Science**, v. 2, n. 1, p. 50-57, Jan. 2005.

HUY, T. T.; USHIJIMA, H.; QUANG, V. X.; WIN, K. M.; LUENGROJANAKUL, P.; KIKUCHI, K.; SATA, T.; ABE, K. Genotype C of hepatitis B virus can be classified into at least two subgroups. **Journal of General Virology**, v. 85, n. 2, p. 283-292, 2004.

HUY, T. T.; USHIJIMA, H.; AMPOLO, W.; IZUMI, T.; NAKAJIMA, A.; ANSAH, J.; TETTEH, J. O.; AIDOO, S.; OFORI- ADJII, D.; SATA, T.; ASHIJIMA, H.; ABE, K. Characteristics of hepatitis B virus in Ghana: full length genome sequences indicate the endemicity of genotype E in West Africa. **Journal of Medical Virology**, v. 78, n. 2, p. 178-184, Feb. 2006.

KAO, J. H.; CHEN, D. S. Global control of hepatitis B virus infection. **Lancet of Infectious Diseases**, v. 2, p. 395-403, 2002.

KAO, J. H. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers. **Expertise Reviews of Gastroenterology and Hepatology**, v. 2, n. 4, p. 553-562, Aug. 2008.

KARIM, S. A.; THEJPAL, R.; COOVADIA, H. Household clustering and intra-household transmission patterns of hepatitis B virus infection in South Africa. **International Journal of Epidemiology**, v. 20, n. 2, p. 495-503, 1991.

KHOURI, M. E.; SANTOS, V. A. Hepatitis B: epidemiological, immunological, and serological considerations emphasizing mutation. **Revista do Hospital das Clínicas**, São Paulo, v. 59, p. 216-224, 2004.

KIDD-LJUNGGREN, K.; MIYAKAWA, Y.; KIDD, A. H. Genetic variability in hepatitis B viruses. **Journal of General Virology**, v. 83, p. 1267-1280, 2002.

KIIRE, C. F. The epidemiology and prophylaxis of hepatitis B in sub-Saharan Africa: a view from tropical and subtropical Africa. **Gut - An International Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 38, n. 2, p. s5-s12, 1996.

KRAMVIS, A.; WEITZMANN, L.; OWIREDU, W. K. B. A.; KEW, M. C. Analysis of the complete genome of subgenotype A' hepatitis B virus isolates from South Africa. **Journal of General Virology**, v. 83, p. 835-839, 2002.

KRAMVIS, A.; KEW, M.; FRANÇOIS, G. Hepatitis B virus genotypes. **Vaccine**, v. 23, p. 2409-2423, 2005.

KRUGMAN, S.; GILES, J. P.; HAMMOND, J. Infectious hepatitis: evidence for two distinctive clinical, epidemiological, and immunological types of infection. **JAMA Journal of American Medicine Association**, v. 200, n. 5, p. 365-373, 1967.

KURBANOV, F.; TANAKA, Y.; FUJIWARA, K.; SUGAUCHI, F.; MBANYA, D.; ZEKENG, L.; NDEMBI, N.; NGANSOP, C.; MUIRA, T.; IDO, E.; HAYAMI, M.; ICHIMURA, H.; MIZOKAMI, M. A new subtype (subgenotype) Ac (a3) of hepatitis B virus and recombination between genotypes A and E in Cameroon. **Journal of General Virology**, v. 86, p. 2047-2055, 2005.

KURIEN, T.; THYAGARAJAN, S. P.; JEYASEELEAN, L.; PEEDICAYIL, A.; RAJENDRAN, P.; SIVARAM, S.; HANSDK, S. G.; RENU, G.; KRISHNAMRTHY, P.; SUDHKAR, K.; VARGHESE, J. C. Community prevalence of hepatitis B infection & modes of transmission in Tamil Nadu, India. **Indian Journal of Research**, v. 121, p. 670-675, May 2005.

LAVANCHY, D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. **Journal of Virus Hepatitis**, v. 11, n. 2, p. 97-107, Dec. 2004.

LE BOUVIER, G. L. The heterogeneity of Australian antigen. **Journal of Infectious Diseases**, v. 123, p. 671-675, 1971.

LEE, W. M. Hepatitis B virus infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 337, n. 24, p. 1733-1745, Dec. 1997.

LINGAO, A. L.; DOMINGO, E. O.; WEST, S.; REYES, C. M.; GASMEN, S.; VITERBO, G.; TIU, E.; LASANG, M. A. Seroepidemiology of hepatitis B virus in the Philippines. **American Journal of Epidemiology**, v. 123, n. 3, p. 473-480, Mar. 1986.

LOCARNINI, S. Molecular virology of hepatitis B virus. **Seminars of Liver Disease**, v. 24, suppl.1, p. s3-s10, 2004.

LOCARNINI, S.; OMATA, M. Molecular virology of hepatitis B virus and the development of antiviral drug resistance. **Liver International**, v. 26, p. 11-22, 2006.

LOK, A. S. F.; McMAHON, B. J. Chronic hepatitis B. **Hepatology**, v. 34, p. 1225-1241, 2001.

LOK, A. S. F.; McMAHON, B. J. Chronic hepatitis B. **Hepatology**, v. 45, n. 2, p. 507-539, Feb. 2007.

LOPES, M. H. Prevenção da hepatite B e Delta. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, suppl 1, p. s72-s78, 2006.

LÜSEBRINK, J.; SCHILDGEN, V.; SCHILDGEN, O. HBV- Virology. In: MAUSS, S.; BERG, T.; ROCKSTROTH, J.; SARRAZIN, C.; WEDMEYER, H. **Hepatology: A clinical textbook**. 1. ed Frankfurt Germa: Flying Publisher, 2009. Cap. 5, p. 55-74.

LUSIDA, M. I.; NUGRAHAPUTRA, V. E.; SOETJIPTO.; HANDAJANI, R.; NAGANO-FUJII, M.; SASAYAMA, M.; UTSUMI, T.; HOTTA, H. Novel subgenotypes of Hepatitis B Virus Genotypes C and D in Papua, Indonesia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 7, p. 2160-2166, July 2008.

MACCALLUM, F. O. Hepatitis B: an important public health issue. **The Lancet**, v. 61, p. 691-692, 1947.

MBAYED, V. A.; BARBINI, L.; LOPEZ, J. L.; CAMPOS, R. H. Phylogenetic analysis of the hepatitis B virus (HBV) genotype F including Argentine isolates. **Archives of Virology**, v. 146, n. 9, p. 1803-1810, 2001.

MADDREY, W. C. Hepatitis B: an important public health issue. **Journal of Medical Virology**, v. 61, n. 3, p. 362-366, June 2000.

MAGALHÃES, N. W. O Pantanal: aspectos gerais. In: MAGALHÃES, N. W **Conheça o Pantanal**, 1. ed, São Paulo: Terragraph. 1992. Cap 1, p.7-12.

MAGNUS, L. O.; NORDER, H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. **Intervirolgy**, v. 38, n. 1-2, p. 24-34, 1995.

MAHONEY, F. J. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. **Clinical of Microbiology Reviews**, v. 12, p. 351-366, 1999.

MARGOLIS, H. S.; ALTER, M. J.; HADLER, S. C. Hepatitis B: evolving epidemiology and implications for control. **Seminars in Liver Disease**, v. 11, n. 2, p. 84-92, May 1991.

MARTINSON, F. E.; WEIGLE, K. A.; ROUCE, R. A.; WEBER, D. J.; SUCHINDRAN, C. M.; LEMON, S. M. Risk factors for Horizontal transmission of hepatitis B virus in a rural district in Ghana. **American Journal of Epidemiology**, v. 147, n. 5, p. 478-487, 1998.

MAST, E. E.; MARGOLIS, H. S.; FIORE, A. E.; BRINK, E. W.; GOLDSTEIN, S. T.; WANG, S. A.; MOYER, L. A.; BELL, B.P.; ALTER, M. J. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children and adolescents, **MMVR**, v. 5, p. 1-31, Dec. 2005.

MATOS, M. A.; REIS, N. R. S.; KLOZLOWKI, A. G.; TELES, S. A.; MOTTA-CASTRO, A. R. C.; MELLO, F. C. A.; GOES, S. A.; MARTINS, R. M. B.

Epidemiological study of hepatitis A, B and C in the largest Afro-Brazilian isolated community. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Feb. 2009.

MELLO, F. C. A.; SOUO, F. J. D.; NABUCO, L. C.; VILLELA-NOGUEIRA, C. A.; COELHO, H. S.; FRANZ, H. C. F.; SARAIVA, J. C. P.; VIRGOLINO, H. A.; MOTTA-CASTRO, A. R. C.; MELO, M. M. M.; MARTINS, R. M. B.; GOMES, S. A. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotypes F isolates. **BMC Microbiology**, v. 7, n. 103, p. 1-9, 2007.

MENDONÇA, J. S.; VIGANI, A. G. História natural da hepatite B aguda e crônica. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, suppl 1, p. s15-s18, 2006.

MERAT, S.; REZVAN, H.; NOURAI, M.; JAMALI, A.; ASSARI, S.; ABOLGHASEMI, H.; RADMARD, A. R.; ZAER-REZAI, H.; ZEID- ABADI-NEJHAD, M.; HOSSEINI, M. R.; AMIUNI-KAFIABAD, S.; MAGHSUDLU, M.; POURSHAMS, A.; MALEKZADEH, R. The prevalence of hepatitis B surface antigen and anti-hepatitis B core antibody in Iran: a population-based study. **Archives of Iran Medicine**, v. 12, n. 3, p. 225-231, May 2009.

MICHIELSEN, P. P.; FRANQUE, S. M.; VAN DONGEN, J. L. Viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 3, n. 26, p. 1-18, May 2005.

MINUK, G. Y.; SUN, D.; UHANOVA, J.; ZHANG, M.; CAQUETTE, S.; NICOLLE, L. E.; GUTKIN, A.; DOUCETTE, K.; MARTIN, B.; GIULIVI, A. Occult hepatitis B virus infection in a North American community-based population. **Journal of Hepatology**, v. 42, p. 480-485, 2005.

MIYAKAWA, Y.; MIZOKAMI, M. Classifying hepatitis B virus genotypes. **Intervirology**, v. 46, p. 329-338, 2003.

MOOLA, N.; KEW, M.; ARBUTHNOT, P. Regulatory elements of hepatitis B virus transcription. **Journal of Viral Hepatology**, v. 9, p. 323-331, 2002.

MORAES, M. T. B.; GOMES, S. A.; NIEL, C. Sequence analysis of pre-S/S gene of hepatitis B virus strains of genotype A, D and F isolates in Brazil. **Archives of Virology**, v. 141, p. 1767-1773, 1996.

MOTTA-CASTRO, A. R. C.; YOSHIDA, C. F. T.; LEMOS, E. R. S.; OLIVEIRA, J. M.; CUNHA, R. V.; XIMENEZ-LEWIS, L. L.; CABELLO, P. H.; LIMA, K. M. B.; MARTINS, R. M. B. Seroprevalence of hepatitis B virus infection among an Afro-descendent community in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 1, p. 13-17, 2003.

MOTTA-CASTRO, A. R. C.; MARTINS, R. M. B.; YOSHIDA, C. F. T.; TELES, S. A.; PANIAGO, A. M.; LIMA, K. M. B.; GOMES, S. A. Hepatitis B virus infection in isolated Afro-Brazilian Communities. **Journal of Medical Virology**, v. 77, p. 188-193, 2005.

MUTIMER, D.; DUSHEIKO, G.; BARRET, C.; GRELIER, L.; AHMED, M.; ANSHUETZ, G. Lamivudine without HBIG for prevention of graft reinfection by hepatitis B: Long-term follow-up. **Transplantation**, v. 70 n. 5, p. 809-815, 2000.

NASSAL, M. Hepatitis virus replication: novel roles for virus-host interactions. **Intervirolgy**, v. 42, n. 2-3, p. 100-116, 1999.

NAUMANN, H.; SCHAEFER, S.; YOSHIDA, C. F.; GASPAR, A. M.; REPP, R.; GERLICH, W. H. Identification of a new hepatitis B virus (HBV) genotype from Brazil that expresses HBV surface antigen subtype adw4. **Journal of General Virology**, v. 74, p.1672-1682, 1993.

NGUYEN, V. T. T.; MCLAWS, M. L.; DORE, G. J. Highly endemic hepatitis B infection in rural Vietnam. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 22, n. 12, p. 2093-2100, 2007.

NORDER, H.; HAMMAS, B.; LOFDAHL, S.; COUROUCÉ, A. M.; MAGNIUS, L. O. Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strain. **Journal of General Virology**, v. 73, p.1201-1208, 1992.

NORDER, H.; COUROUCÉ, A. M.; MAGNIUS, L. O.; HAMMAS, B.; LEE, S. D.; BILE, K. Genetic relatedness of hepatitis B viral strains of diverse geographical origin and natural variations in the primary structure of the surface antigen. **Journal of General Virology**, v. 74, p. 1341-1348, 1993.

NORDER, H.; COURONCÉ, A. M.; MAGNIUS, L. O. Complete genomes phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. **Virology**, v. 198, p. 489-503, 1994.

NORDER, H.; COURONCÉ, A. M.; COURSAGET, P. ECHEVARRIA, J. M.; LE, S. D.; MUSHAHWAR, I. K.; ROBETSON, B. H.; LOCARNINI, S.; MAGNIUS, L. O. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. **Intervirolgy**, v. 47, p. 289-309, 2004.

OKAMOTO, H.; TSUDA, F.; SAKUGAWA, H.; SASTROSOEWIIGNIO, R. I.; IMAI, M.; MIYAKAWA, Y.; MAYUMI, M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: Comparison of surface antigen subtypes. **Journal of General Virology**, v. 69, p. 2575-2583, 1988.

OKAMOTO, H.; TSUDA, F.; AKAHANE, V.; SUGAI, Y.; YOSHIBA, M.; MORIYAMA, K.; TANAKA, T.; MIYAKAWA, Y.; MAYUMI, M. Hepatitis B virus with mutations in the core promoter for an e antigen-negative phenotype in carriers with antibody to e antigen. **Journal of Virology**, v. 68, p. 8102-8110, 1994.

OLIVEIRA, M. D. S.; MARTINS, R. B.; MATOS, M. A.; FERREIRA, R. C.; DIAS, M. A.; CARNEIRO, M. A. S.; JUNQUEIRA, A. L. N.; TELES, S. A. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection and high rate of response to hepatitis B Butang^R vaccine in adolescents from low income families in Central Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 3, p. 251-256, May 2006.

PARANA, R.; ALMEIDA, D. HBV epidemiology in Latin America. **Journal of Clinical Virology**, v.34, suppl 1, p. s130-s133, 2005.

PASSOS, A. D. C.; GOMES, U. A.; FIGUEIREDO, J. F. C.; NASCIMENTO, M. M. P.; OLIVEIRA, J. M.; GASPAR, A. M. C.; YOSHIDA, C. F. T. Prevalência de marcadores sorológico de hepatite B numa pequena comunidade rural do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 119-124, 1992.

PASSOS, A. D. C.; GOMES, U. A.; FIGUEIREDO, J. F. C.; NASCIMENTO, M. M. P.; OLIVEIRA, J. M.; GASPAR, A. M. C.; YOSHIDA, C. F. T. Influence of migration on prevalence of serological hepatitis B markers in a rural community 1- Analysis of prevalence by birthplace. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 30-35, Feb. 1993.

PASSOS, A. D. C.; FIGUEIREDO, J. F. C. Fatores de risco para doenças sexualmente transmissíveis entre prostitutas e travestis de Ribeirão Preto, Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica**, Washington, USA, v. 16, n. 2, p. 95-101, 2004.

PORTO, S. O. B.; CARDOSO, D. D. P.; QUEIROZ, D. A. O.; ROSA, H.; ANDRADE, A. L. S. S.; ZICKER, F.; MARTELLI, C. M. T. Prevalence and risk factors for HBV infection among street youth in Central Brazil. **Journal of Adolescent Health**, v. 15, p. 577-581, 1994.

PRINCE, A. M. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. **Pathology**, v. 60, p. 814-821, 1968.

RANGER-ROGEZ, S.; DENIS, F. Hepatitis B mother-to-child transmission. **Expertise Review Anti Infectious Therapy**, v. 2, n. 1, p. 133-145, Feb. 2004.

RIZZETTO, M.; CIANCIO, A. Chronic HBV-related liver disease. **Molecular Aspects Medicine**, v. 29, p. 72-84, 2008.

RODRIGUES, F. P. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite B em usuários de drogas ilícitas em Campo Grande, MS. 2006. 74f. Dissertação (Mestrado em Cuidado em Enfermagem) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Enfermagem Goiânia, 2006.

RONCATO, M.; BALLARDIN, P. A. Z.; LUNGE, V. R. Influência dos genótipos no tratamento da hepatite B. **Revista HCPA**, Porto Alegre, v. 28, n. 3, p. 188-193, 2008.

ROSENBLUM, L.; DARROW, W.; COHEN, J.; FRENCH, J.; SIKES, K. REICH, R.; HADIER, S. Sexual practices in the transmission of hepatitis B virus and prevalence of hepatitis Delta virus infection in female prostitutes in the United States. **JAMA, The Journal of American Medical Association**, v. 267, n. 18, p. 2477-2481, May 1992.

SAKAMOTO, T.; TANAKA, Y.; RITO, E.; CO, J.; CLAVIO, J.; SUGAUCHI, F.; IT, K.; OZASA, A.; QUINO, A.; UEDA, R.; SOLLANO, J.; MIZOKAMI, M. Novel subtypes (subgenotypes) of hepatitis B virus genotypes B and C among chronic liver disease patients in the Philippines. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 1873-1882, 2006.

SALKIC, N. N.; ZILDZIC, M.; MUMINHODZIC, K.; PAVLOVC-CLIC, N.; ZEREM, E.; AHMETAGIC, S.; MOTT-DIVKOVIC, S.; ALIBEGOVIĆ, E. Intrafamilial transmission of hepatitis B in Tuzla region of Bosnia And Herzegovina. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 19, p. 113-119, 2007.

SCHAEFER, S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 1, p. 14-21, Jan. 2007.

SEEGER, C.; MASON, W. S. Hepatitis B virus biology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 1, p. 51-68, Mar. 2000.

SHAMLIYAM, T. A.; MACDONALD, R.; SHUKAT, A.; TAYLOR, B. C.; YUN, J. M.; JOHNSON, J. R.; TACKLIND, J.; RUTKS, I., KANE, R.; WILT, T. J. Antiviral therapy for adults with chronic hepatitis B: A systematic review for a National Institutes of Health Consensus Development Conference. **Annals of Internal Medicine**, v. 150, p. 111-124, 2009.

SHELDON, J.; RODÈS, B.; ZOULIM, F.; BARTHOLOMEUSZ, A.; SORIANO, V. Mutations affecting the replication capacity of the hepatitis B virus. **Journal of Viral Hepatology**, v. 13, v. 427-434, 2006.

SHEPARD, C. W.; SIMARD, E. P.; FINELLI, L.; FORE, A. E.; BELL, B. P. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. **Epidemiologic Reviews**, v. 28, p. 112-125, June 2006.

SHOUVAL, D. Hepatitis B vaccine. **Journal of Hepatology**, v. 39, suppl. 1, p. s70-s76, 2003.

SILVEIRA, T. R.; FONSECA, J. C.; RIVERA, L.; FAY, O. H.; TAPIA, R.; SANTOS, J. I. Hepatitis B seroprevalence in Latin America. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 6, n. 6, p. 378-383, 1999.

SINGH, J.; GUPTA, S.; KHRE, S.; BHATIA, R.; JAIN, D. C.; SOKHEY, J. A severe and explosive outbreak of hepatitis B in rural population in Sirsa district, Haryana, India: unnecessary therapeutic injections were a major risk factor. **Epidemiology and Infectious**, v. 125, p. 693-699, 2000.

SITNIK, R.; PINHO, J. R. R.; BERGLINI, D. A.; BERNARDINI, A. P.; SILVA, L. C.; CARRILHO, F. J. Hepatitis B virus genotypes and precore and core mutants in Brazilian patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 6, p. 2455-2460, June 2004.

SONWANE, B. N.; BORARE, S. D.; KULKARNI, P. V. Prevalence of seroreactivity among blood donors in rural population. **Indian Journal of Medical Sciences**, v. 57, n. 9, p. 405-407, Sept. 2003.

SOUTO, F. J. D.; FONTES, C. J. F.; GASPARI, A. M. C.; OLIVEIRA, J. M.; LYRA, L. G. Epidemiological survey of infection with hepatitis B virus in the savannah and wetlands (Pantanal) of central Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 91, n. 4, p. 411-416, 1997.

SOUTO, F. J. D.; FONTES, C. J. F.; GASPAR, A. M. C. Outbreak of hepatitis B virus in recent arrivals to the Brazilian Amazon. **Journal of Medical Virology**, v. 56, n. 1, p. 4-9, Dec. 1998.

SOUTO, F. J. D.; FONTES, C. J. F.; GASPAR, A. M. C.; LYRA, L. G. C. Hepatitis B virus infection in immigrants to the southern Brazilian Amazon. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, p. 282-284, 1998.

SOUTO, F. J. D. Distribuição da hepatite B no Brasil; atualização do mapa epidemiológico e proposições para seu controle. **GED-Gastroenterology Endoscopy Digestive**, v. 18, p. 143-150, 1999.

SOUTO, F. J. D.; SANTO, G. A. E.; PHILIPPI, J. C.; PIETRO, B. R. C.; AZEVEDO, R. B.; GASPAR, A. M. C. Prevalência e fatores associados a marcadores do vírus da hepatite B em população rural do Brasil Central. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 10, n. 6, p. 388-394, 2001.

STUYVER, L.; DE GENDT, S.; VAN GEYT, C.; ZOULIM, F.; FRIEND, M.; SCHINAZI, R.F.; ROSSAU, R. A new genotypes of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. **Journal of General Virology**, v. 81, p. 67-74, 2000.

SUGAUCHI, F.; ORITO, E.; ISHIDA, T.; CHUAPUTTI, A.; LAI, C. L.; UEDA, R.; MIYAKAWA, Y.; MIZOKAMI, M. Hepatitis B virus of genotype B with or without recombination with genotype C over the precore region plus the core gene. **Journal of Virology**, v. 76, n. 12, p. 5985-5992, 2002.

SUGAUCHI F.; KUMADA, H.; SAKUGAWA, H.; KOMATSU, M.; NIITSUMA, H.; WATANABE, H.; AKAHAME, Y.; TOKITA, H.; KATO, T.; TANAKA, Y.; ORITO, E.; UEDA, R.; MIYAKAWA, Y.; MIZOKAMI, M. Two subgenotypes of genotype B (Ba and Bj) of hepatitis B virus in Japan. **Clinical of Infection Disease**, v. 38, n. 9, p.1222-1228, 2004.

SUGIYAMA, M.; TANAKA, Y.; KURBANOV, F.; NAKAYAMA, N.; MOCHIDA, S.; MIZOKAMI, M. Influences on hepatitis B virus replication by a naturally occurring mutation in the core gene. **Virology**, v. 365, p. 285-291, 2007.

SUMMERS, J.; MASON, W. S. Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. **Cell**, v. 29, p. 403-415, 1982.

SZMUNESS, W.; HARLEY, E. J.; PRINCE, A. M. Intrafamilial spread asymptomatic hepatitis B virus. **American Journal of Medicine Sciences**, v. 270, p. 293-304, 1975.

TABOR, E.; BAYLEY, A. C.; CAIRNS, J.; PELLEU, I.; GERETY, R. J. Horizontal transmission of hepatitis B virus among children and adults in five rural villages in Zambia. **Journal of Medical Virology**, v. 15, p. 113-120, 1985.

TANAKA, J. Hepatitis B epidemiology in Latin America. **Vaccine**, v. 18, supl. 1, p.S17-S19, Feb. 2000.

TANNO, H.; FAY, O. Viral hepatitis in Latin America. **Viral Hepatitis Review**, v. 5, p. 45-61, 1999.

TELES, S. A.; MARTINS, R. M. B.; GOMES, A. S.; GASPAR, A. M. C.; ARAÚJO, N. M.; SOUZA, K. P.; CARNEIRO, M. A. S.; YOSHIDA, C. F. T. Hepatitis B virus transmission in Brazilian hemodialysis units: serological and molecular follow-up. **Journal of Medical Virology**, v. 68, p. 41-49, 2002.

TENGAN, F. M.; ARAUJO, E. S. A. Epidemiologia da hepatite B e D e seu impacto no sistema de saúde. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 6-10, 2006.

THAKUR, V.; KAZIM, S. N.; GUPTAN, R. C.; MALHOTA, V.; SARIN, S. K. Molecular epidemiology and transmission of hepatitis B virus in close family contacts of HBV-related chronic liver disease patients. **Journal of Medical Virology**, v. 70, p. 520-528, 2003.

TONG, S. Mechanism of HBV genome variability and replication of HBV mutants. **Journal of Clinical Virology**, v. 34, suppl. 1, p. s134-s318, 2005.

TORBENSON, M.; THOMAS, D. L. Occult hepatitis B. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 2, p. 479-486, 2002.

TOUKAN, A. V.; SHARAIHBA, Z. K.; ABU-ET-RUB, O. A.; HMOUD, M. K.; DAHBOUR, S. S.; ABU-HASSAN, H.; YASOUB, S. M. The epidemiology of hepatitis B virus among family members in the Middle East. **American Journal of Epidemiology**, v. 132, p. 220-232, 1990.

VAN DAMME, P.; VELLINGA, A. Epidemiology of hepatitis B and C in Europe. **Acta of Gastroenterology Belgian**, v. 61, n. 2, p. 175-182, Apr./Jun. 1998.

VIANA, S.; PARANÁ, R.; MOREIRA, R. C.; COMPRI, A. C.; MACEDO, V. High prevalence of hepatitis B virus and hepatitis D virus in the western Brazilian Amazon. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, n. 4, p. 808-814, 2005.

VILLENEUVE, J. P. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. **Journal of Clinical Virology**, v. 34, suppl 1, p. s139-s142, 2005.

YODFAT, Y.; LONDON, W. T.; WHITFORD, P.; WAX, Y. A seroepidemiology study of hepatitis B in rural area in Israel. **Journal of Epidemiology**, v. 116, n. 3, p. 456-462, 1982.

YOKOSUKA, O.; ARAI, M. Molecular biology of hepatitis B virus: effect of nucleotide substitutions on the clinical features of chronic hepatitis B. **Medicine of Molecular Morphology**, v. 39, p. 113-120, 2006.

WEBER, B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. **Journal of Clinical Virology**, v. 32, p. 102-112, 2005.

WEINBAUM, C. M.; WILLIAMS, I.; MAST, E. E.; WANG, S. A.; FINELLI, L.; WASLEY, A.; NEITZEL, S. M.; WARD, J. W. Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis b virus infection. **MMWR**, v. 57, p. 1-20, Sept. 2008.

APENDICE A- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Instituições: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul / Universidade Federal de Goiás

Projeto de Pesquisa: “Epidemiologia molecular da infecção pelo vírus da hepatite B na população pantaneira de Mato Grosso do Sul”

Investigadores: Ana Rita Coimbra Motta de Castro, Gláucia Bigaton, Alcione Stief, Maria de Fátima Cepa Matos, Inês Aparecida Tozetti, Regina Maria Bringel Martins

A Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, associada à Universidade Federal de Goiás, vem solicitar a participação do(a) senhor(a), como voluntário(a), nesta investigação sobre hepatite B. É importante que o(a) senhor(a) leia atentamente este documento, para entender os princípios gerais que se aplicam a todos os participantes: i) sua participação é totalmente voluntária e ii) sua saída do projeto pode ser feita a qualquer momento, sem nenhum prejuízo a sua pessoa.

Informações gerais sobre hepatite B: Esta infecção constitui um importante problema de Saúde Pública no Brasil e no mundo, sendo comum em nosso meio e, para preveni-la é importante a vacinação contra hepatite B. A sua transmissão ocorre principalmente através do sangue e derivados, uso de seringas e agulhas com sangue ou secreções infectadas, contato sexual, transmissão vertical, ou seja, da mãe para filho durante o parto. As pessoas que adquirem esta infecção podem desenvolver uma doença grave com risco de evoluir para cirrose e câncer de fígado.

Objetivos da pesquisa: Avaliar a freqüência e possíveis fatores de risco para infecção pelo vírus da hepatite B na população pantaneira desse Estado, bem como caracterizar o vírus nas amostras positivas.

Exames e procedimentos: Será realizada a coleta de sangue para exames laboratoriais de hepatite B. De acordo com os resultados destes exames, poderão ser estabelecidas condutas preventivas e diagnósticas.

Benefícios: O Sr (a) poderá obter benefício pessoal ao ser informado sobre a presença ou não de marcadores da hepatite viral B, além de receber orientações quanto à necessidade de vacinação contra hepatite B. De qualquer maneira, sua participação hoje não implica em tomar nenhuma medicação, ou mesmo decidir se vai fazer tratamento.

Inconvenientes: Pode ocorrer dor e/ou hematoma no local da punção venosa, com duração de 3-5 dias.

Riscos potenciais: Os exames e os procedimentos que o Sr(a) será submetido(a) não são causadores de risco, pois fazem parte da rotina na prática médica e laboratorial.

Dados complementares: Considerando a importância deste trabalho para Saúde Pública, o material e os dados poderão ser posteriormente utilizados para fins de investigação clínico-laboratorial devidamente vinculados a novos projetos de pesquisa garantindo-se a confidencialidade e a certeza do encaminhamento dos mesmos. O material biológico será armazenado por 5 anos a -20°, sob responsabilidade institucional da Prof^a Ana Rita C. M. Castro.

Dúvidas e informações favor entrar em contato com Prof^a Ana Rita C. M. Castro (3345-7559) ou com Comitê de Ética em Pesquisa (3345-7187).

Autorização para a pesquisa: ()sim ()não

Assinatura: _____ Data:
____/____/____

Assinatura Pesquisador: _____ Data:
____/____/____

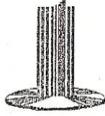
APÊNDICE B – MODELO DO FORMULÁRIO PADRÃO

APÊNDICE B
EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DA INFECÇÃO PELO HBV EM POPULAÇÃO PANTANEIRA-MS

Nº: _____	Data: ___ / ___ / ___	INDEX (____)
Nome: _____	Família : _____	Nome (____)
Sexo: Masc. (2) Fem. (1)		Sex. (____)
Idade: _____		Ida. (____)
Cor: Negro (1) Branco (2)		Cor (____)
Naturalidade: _____		Nat. (____)
Estado Civil: Com companheiro (1) Sem companheiro (2)		Est.Civ. (____)
Nº Filhos: _____		NºFilhos (____)
Nº pessoas/Lar: _____		Pess/lar (____)
Profissão: _____		Prof. (____)
Grau Instrução: EF (1) EM (2) Superior (3) Nenhum (4)		Instruç. (____)
Renda Familiar: < 1 salário (2) 1 a 3 salários (2) > 4 salários (3)		R.Fam. (____)
Teve Icterícia ou hepatite anterior? Não(1) sim(2) s/inf (9)		Ict/Hep. (____)
Hepatite na família? Não(1) Sim(2) s/ inf.(9)		Hep.Fam. (____)
Caso afirmativo: Irmão (1) Pai (2) Mãe (3) Esposo(a) (4) Filho(a)(5) Outro(6)___		Cont.Hep (____)
Antecedentes: a) Cirurgia: Não(1) Sim(2) s/inf.(9)		Cirurg (____)
b) Hemotransfusão Não(1) Sim(2) s/inf.(9) Nº Transf. _____		Transf. (____)
c) Tatuagem: Não(1) Sim(2) s/inf.(9)		Tatoo. (____)
d) Hemodiálise: Não(1) Sim(2) s/inf.(9)		Hmd. (____)
e) Acupuntura: Não(1) Sim(2) s/inf.(9)		Acup. (____)
f) Prisão: Não(1) Sim(2) s/inf.(9)		Pris. (____)
g) Compart. Obj.pessoais: Não(1) Sim(2) s/inf.(9)		Compt. (____)
Qual? Lâmina(1) alicate(2) escova(3) outros(4)		Obj.cort. (____)
h) Tratamento dentário: Não(1) Sim(2) s/inf.(9) Dentista: graduado(1) prático(2)		Trat Dent.(____)
i) Uso de drogas ilícitas: Não(1) Sim(2) s/inf.(9) Tipo: não injetável(1) injetável (2)		Dgas. (____)
j) Uso de bebida alcoólica: Não(1) Sim(2) s/inf.(9) Quantidade diária? ___		Álcool. (____)
Tem ou teve atividade sexual: Não(1) Sim(2) s/inf.(9)		Ativ.Sex (____)
Orientação sexual: heterossexual(1) bissexual(2) homossexual(3)		Orn. Sex. (____)
Múltiplos parceiros: (5 ou +) no passado: Não(1) Sim(2) s/inf.(9)		Par/pas (____)
(2 ou +) no presente: Não(1) Sim(2) s/inf.(9)		Par/pst (____)
Uso de preservativos: sempre(1) ocasionalmente(2) nunca(3)		Preserv. (____)

DST: Não(1) Sim(2) s/inf.(9) **DST** (____)
Fumante: Não(1) Sim(2) s/inf.(9) **Fumo** (____)
Doença (s): _____ **Dça** (____)
Vacina contra hepatite B: Sim(1) Não(2) s/inf.(9) Ano: ____ **Vac.** (____)
 Caso afirmativo: N° Doses: _____ **Doses:** (____)
HBsAg (____) : SNR (1) REAGENTE(2) **Anti-HBs** (____) : SNR (1) REAGENTE(2)
HBeAg (____) : SNR (1) REAGENTE(2) **Anti-HBe** (____) : SNR (1) REAGENTE(2)
Anti-HBc total (____) : SNR (1) REAGENTE(2) **IgG**() **IgM**()
Genótipo: (____)

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA
UFMS



Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS



Carta de Aprovação

A minha assinatura neste documento, atesta que o protocolo nº 926 da Pesquisadora Ana Rita Coimbra Motta de Castro intitulado "EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B NA POPULAÇÃO PANTANEIRA DE MATO GROSSO DO SUL", e o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram revisados por este comitê e aprovados em reunião ordinária no dia 29 de junho de 2007, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.

Prof. Odair Pimentel Martins

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 29 de junho de 2007.

Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
<http://www.propp.ufms.br/bioetica/cep/>
bioetica@propp.ufms.br
fone 0XX67 345-7187