

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E
PARASITÁRIAS**

LARISSA DOS SANTOS PEREIRA CAVARETTO

**ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO E MOLECULAR DA INFECÇÃO PELO VÍRUS
DA HEPATITE B EM MANICURES/PEDICURES EM CAMPO GRANDE – MS**

CAMPO GRANDE – MS

2015

LARISSA DOS SANTOS PEREIRA CAVARETTO

**ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO E MOLECULAR DA INFECÇÃO PELO VÍRUS
DA HEPATITE B EM MANICURES/PEDICURES EM CAMPO GRANDE – MS**

Dissertação apresentada como exigência para obtenção do título de mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Sonia Maria Fernandes Fitts.

CAMPO GRANDE – MS

2015

FOLHA DE APROVAÇÃO

A dissertação intitulada ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO E MOLECULAR DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B EM MANICURES/PEDICURES EM CAMPO GRANDE – MS, apresentada por LARISSA DOS SANTOS PEREIRA CAVARETTO, como exigência para a obtenção do título de mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, à banca examinadora, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, obteve conceito _____.

BANCA EXAMINADORA

Membro titular: Prof.^a Dr.^a Sonia Maria Fernandes Fitts
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Membro titular: Prof.^a Dr.^a Ana Paula da Costa Marques
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Membro titular: Prof.^a. Dr.^a. Bárbara Vieira do Lago
Fundação Oswaldo Cruz

Membro suplente: Prof.^a. Dr.^a. Anamaria Mello Miranda Paniago
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Campo Grande (MS), _____ de _____ de 2015.

*Aos meus pais, que sempre foram meu maior exemplo
de fé, amor e dedicação.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida, por estar sempre no meu caminho, iluminando e guiando às escolhas certas.

À Prof^a. Dr^a. Sonia Maria Fernandes Fitts, orientadora deste trabalho, pelos conhecimentos transmitidos, pela paciência, pela compreensão e pela ajuda em todas as etapas da realização desta pesquisa. Obrigada por sempre me acolher de maneira tão carinhosa e por me receber em sua casa, até mesmo em finais de semana e tarde da noite.

À Prof^a. Dr^a. Ana Rita Coimbra Motta de Castro, por me receber de braços abertos em seu laboratório (Laboratório de Imunologia Clínica do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – CCBS/UFMS) e por dar todo o apoio, tornando possível a realização desta pesquisa.

Aos meus pais, Lourival e Aparecida Cavaretto, pela vida e por todos os momentos dedicados a nós, seus filhos, o que nos possibilitou tantas conquistas.

Aos meus irmãos, Juliana, Rafael e Gabriel Cavaretto, por todo amor e carinho. Agradeço especialmente a minha irmã, por ter realizado correções gramaticais e ortográficas deste trabalho. Pom, muito obrigada pela paciência para ler praticamente toda esta dissertação.

Ao meu namorado, Johnny Arruda de Lima, pelo amor, apoio, compreensão, paciência e auxílio, principalmente nas etapas finais dessa pesquisa. Obrigada por me acalmar nos momentos de desespero, por me consolar nos momentos de tristeza e também por estar ao meu lado comemorando essa conquista.

À equipe do Laboratório de Imunologia Clínica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, especialmente à Fernanda Rodas Pires e Lisie Castro por me apresentarem o laboratório e me auxiliarem nos primeiros passos nesse local, e à Alcione Cavalheiro Faro Stief, Bárbara Vieira do Lago, Bruna Nepomuceno, Gabriela Alves Cesar, Grazielli Rocha de Rezende, Laís Queiroz Moraes, Larissa Bandeira,

Lívia Garcia Bertolacci, Lívia Lima, Marco Antonio Puga, Solange Zaluski, Tayana Tanaka e Vivianne Landgraf Castro, pelo auxílio na coleta de dados e vacinação, e na realização dos testes sorológicos e moleculares.

À minha amiga, Enf^a. Fernanda Queiroz, pelo auxílio na coleta de dados, vacinação, digitação do banco de dados e análise estatística.

Ao meu amigo, Enf. Wesley Cardoso, pelo auxílio na coleta de dados, vacinação e entrega dos resultados.

À prof^a. Dr^a Sheila Araujo Teles, por ter realizado a análise estatística dos dados desta pesquisa e por toda a atenção despendida para esclarecer minhas dúvidas.

Aos meus chefes e colegas de trabalho, por todo o apoio e compreensão durante o período de realização desta pesquisa, especialmente à Raquel e Vivian, que me auxiliaram no serviço, nos momentos que eu mais precisava.

À minha prima Cláudia, pela revisão do *Abstract*.

A todo o corpo docente e ao Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias FAMED/UFMS, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos meus colegas de turma do mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias FAMED/UFMS, pelo compartilhar de ideias, angústias e também pelos momentos de alegria.

Aos membros da banca de qualificação, Dr^a. Ana Rita Coimbra Motta de Castro, Dr^a. Bárbara Vieira do Lago e Dr^a. Ana Paula da Costa Marques, pelas relevantes contribuições, bem como aos membros da banca de defesa, Dr^a. Bárbara Vieira do Lago, Dr^a. Ana Paula da Costa Marques e Dr^a. Anamaria Mello Miranda Paniago, que prontamente aceitaram participar desse momento tão importante em minha vida.

A todas as manicures, pedicures e podólogos, pela receptividade e colaboração nas entrevistas e na coleta de sangue.

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (Fundect), por permitir a realização dessa pesquisa através do financiamento concedido.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho, a minha gratidão.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

RESUMO

A hepatite B é um importante problema de saúde pública mundial e tem como principal veículo de transmissão o sangue. Portanto, manicures/pedicures, que manipulam instrumentos perfurocortantes contaminados, apresentam risco de aquisição dessa infecção. O presente estudo foi realizado no período de dezembro de 2011 a dezembro de 2014, com o objetivo de caracterizar o perfil soropidemiológico e molecular da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) em manicures/pedicures em Campo Grande - MS. Os participantes do estudo foram entrevistados e submetidos à coleta de uma amostra de sangue para detecção dos marcadores sorológicos da infecção pelo HBV. Foram pesquisados os marcadores anti-HBc total, HBsAg e anti-HBs por meio de testes imunoenzimáticos. As amostras positivas para o HBsAg foram testadas para anti-HBc IgM, HBeAg e anti-HBe. Aquelas positivas para o anti-HBc total foram testadas para a presença de HBV-DNA, por meio da reação em cadeia da polimerase, para investigação da hepatite B oculta. Todas as amostras positivas para o HBV-DNA foram submetidas à análise do polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP) para a identificação do genótipo e subgenótipo viral. Um total de 514 manicures/pedicures participou do estudo. A soropositividade total para o vírus da hepatite B (anti-HBc total) foi de 5,6% (29/514) e a prevalência do marcador HBsAg foi de 0,4% (2/514). As amostras HBsAg positivas foram não reagentes para o anti-HBc IgM e para o HBeAg, mas foram reagentes para o anti-HBe. Não foi encontrado nenhum caso de hepatite B oculta e os genótipos e subgenótipos A1 e F1 foram identificados nas duas amostras positivas para o HBsAg. A análise estatística revelou associação significativa ($p \leq 0,05$) da infecção pelo HBV com o baixo nível de escolaridade, não ser natural de Mato Grosso do Sul e trabalhar na região central da cidade. Com relação à situação de imunização, a maioria dos profissionais 50,4% (259/514) estava susceptível à infecção e o marcador de imunidade vacinal (anti-HBs isolado) esteve presente em apenas 44% (226/514) das amostras analisadas. A baixa prevalência da hepatite B e a ausência de fatores de risco associados com a atividade profissional sugerem que risco de aquisição da infecção em manicures/pedicures não pode ser considerado maior do que para a população em geral.

Palavras-chaves: hepatite B; prevalência; HBV-DNA; manicures/pedicures.

ABSTRACT

Hepatitis B is an important global public health problem with the blood being the major vehicle for transmission. Therefore manicurists and pedicurists, who handle contaminated perforating-cutting instruments, face the risk of acquiring this disease. The present study was conducted from December 2011 to December 2014, with the aim of characterizing the serological and molecular profile of infection by the hepatitis B virus (HBV) in manicurists/pedicurists in Campo Grande, MS. The study participants were interviewed and blood samples were collected to detect serological markers of HBV infection. The markers, total anti-HBc, HBsAg and anti-HBs were studied by enzyme immunoassays. The positive samples for HBsAg were tested for anti-HBc IgM, HBeAg and anti-HBe. Those positive for anti-HBc were tested for HBV-DNA presence by the polymerase chain reaction to investigate the occult hepatitis B. All samples positive for HBV-DNA were submitted to Restriction fragment length polymorphism (RFLP) to identify the viral genotype and subgenotype. A total of 514 manicurists/pedicurists participated in the study. The total seropositivity to hepatitis B virus (anti-HBc) was 5.6% (29/514) and the prevalence of HBsAg marker was 0.4% (2/514). The HBsAg positive samples weren't reagents to the anti-HBc IgM and to the HBeAg, but they were reagent to the anti-HBe. No case of occult hepatitis B was found and the genotypes and subgenotypes identified in the two samples positive for HBsAg were A1 and F1. The statistical analysis revealed a significant association ($p \leq 0.05$) for the hepatitis B infection with a low level of education, not being a native of the state of Mato Grosso do Sul and working in the central region of the city. Regarding the immunization situation, the majority of professionals 50.4% (259/514) were susceptible to infection and the vaccine immunity marker (anti-HBs alone) was present only in 44% (226/514) of the samples. The low prevalence of hepatitis B and the lack of risk factors associated with professional activity suggest that the risk of acquiring the infection in manicurists/pedicurists can not be considered higher than the general population.

Keywords: hepatitis B; prevalence; HBV-DNA, manicurists/pedicurists.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação esquemática dos diferentes tipos de partículas do vírus da hepatite B, infecciosas e não infecciosas.....	26
Figura 2 - Diagrama esquemático do genoma e do mapa de transcrição do HBV....	27
Figura 3 - Ciclo de replicação do HBV.....	29
Figura 4 - Evolução típica da hepatite B aguda autolimitada.....	31
Figura 5 - Evolução típica da hepatite B crônica.....	31
Figura 6 - Prevalência do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e seus genótipos.....	37
Figura 7 - Distribuição dos genótipos do HBV em diferentes regiões do Brasil.....	39
Figura 8 – Mapa ilustrativo da divisão por distritos sanitários do município de Campo Grande – MS e quantidade de amostras coletadas em cada região (modificado), 2013.....	62
Figura 9 - Produtos da PCR da região pré-S/S digeridos pelas endonucleases de restrição BamHI, EcoRI e Stul (RFLP).....	69
Figura 10 - Aumento do número de indivíduos com o marcador de imunidade vacinal (anti-HBs isolado) conforme o número de doses de vacina recebidas relatadas pelas manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=290).....	71
Figura 11 - Formas de transmissão do HBV apontadas pelas manicures/pedicures, Campo Grande-MS, 2015 (n=336).....	72
Figura 12 - Categorias referentes às formas de prevenção da hepatite B apontadas pelas manicures/pedicures, Campo Grande-MS, 2015 (n=336).....	73

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Marcadores sorológicos comuns da infecção pelo HBV.....	33
Quadro 2 – Sequência dos <i>primers</i> utilizados na PCR-1, PCR-2, PCR-3 e PCR-4...	56
Quadro 3 - Perfis de RFLP definidos pela presença ou ausência de seis sítios de restrição na região pré-S/S.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos salões de beleza cadastrados junto à Vigilância Sanitária do município de Campo Grande-MS e número de amostras coletadas, conforme distritos sanitários.....	61
Tabela 2 - Características sociodemográficas das manicures/pedicures Campo Grande-MS, 2015 (n=514).....	63
Tabela 3 - Distribuição de profissionais por distrito sanitário, local de trabalho e características laborais das manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=514).....	64
Tabela 4 - Perfil sorológico das manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=514).....	65
Tabela 5 - Análise univariada de potenciais fatores de risco para exposição ao HBV em manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=288).....	66
Tabela 6 - Análise multivariada dos fatores de risco associados à exposição ao HBV em manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=288).....	68
Tabela 7 – Características sorológicas e moleculares das amostras HBsAg positivas em manicures/pedicures, Campo Grande-MS (n=2).....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIHPEC – Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos

ACG – do inglês *American College of Gastroenterology* (Colégio Americano de Gastroenterologia)

ALT – alanina aminotransferase

AST – aspartato aminotransferase

AIDS – do inglês *acquired immune deficiency syndrome* (Síndrome da imunodeficiência adquirida)

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Anti-HBc – Anticorpo contra o antígeno do núcleo do vírus da hepatite B

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

AuAg - Antígeno Austrália

BamHI - endonuclease de restrição sintetizada pela bactéria *Bacillus amyloliquefaciens H*

CCBS – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

cccDNA - do inglês *covalently closed circular DNA* (DNA circular covalentemente fechado)

CDC – do inglês *Centers for Disease Control and Prevention* (Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos)

DNA – do inglês *Deoxyribonucleic acid* (Ácido Desoxirribonucléico)

DR - do inglês *Direct repeat sequence* (regiões de sequências curtas repetidas)

EcoRI - endonuclease de restrição sintetizada pela bactéria *Escherichia coli*

ELISA- do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Ensaio de Imunoabsorção Ligado a Enzima)

EPI – Equipamento de Proteção Individual

FAMED – Faculdade de Medicina

HBcAg – Antígeno do núcleo do vírus da hepatite B

HBeAg – Antígeno “e” do vírus da hepatite B

HBsAg – Antígeno de superfície do vírus da hepatite B

HBV-DNA - DNA do vírus da hepatite B

HBV – do inglês *hepatitis B virus* (Vírus da Hepatite B)

HCV – do inglês *hepatitis C virus* (Vírus da Hepatite C)

HIV – do inglês *human immunodeficiency virus* (Vírus da Imunodeficiência Humana)

IgG – Imunoglobulina da classe G

IgM – Imunoglobulina da classe M

MS – Mato Grosso do Sul

mUI/mL – Miliunidade internacional por mililitros

Nº – Número

ORF - do inglês *open reading frame* (região de leitura aberta)

pb - Pares de base

PBA - do inglês *Professional Beauty Association* (Associação dos profissionais da beleza)

PCR- do inglês *polymerase chain reaction* (Reação em Cadeira da Polimerase)

pgRNA - do inglês *pregenomic RNA* (RNA pré-genômico)

PNI – Programa Nacional de Imunização

PPGDIP – Programa de pós-graduação em doenças infecciosas e parasitárias

rcDNA - do inglês *relaxed circular DNA* (DNA circular relaxado)

SBIIm – Sociedade Brasileira de Imunizações

SES – Secretaria de Estado da Saúde

SESAU – Secretaria Municipal de Saúde Pública de Campo Grande - MS

SH-Ag - Antígeno de soros de indivíduos com hepatite

SP – São Paulo

StuI - endonuclease de restrição sintetizada pela bactéria *Streptomyces tubercidicus*

S/ Inf. – Sem informação

TBE - Tris/Borato de Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UV - Ultravioleta

°C - Graus Celsius

% – Percentagem

(+) – Reagente/positivo

(-) – Não reagente/negativo

≥ – Igual ou maior

≤ - Igual ou menor

μL - Microlitro

® - Marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 HEPATITE B: FATOS HISTÓRICOS IMPORTANTES	21
2.2 BIOLOGIA DO VÍRUS DA HEPATITE B (HBV)	24
2.3 ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B	29
2.4 HEPATITE B OCULTA	33
2.5 EPIDEMIOLOGIA DA HEPATITE B	35
2.6 VACINAÇÃO CONTRA HEPATITE B	39
2.7 A EXPANSÃO DO MERCADO DE BELEZA NO BRASIL E NO MUNDO	41
2.8 A PROFISSÃO DE MANICURE/PEDICURE	42
3 OBJETIVOS	47
3.1 OBJETIVO GERAL	47
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4 MATERIAIS E MÉTODOS	48
4.1 POPULAÇÃO ALVO E AMOSTRA	48
4.1.1 Critérios de Inclusão	48
4.1.2 Critérios de Exclusão	48
4.2 COLETA DE DADOS	49
4.3 TESTES LABORATORIAIS	50
4.3.1 Testes sorológicos imunoenzimáticos	50
4.3.1.1 Detecção do HBsAg	50
4.3.1.2 Detecção do anti-HBc total	51
4.3.1.3 Detecção do anti-HBs	52
4.3.1.4 Detecção do HBeAg	52
4.3.1.5 Detecção do anti-HBe	53
4.3.1.6 Detecção do anti-HBc IgM	53
4.5.2 Testes moleculares	54
4.5.2.1 Extração do HBV-DNA	55
4.5.2.2 Amplificação do HBV-DNA por reação em cadeia da polimerase (PCR)	55
4.5.2.3 Detecção do genótipo/subgenótipo nas amostras HBV-DNA positivas	57
4.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO	59
4.4.1 Variáveis de Predição	59
4.4.2 Variáveis de Desfecho	59
4.5 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	59

4.6 ASPECTOS ÉTICOS.....	60
4.7 ENTREGA DOS RESULTADOS.....	60
5 RESULTADOS.....	61
5.1 DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS E LABORAIS DA POPULAÇÃO ESTUDADA	61
5.2 A INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B NA POPULAÇÃO ESTUDADA	64
5.3 FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO HBV.....	65
5.4 CARACTERÍSTICAS SOROLÓGICAS E MOLECULARES DOS PACIENTES HBsAg POSITIVOS.....	68
5.5 INFECÇÃO OCULTA PELO HBV	70
5.6 IMUNIZAÇÃO DOS PROFISSIONAIS	70
5.7 CONHECIMENTO EM RELAÇÃO À TRANSMISSÃO E PREVENÇÃO DA HEPATITE B.....	71
5.8 PROCEDIMENTOS DE BIOSSEGURANÇA REALIZADOS NO EXERCÍCIO DA PROFISSÃO	73
6 DISCUSSÃO	75
7 CONCLUSÕES	82
REFERÊNCIAS.....	83
APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO ESTRUTURADO	96
APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	99
ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO.....	103

1 INTRODUÇÃO

A hepatite B ainda representa um importante problema de saúde pública a despeito do impacto positivo dos programas de vacinação em massa, realizados ao redor do mundo. Essa doença constitui uma das principais causas de hepatocarcinoma e cirrose, sendo responsável por aproximadamente 600 mil mortes anualmente (KWON; LEE, 2011; LAVANCHY, 2012). O vírus da hepatite B (HBV) tem o sangue como o principal veículo de transmissão; no entanto, partículas virais estão presentes em grandes quantidades em fluidos corpóreos como sêmen, secreção vaginal e saliva, que também podem transmitir a infecção (KIDD-LJUNGGREN *et al.*, 2006; MEO *et al.*, 2010; KNOW; LEE, 2011).

Em cerca de 30% dos casos de hepatite B, nos países em desenvolvimento, não se conhece a forma pela qual o indivíduo adquiriu a doença. Portanto, a investigação de circunstâncias que poderiam contribuir na transmissão do HBV continua sendo um importante campo de pesquisa (CDC, 2007).

O risco de aquisição de doenças transmitidas pelo sangue já foi apontado em profissões que manipulam instrumentos perfurocortantes (LOPES *et al.*, 2001; CIORLIA; ZANETTA, 2005; BATISTA *et al.*, 2006; ATTAULLAH *et al.*, 2011). Porém, a real contribuição de algumas atividades na transmissão de doenças ainda é desconhecida. Poucos estudos foram realizados com a profissão de manicure/pedicure e, portanto, não é possível determinar o impacto desta atividade com relação às doenças transmissíveis (OLIVEIRA; FOCACCIA, 2010; GARBACCIO; OLIVEIRA, 2014).

Manicures e pedicures se dedicam a cuidar da aparência e do tratamento das mãos e pés, respectivamente, e desenvolvem suas atividades aparando, polindo e esmaltando as unhas. No Brasil, ocorre também a remoção das cutículas das unhas, o que constitui um risco de contato com sangue (FEUZER; NOVOTNY; WATANABE, 2008; WEISZFLOG, 2009). Em 1926, uma publicação da revista *'The Lancet'* relatou que a prestação de serviços de cuidado com as unhas representava um risco para transmissão de doenças veiculadas pelo sangue, dentre elas a sífilis. No entanto, naquela época, o vírus da hepatite B ainda era desconhecido (DANGERS..., 1926).

Além dos riscos inerentes à manipulação de perfurocortantes, soma-se o fato de que manicures/pedicures podem exercer a profissão sem a exigência de formação em biossegurança, e nem sempre as normas sanitárias são seguidas de

forma rigorosa. Assim, o risco de exposição a patógenos durante o exercício profissional torna-se ainda maior (GIR; GESSOLO, 1998; BRITTO, 2004; ALCÂNTARA, 2007).

É possível destacar também que o processo de supervalorização da beleza em todo o mundo proporcionou um crescimento exorbitante no número de estabelecimentos destinados a tratamentos estéticos (INDUSTRY Fact Sheet, 2001; SAMPAIO; FERREIRA, 2009; PBA, 2014). Nesse contexto, foram crescentes os atrativos relacionados com a atividade de manicure/pedicure, como oportunidade de emprego, autonomia e independência financeira, o que, consequentemente, também refletiu no aumento do número de pessoas expostas ao risco de aquisição de doenças nessa profissão (GIR; GESSOLO, 1998; ALCÂNTARA, 2007; ACG, 2011).

Diante do exposto, o presente estudo se propõe a investigar a prevalência da infecção causada pelo vírus da hepatite B em manicures/pedicures em Campo Grande – MS e identificar os fatores de risco de exposição ao vírus, bem como verificar a situação de imunização contra hepatite B nestes profissionais, investigar a presença de infecção oculta e identificar os principais genótipos/subgenótipos do HBV circulantes na população estudada. Os dados obtidos com a realização desta pesquisa contribuirão para maiores esclarecimentos sobre as formas de transmissão da hepatite B. Fornecerão, ainda, informações importantes sobre a epidemiologia da doença que poderão conduzir ações de prevenção e controle da infecção nessa população, como também nos clientes desse serviço.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HEPATITE B: FATOS HISTÓRICOS IMPORTANTES

Não existe qualquer registro histórico, arqueológico e paleontológico para a maior parte dos vírus conhecidos atualmente (SIMMONDS, 2001). No entanto, informações contidas na literatura chinesa há mais de cinco mil anos e na babilônica há cerca de 2500 anos relatam casos e surtos de icterícia de possível transmissão fecal-oral. A descrição mais antiga de uma provável epidemia de hepatite, sem qualquer relação com o agente etiológico, é atribuída a Hipócrates, há cerca de 2500 anos. Com base nesses registros históricos e na evolução dos conhecimentos acerca das características da doença e do seu agente causador, a maior parte desses surtos provavelmente aconteceu devido ao que hoje conhecemos como hepatite A (REUBEN, 2002; GRAMMATICOS; DIAMANTIS, 2008; FONSECA, 2010; DATTA *et al.*, 2012).

O primeiro indicativo de uma epidemia que poderia ter sido causada pelo vírus da hepatite B teria acontecido em Berme, Alemanha, o que foi relatado por Lürmann em 1885, devido à ocorrência de uma icterícia epidêmica após uma campanha de vacinação contra varíola. Mais tarde, em 1942, foi relatado um surto de hepatite de grandes proporções após vacinação contra febre amarela em servidores do exército americano, com 50 mil casos clínicos (KRUGMAN, 1971; SEEFF, 1988; REUBEN, 2002; ALTER, 2003). Porém, em tais epidemias não se conhecia o agente causador e nem as formas de transmissão da doença, o que contribuiu para a disseminação da infecção por meio de intervenções médicas e transfusões de sangue (ALTER *et al.*, 1975). Apesar da falta de conhecimento sobre a causa dessas epidemias, em 1947, MacCallum já sugeriu o nome de hepatite pelo vírus B para as formas transmitidas pela via sanguínea, com a finalidade de diferenciar a hepatite A, transmitida preferencialmente pela via fecal-oral. (INFECTIVE..., 1947).

A descoberta do vírus da hepatite B aconteceu por acaso, com a detecção do Antígeno Austrália (AuAg) pelo médico e geneticista americano Baruch Blumberg, enquanto estudava marcadores genéticos de susceptibilidade para o câncer, no período de 1950 a 1960. Possuía amostras de soro de todo o mundo, com uma ampla variedade étnica e, utilizando uma abordagem imunológica, notou que os

indivíduos que haviam recebido produtos derivados do sangue de um grande número de doadores, apresentavam anticorpos contra proteínas "polimórficas" do soro. Harvey Alter, colega de trabalho de Blumberg, percebeu que tais proteínas se tratavam de um novo antígeno que foi nomeado antígeno Austrália (AuAg), por ser bastante comum em soro de aborígenes australianos (BLUMBERG, SUTNICK e LONDON, 1968; BLUMBERG, 1977; REUBEN, 2002; ALTER, 2003).

Em 1967, Blumberg publicou o primeiro artigo demonstrando a relação entre a presença do AuAg e a hepatite B. Paralelo a esses fatos, Alfred Prince, que procurava especificamente um "antígeno de soros de indivíduos com hepatite (SH-Ag)" também reportou a descoberta de um antígeno viral, em 1968. Posteriormente foi comprovado que o AuAg e o SH-Ag se tratavam do mesmo antígeno, que mais tarde passaria a ser denominado antígeno de superfície do vírus da hepatite B - HBsAg (BLUMBERG; SUTNICK; LONDON, 1968; KRUGMAN, 1971).

Em 1970, quando ainda não era claro o que exatamente seria o antígeno Austrália (BLUMBERG; SUTNICK; LONDON, 1968; COSSART, 1971), Dane identificou uma partícula de 42 nm de diâmetro, no soro de pacientes com a presença do AuAg associado a hepatite B. A partícula descoberta por Dane possuía aspecto típico de um vírus, com estrutura interna de simetria icosaédrica a semelhança de um nucleocapsídeo, rodeado por um revestimento exterior. Sugeriu ainda que as pequenas partículas do antígeno (AuAg) seriam produzidas a partir do revestimento da partícula maior. Porém, Dane não pode comprovar sua hipótese, já que naquela época, assim como atualmente ainda não é possível cultivar satisfatoriamente esse vírus em laboratório (DANE; CAMERON; BRIGGS, 1970). No entanto, pesquisas realizadas por Almeida *et al.*, em 1971, fortaleceram a ideia de que a partícula de Dane seria o atual vírus causador da hepatite B (ALMEIDA; RUBENSTEIN; STOTT, 1971). Posteriormente, com o avanço dos métodos de estudo, foi possível confirmar que a doença era causada por um vírus de DNA (SUMMERS, O'CONNELL, MILLMAN, 1975; LANDERS, GREENBERG, ROBINSON, 1977; CHARNAY *et al.*, 1979).

A descoberta inesperada do antígeno Austrália ampliou a realização de pesquisas relacionadas à hepatite B e representou um importante passo para diversos avanços ocorridos nesta área, como: a prevenção da hepatite pós-transfusional, o desenvolvimento de uma vacina, a prevenção do carcinoma

hepatocelular, e estabeleceu a base para a descoberta da hepatite não-A, não-B e, por fim, do vírus da hepatite C (ALTER, 2003).

Em 1971, Le Bouvier descobriu nos subtipos do antígeno Austrália (mais tarde denominado HBsAg), a presença dos determinantes antigênicos 'd' ou 'y', que eram mutuamente exclusivos e possuíam em comum o determinante 'a'. Além desses, Bancroft, identificou os determinantes 'w' ou 'r' também mutuamente exclusivos (LE BOUVIER, 1973; GERLICH, 2013). Essa foi a primeira variabilidade conhecida do HBV, o que possibilitou, posteriormente, a classificação das variantes antigênicas do vírus em nove subtipos diferentes: ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adr_q- e adr_q+. Essa classificação passou a ser utilizada com o intuito de se conhecer as rotas de transmissão do vírus e de estudar suas possíveis mutações. Mais tarde, por comparação das sequências nucleotídicas, as variantes de HBV foram classificadas em genótipos (GASPAR; YOSHIDA, 1987; OKAMOTO *et al.*, 1987; ZEHENDER *et al.*, 2013).

Ainda em 1971, Hirschman realizou pela primeira vez a detecção do DNA do vírus da hepatite B (HIRSCHMAN; VERNACE; SCHAFFNER, 1971), confirmada em 1973 por Robinson, quando demonstrou a presença de DNA polimerase nas partículas de Dane, purificadas a partir do plasma de portadores crônicos do antígeno HBsAg do vírus da hepatite B (ROBINSON; CLAYTON; GREENMAN, 1974).

Com a caracterização do HBsAg, foi desenvolvida a primeira técnica para a realização do diagnóstico sorológico da infecção pelo vírus da hepatite B. A técnica de *Ausria-125*, que realizava a marcação dos anticorpos com enzima e depois com quimioluminescência, representou um grande passo a despeito da utilização de radioatividade. Na sequência, foram desenvolvidos métodos de detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite B sendo possível determinar a presença de infecção e a condição de resposta imune de um indivíduo em diagnósticos de rotina desde o início dos anos 80 (GERLICH, 2013).

Posteriormente, ficou claro que somente a presença do antígeno do envelope viral (HBsAg) não permitia distinguir o grau de severidade da infecção e, em 1972, Magnius descobriu um marcador adicional nos soros positivos para HBsAg, que ajudou a distinguir características importantes da evolução da doença, que foi denominado antígeno 'e' do vírus da hepatite B (HBeAg). Em 1974, detectou-se também a presença do anticorpo contra o antígeno e (anti-HBe) (MAGNIUS, 1975).

Todavia, os avanços em relação ao tratamento da doença, não progrediram na mesma proporção dos conhecimentos sobre a biologia do vírus e técnicas diagnósticas para a detecção dos marcadores sorológicos, o que evidenciou a importância dos estudos sobre as medidas de prevenção. A ideia de uma vacina foi sugerida por Blumberg em 1968 mesmo antes da descrição da partícula de Dane, (BLUMBERG, 1977), porém, somente em 1980 foi desenvolvida uma vacina contra a hepatite B, a partir do plasma dos portadores do HBsAg, cuja taxa de proteção atingia 96% após a terceira dose (SZMUNESS *et al.*, 1981). Em 1979, a clonagem do genoma do HBV e a identificação do gene que codifica o HBsAg possibilitaram a produção de uma vacina recombinante, o que eliminou os riscos de transmissão de doenças por meio da vacina de plasma. Em 1986, essa vacina passou a ser produzida a partir da inserção de um plasmídeo com o gene que codifica o HBsAg, em cultura de leveduras e tem sido utilizada até os dias atuais (OHMURA *et al.*, 1987; STEPHENNE, 1990).

Apesar dos avanços científicos e tecnológicos ao longo dos anos, a hepatite B continua a representar um importante problema de saúde pública mundial, causando, ainda hoje, controvérsias devido à imprevisibilidade acerca das suas manifestações. Dentre as indagações que ainda afligem estão: a incapacidade de atingir a cura completa da infecção crônica, a dificuldade no diagnóstico dos casos de hepatite B oculta, seu potencial de reativação e a proteção incompleta da vacina contra os mecanismos de escape das cepas mutantes e heterólogos do HBV (GERLICH, 2013).

2.2 BIOLOGIA DO VÍRUS DA HEPATITE B (HBV)

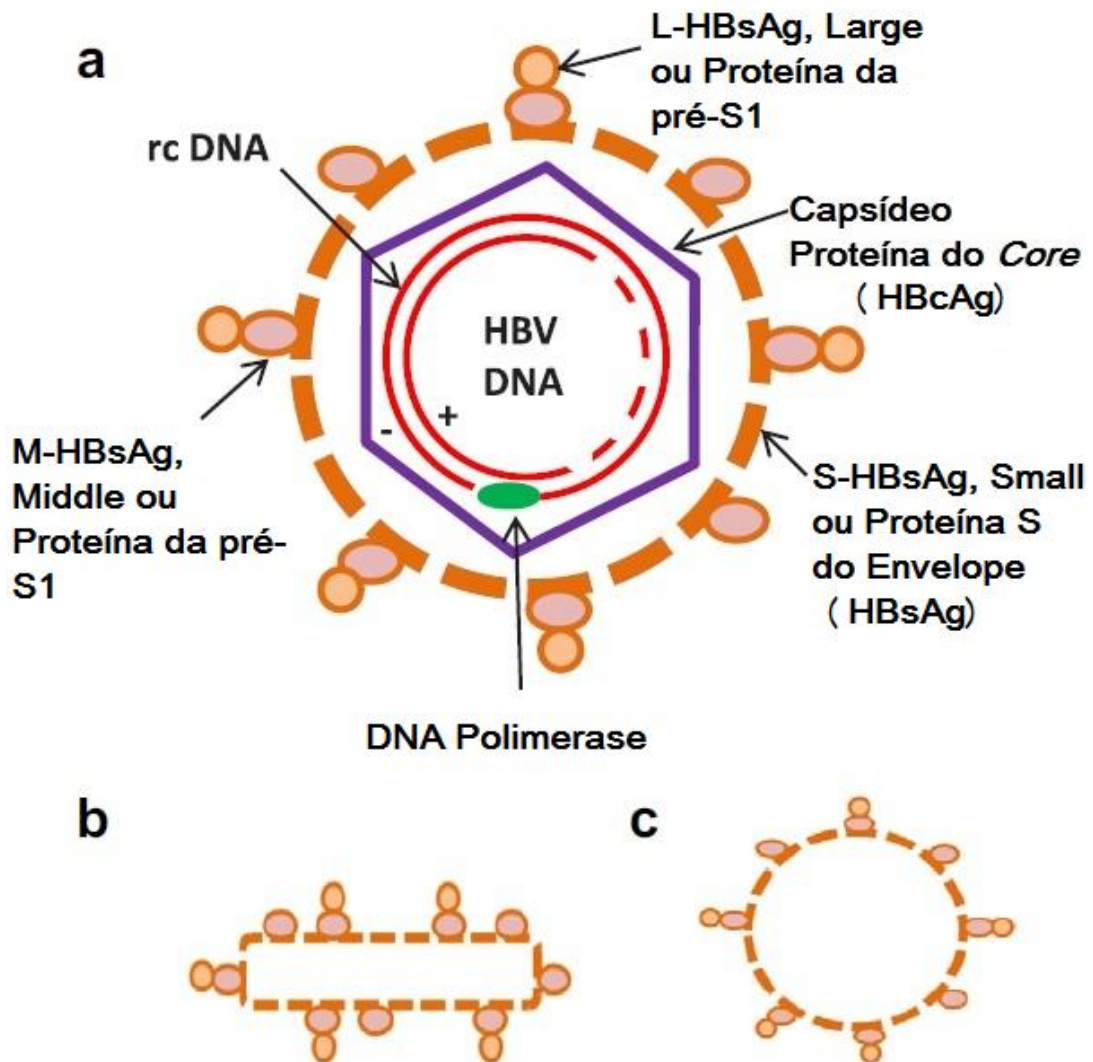
O HBV é um vírus que apresenta hepatotropismo, pertencente à família *Hepadnaviridae* e é classificado no gênero *Orthohepadnavirus* que infecta mamíferos. Possui inúmeras características que o tornam distinto de outros vírus de DNA, como aspectos da morfologia, organização e replicação do genoma (GANEM; PRINCE, 2004; DATTA *et al.*, 2012).

Trata-se de um dos menores vírus que infectam o homem, sendo que as partículas virais de 42 nm apresentam um envelope lipoproteico, composto pelo antígeno HBsAg, que circunda o nucleocapsídeo formado pelo antígeno do core HBcAg. No interior do nucleocapsídeo encontra-se o genoma viral e uma DNA

polimerase que é responsável pela síntese do DNA viral nas células infectadas (BUSCH; THIMME, 2015). O genoma do HBV possui aproximadamente 3.200 pb, sendo composto por uma molécula de DNA circular de fita parcialmente dupla (DATTA *et al.*, 2012; GERLICH, 2013).

A Figura 1 representa os diferentes tipos de partículas virais produzidas pelo HBV. A partícula 'a' é completa e infecciosa (partícula de Dane), e sua estrutura já foi descrita anteriormente. As partículas 'b' e 'c' não são infecciosas e são compostas apenas pelo envelope externo que é constituído pelo antígeno de superfície do vírus (HBsAg). A partícula 'b' filamentosa possui largura de 22 nm e comprimento variável; a partícula 'c' é esférica, com diâmetro de 20 nm. Essas duas partículas, vazias e compostas exclusivamente de HBsAg, estão em excesso no soro de indivíduos infectados, 1.000 a 100.000 vezes a mais, quando comparadas com a partícula de Dane. Assim, quando o HBsAg é detectado nos testes sorológicos, esse marcador é proveniente principalmente das partículas não infecciosas (BLUMBERG, 1977; LIANG, 2009, CHAI *et al.*, 2008).

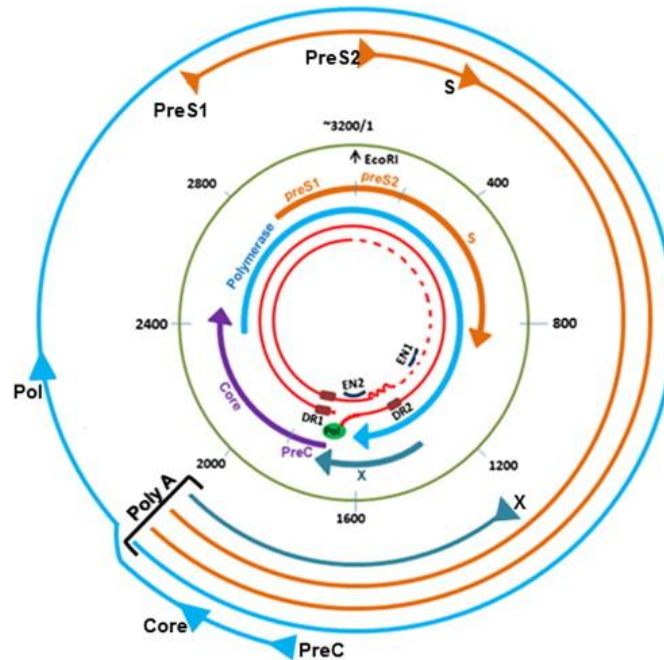
Figura 1 - Representação esquemática dos diferentes tipos de partículas do vírus da hepatite B, infecciosas e não infecciosas.



Fonte: Adaptado de Datta *et al.* (2012).

O genoma viral possui duas fitas de DNA assimétricas, sendo que a fita de maior extensão e polaridade negativa é completa, enquanto a fita de menor extensão é incompleta, possui polaridade positiva e está localizada na parte central do diagrama representado na Figura 2 (em vermelho). Na fita positiva, mais curta, a posição terminal da extremidade 5' é fixa, enquanto a extremidade 3' é variável, sendo portanto uma fita de tamanho não permanente, que pode corresponder de 50% a 90% do comprimento da fita complementar, de polaridade negativa (GANEM; PRINCE, 2004; FIELDS, 2007; DATTA *et al.*, 2012; GERLICH, 2013).

Figura 2 - Diagrama esquemático do genoma e do mapa de transcrição do HBV



Fonte: Datta *et al.* (2012).

A extremidade de ambas as fitas possuem regiões de sequências curtas repetidas (DRs), compostas por 11 nucleotídeos, que são cruciais para iniciar a replicação viral. A extremidade 5' da cadeia de DNA negativa codifica a primeira DR, denominada "DR1", enquanto a cadeia de DNA positiva inicia-se com outra DR, denominada "DR2". A cadeia negativa possui também uma proteína terminal, que é uma parte da polimerase viral, covalentemente ligada à sua extremidade 5'. Já a cadeia positiva possui ligado a sua extremidade 5' um oligorribonucleotídeo (DATTA *et al.*, 2012).

A organização genética desse pequeno genoma é complexa: contêm quatro regiões de leitura aberta (ORFs), dois elementos potenciadores para regulação da transcrição do RNA viral, um sinal de poliadenilação e diversos sinais que são requeridos para replicação do DNA (FIELDS, 2007).

O genoma possui quatro genes principais que se organizam em regiões de leitura sobrepostas. Os genes pré-S/S, pré-C/C e X encontram-se sobrepostos, total ou em parte, ao gene P da polimerase, que é a maior região de leitura aberta. O gene P codifica para a proteína polimerase multifuncional, que possui função de DNA polimerase, transcriptase reversa e RNaseH. O gene pré-C/C codifica o antígeno do core (HBcAg) e o antígeno e (HBeAg). Os três genes pré-S1, pré-S2 e S codificam as proteínas do envelope (HBsAg) e o gene X codifica a proteína

acessória X. A sobreposição dessas regiões do genoma aumenta a capacidade de síntese proteica em 50% do que é o esperado para sequência total de nucleotídeos, fazendo com que o vírus da hepatite B produza mais proteína por nucleotídeo do que qualquer outro vírus conhecido (GANEM; PRINCE, 2004; CHANG; LEWIN, 2007).

A variação desse genoma faz com que o vírus seja classificado em genótipos e subgenótipos. A classificação em diferentes genótipos considera uma divergência acima de 8% na sequência total de nucleotídeos e em subgenótipos, uma diferença entre 4% e 8%. Já foram identificados 10 genótipos diferentes do HBV, denominados de A a J, sendo que os genótipos de A-D, F, H e I são classificados também em subgenótipos. Esses genótipos e subgenótipos possuem distribuição geográfica variável, portanto, essa classificação pode ser utilizada para esclarecer e delinear rotas de disseminação e de transmissão do HBV (TATEMATSU *et al.*, 2009; YU *et al.*, 2010; KRAMVIS, 2014; ZEHENDER *et al.*, 2014).

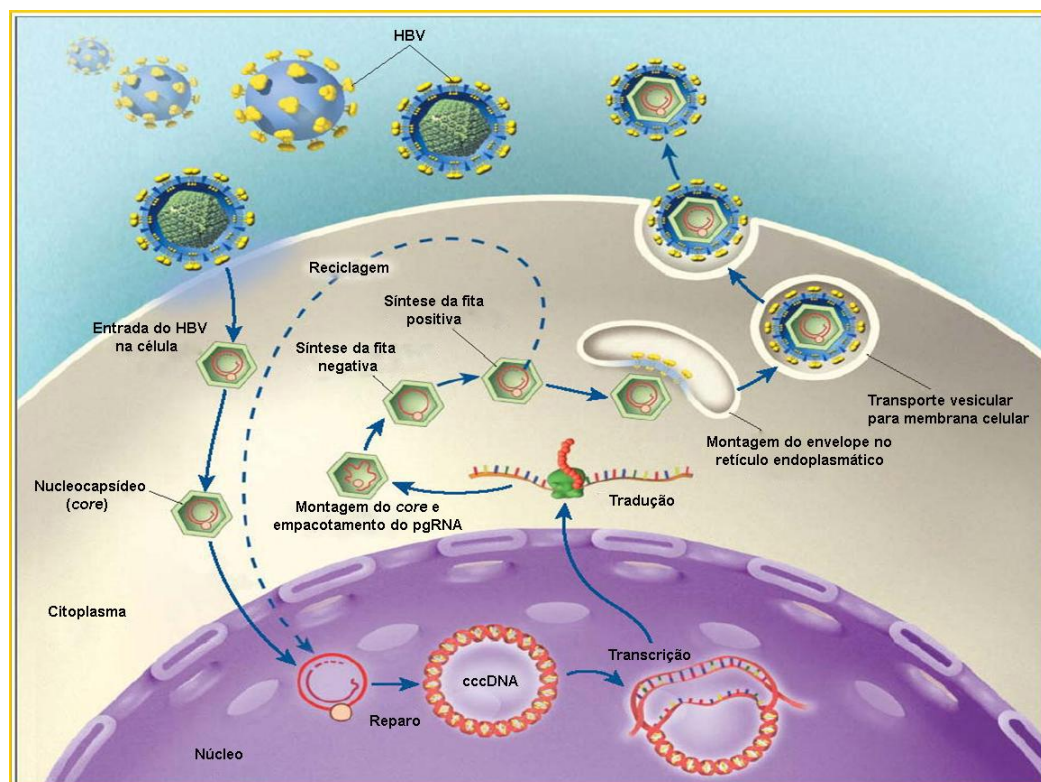
No ciclo de vida do hepadnavírus, a síntese do DNA ocorre por transcrição reversa a partir de um RNA intermediário pré-genômico. No entanto, ainda existem algumas limitações que dificultam a total compreensão de alguns eventos, em decorrência de dificuldades na obtenção de linhas celulares que sejam susceptíveis à infecção por hepadnavírus para acompanhamento do ciclo viral completo (SEEGER; MASON, 2000; BOURNE *et al.*, 2008; KOTT; KÖNIG; GLEBE, 2010; SCHULZE *et al.*, 2012; SELZER; KATEN; ZLOTNICK, 2014; YANG *et al.*, 2014).

A replicação do genoma viral se inicia a partir da adsorção e penetração das partículas virais nos hepatócitos. Admite-se que a proteína do envelope viral, codificada pela região Pré-S1 do genoma, é essencial para a adsorção do vírus na célula hospedeira. A entrada ocorre por meio de fusão do envelope com a membrana da célula e, após a perda do capsídeo no citoplasma, a multiplicação do DNA ocorre no interior do núcleo da célula infectada (XIE *et al.*, 2010; NORTON, 2012).

O genoma de DNA de cadeia parcialmente dupla, circular, não covalentemente fechado, possui cerca de 3,2 Kb. No núcleo do hepatócito, o genoma é convertido em um DNA de cadeia dupla completa, circular covalentemente fechado, semelhante a um plasmídeo, denominado de cccDNA. A partir do cccDNA, vários RNAs genômicos e subgenômicos são transcritos pela RNA polimerase celular II. A partir desses RNAs, o RNA pré-genômico (pgRNA) é envolvido em

cápsides progênicas, onde é reversamente transcrito em DNA pela polimerase viral (proteína P), na função de transcriptase reversa. Os DNAs recém- transcritos, mesmo no interior do nucleocapsídeo, podem ser utilizados para a manutenção da infecção intracelular pelo recomeço do ciclo com nova síntese de cccDNA, ou serem envolvidos pelo envelope viral e libertados a partir da célula como *virions* (BECK; NASSAL, 2007; WEI *et al.*, 2010; LUCIFORA; ZOULIM, 2011). A Figura 3 demonstra a replicação do vírus.

Figura 3 - Ciclo de replicação do HBV



Fonte: Adaptado de Ganem; Prince (2004).

2.3 ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B

O ciclo de replicação do vírus da hepatite B não é diretamente citotóxico para as células infectadas. Por isso, muitos portadores de HBV são assintomáticos e apresentam lesão hepática mínima, apesar de extensa e contínua replicação intra-hepática do vírus. Acredita-se que a resposta imune do hospedeiro aos antígenos virais nos hepatócitos infectados seja a principal determinante da lesão

hepatocelular (GANEM; PRINCE, 2004; PUNGPAPONG; KIM; POTERUCHA, 2007). A infecção pode resultar, portanto, em hepatite subclínica ou assintomática, hepatite aguda autolimitada, ou hepatite fulminante. Pessoas infectadas pelo HBV podem também desenvolver hepatite B crônica, que pode levar à cirrose e ao carcinoma hepatocelular (SHEPARD *et al.*, 2006).

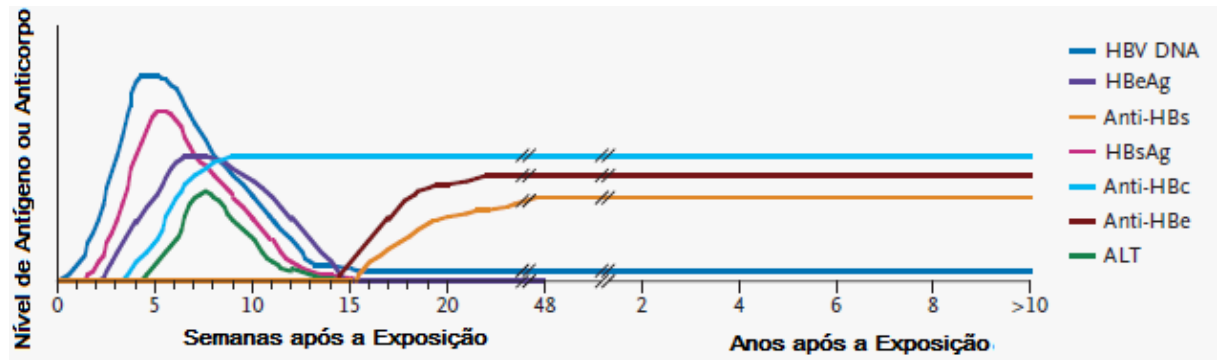
Cerca de dois terços dos indivíduos adultos com hepatite B aguda apresentam a forma leve da doença, assintomática e subclínica, que geralmente passa despercebida. Os demais, desenvolvem sintomas clínicos e sinais de hepatite, que variam de náuseas e fadiga a sintomas mais acentuados como icterícia e, raramente, a insuficiência hepática aguda (KAO, 2008; LIANG, 2009).

A Figura 4 representa a evolução típica da hepatite B aguda. O HBV-DNA, seguido pouco depois pelo HBsAg e HBeAg são os primeiros marcadores virais detectados no soro. HBeAg se correlaciona com a presença de níveis elevados de replicação e infectividade. Dentro de algumas semanas do aparecimento dos marcadores virais, os níveis séricos de alanina e aspartato aminotransferase (ALT, AST) começam a subir e a icterícia pode aparecer. O HBeAg é normalmente neutralizado no auge da doença clínica, enquanto HBsAg e HBV DNA geralmente persistem no soro durante as manifestações dos sintomas, sendo eliminados com a recuperação (GANEM; PRINCE, 2004; FONSECA, 2007).

Os anticorpos para as proteínas do HBV surgem em diferentes padrões durante a hepatite aguda B. O anticorpo para HBcAg (anti-HBc) geralmente aparece pouco antes do início da doença clínica, sendo o anticorpo inicial a imunoglobulina M (IgM), e, em seguida, seus títulos declinam e surgem os níveis de anti-HBc IgG. O anticorpo para o antígeno “e” (anti-HBe) geralmente aparece logo após a diminuição do HBeAg e, muitas vezes, reflete uma redução no nível de viremia. Assim, a diminuição do HBeAg e a positividade para o anti-HBe normalmente é considerada uma condição favorável, indicando o início da recuperação (SHEPARD *et al.*, 2006; LIANG, 2009). No entanto, em alguns casos de mutações na região pré-core e core do genoma do HBV, a presença do anti-HBe pode não indicar convalescença, pois o HBV-DNA continua sendo detectado em grande quantidade (CHU *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2011). O anti-HBs, anticorpo para o HBsAg, surge tardiamente na infecção, geralmente durante a recuperação ou convalescença após o desaparecimento HBsAg. O anti-HBs persiste após a recuperação, sendo o anticorpo associado à imunidade contra o HBV. No entanto, entre 10% e 15% dos

pacientes que se recuperam da hepatite B não desenvolvem anti-HBs e podem apresentar o anti-HBc isolado como o único marcador de infecção anterior (GANEM; PRINCE, 2004; SHEPARD *et al.*, 2006; LIANG, 2009).

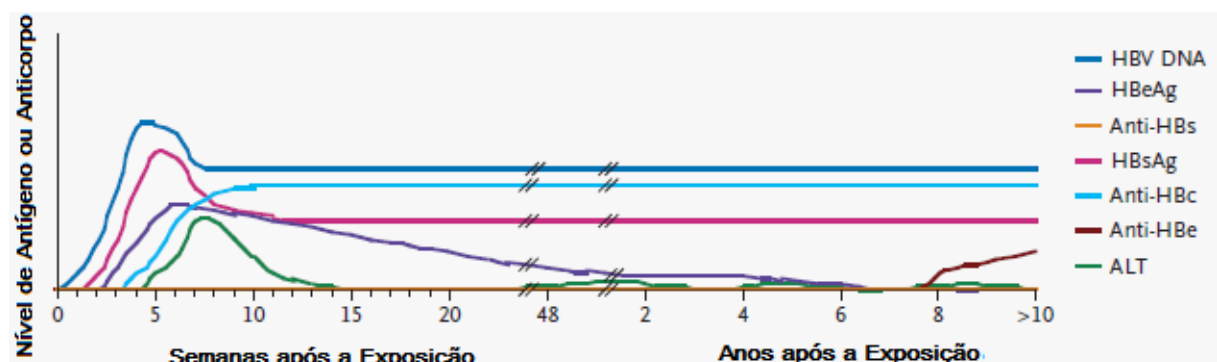
Figura 4 - Evolução típica da hepatite B aguda autolimitada



Fonte: Adaptado de Ganem; Prince (2004).

Pacientes que desenvolvem a hepatite B crônica (Figura 5) têm um padrão de marcadores sorológicos inicial similar, com aparecimento do HBV-DNA, HBsAg, HBeAg e anti-HBc. Nesses indivíduos, no entanto, a replicação viral persiste e os marcadores HBsAg, HBeAg e HBV-DNA continuam detectáveis no soro, muitas vezes em títulos elevados. O curso subsequente da hepatite B crônica é bastante variável. A maioria das pessoas permanecem HBsAg-positivos por anos, ou até durante toda a vida, e tem graus variáveis de lesão hepática (hepatite crônica), que pode levar a fibrose significativa e cirrose. As pessoas com infecção crônica pelo HBV também possuem maior risco para desenvolver carcinoma hepatocelular (GANEM; PRINCE, 2004; FONSECA, 2007; PUNGPAPONG; KIM; POTERUCHA, 2007).

Figura 5 - Evolução típica da hepatite B crônica



Fonte: Adaptado de Ganem; Prince (2004).

Até a década de 1990, acreditava-se que o vírus da hepatite B era completamente eliminado naqueles indivíduos que haviam se recuperado de uma infecção aguda. Entretanto, com o desenvolvimento de testes moleculares, sensíveis para a detecção de HBV-DNA, verificou-se que uma pequena quantidade do genoma do vírus pode ser identificada, no fígado ou soro, até 10 anos após a recuperação da infecção, mesmo com o desaparecimento dos antígenos virais e o aparecimento de anticorpos e linfócitos T citotóxicos. Isso sugere que o HBV raramente é erradicado por completo após a recuperação da infecção aguda, o que poderia explicar vários relatos de reativação e replicação do vírus em pessoas com marcadores sorológicos de recuperação da doença, que receberam quimioterapia ou imunossupressão após transplante de órgãos (PUNGPAPONG; KIM; POTERUCHA, 2007; KAO, 2008).

O diagnóstico sorológico da infecção pelo vírus da hepatite B é realizado por meio de testes imunoenzimáticos para a detecção de antígenos e anticorpos, além de testes moleculares para a detecção do genoma viral. A interpretação referente aos marcadores sorológicos mais comuns para hepatite B estão descritos no Quadro 1.

Quadro 1 - Marcadores sorológicos comuns da infecção pelo HBV

Marcadores Sorológicos	Interpretação
HBsAg	Infecção aguda ou crônica pelo HBV
HBeAg	Alto nível de replicação viral e infectividade, marcador utilizado para verificação da resposta ao tratamento
HBV-DNA	Indica o nível de replicação do HBV; utilizado como marcador virológico primário para a resposta ao tratamento
Anti-HBc (IgM)	Infecção aguda pelo HBV; pode ser detectado na hepatite B crônica quando ocorre reativação da infecção com elevação substanciais da ALT como um processo de superinfecção aguda
Anti-HBc (IgG)	Recuperação ou infecção crônica pelo HBV; pode ser detectado como único marcador de infecção
Anti-HBs	Recuperação da infecção pelo HBV ou marcador de imunidade vacinal, quando isolado (títulos acima de 10 mUI/ml)
Anti-HBe	Baixo nível de replicação viral e infectividade; marcador utilizado para verificar a resposta ao tratamento
Anti-HBc (IgG) e anti-HBs	Infecção passada pelo HBV
Anti-HBc (IgG) e HBsAg	Infecção crônica pelo HBV
Anti-HBc (IgG) e/ou anti-HBs e HBV DNA	Infecção latente ou oculta pelo HBV

Fonte: Adaptado de Liang, 2009.

2.4 HEPATITE B OCULTA

A hepatite B oculta é definida como a presença do HBV-DNA na ausência de HBsAg detectável. Na maioria dos estudos, a detecção do HBV-DNA é realizada a partir do soro dos pacientes infectados. Entretanto, a quantidade desse marcador no soro é muito baixa na condição de hepatite B oculta. O mais adequado seria verificar a presença do genoma viral no fígado, pois nesse tecido o DNA pode ser detectado mesmo quando não é encontrado no soro. No entanto, na prática clínica, a detecção do DNA viral no tecido hepático é um procedimento muito invasivo e, além disso, os ensaios laboratoriais ainda não estão bem padronizados (KWAK; KIM, 2014).

O mecanismo biológico da hepatite B oculta ainda não está bem estabelecido. Todavia, admite-se que curso natural da infecção pelo HBV é determinado por interações entre o hospedeiro e o vírus. A carga viral é geralmente baixa e a

positividade para o DNA é frequentemente observada em pacientes com anti-HBc como o único marcador sorológico. Porém, já foram relatados casos em pacientes com anti-HBs isolado ou mesmo casos na ausência total de marcadores sorológicos do HBV. A relação entre a hepatite B oculta e o espectro clínico da doença ainda não é bem conhecida, mas a possibilidade de reativação da doença e de transmissão em casos de transplante hepático já foi comprovada (TORBENSON; THOMAS, 2002; SCHMELTZER; SHERMAN, 2010; KWAK; KIM, 2014).

Algumas teorias explicam os mecanismos biológicos que envolvem a presença de hepatite B oculta. Uma delas sugere a presença de mutações no determinante “a” do HBsAg que determinam a produção de variantes virais que não possuem afinidade para o anti-HBs e que representam um mecanismo de escape à vacina. Além disso, as alterações conformacionais do HBsAg impedem a detecção desse marcador pelos métodos imunoenzimáticos disponíveis (HAN *et al.*, 2015). Essa mutação pode ser decorrente de imunoprofilaxia ativa ou passiva e o uso de lamivudina durante o tratamento da hepatite B crônica (ALAVIAN; CARMAN; JAZAYERI, 2013).

Outro tipo de mutação é uma deleção na região pré-S do genoma que codifica as proteínas do envelope e compromete a produção das partículas não infecciosas, que são as principais responsáveis pela presença do HBsAg livre detectado pelos testes comerciais. Por outro lado, essa mutação não impede a produção de “partículas de Dane” (SCHMELTZER; SHERMAN, 2010).

Além das mutações, a co-infecção do vírus da hepatite B com outros agentes infecciosos, como o vírus da hepatite C (HCV) e o vírus da imunodeficiência humana (HIV), pode ocasionar hepatite B oculta pelo mecanismo de interferência viral. A co-infecção pode causar redução da replicação e da quantidade de antígenos produzidos pelo HBV (RAIMONDO *et al.*, 2013).

A detecção de complexos imunes formados entre o HBsAg e o anti-HBs nos casos de hepatite B oculta, tem sido sugerida como uma possível característica dessa condição, uma vez que a presença desses complexos impede a detecção do HBsAg pelos testes convencionais. Além disso, nos casos de cura da infecção esses complexos normalmente não são detectados (SAMAL; KANDPAL; VIVEKANANDAN, 2012).

Ainda na hepatite B oculta, pode ocorrer o rearranjo do genoma do HBV quando acontece a sua integração ao DNA da célula hospedeira, o que resulta na

redução da produção de *virions*, além da ausência de HBV-DNA e HBsAg detectável no soro. A integração do genoma viral ao DNA celular é uma condição comum em pacientes com diagnóstico de hepatocarcinoma (SQUADRITO; SPINELLA; RAIMONDO, 2013).

E por último, mecanismos relacionados com a resposta imune do hospedeiro como apoptose, imunossupressão, atividades das células T e polimorfismo no gene que codifica o receptor para vitamina D podem estar associados com a condição de hepatite B oculta (SAMAL; KANDPAL; VIVEKANANDAN, 2012).

Alguns grupos são considerados de alto risco para desenvolver a hepatite B oculta (>50%), como portadores crônicos de hepatite C com carcinoma hepatocelular e receptores de transplante de fígado de doadores positivos para anti-HBc. Já os indivíduos com hepatite C crônica positivos para o anti-HBc, pacientes com cirrose criptogênica/fibrose avançada e usuários de drogas intravenosas são considerados de risco moderado para o desenvolvimento desta modalidade da infecção (10-49%) (TORBENSON; THOMAS, 2002; ARABABADI *et al.*, 2011; LLEDÓ *et al.*, 2011; MATOS *et al.*, 2013).

A prevalência de hepatite B oculta é relatada com uma ampla variação, de 1% a 95%, em todo o mundo. As taxas de prevalência são influenciadas por vários fatores como: endemicidade da hepatite B na população; características do paciente, como a presença de doenças concomitantes e as diferentes técnicas utilizadas para a detecção do DNA viral (KWAK; KIM, 2014). Sabe-se também que os pacientes com comprometimento imune, como na infecção pelo HIV, possuem risco aumentado de manifestação da hepatite B oculta (AMPONSAH-DACOSTA *et al.*, 2015).

2.5 EPIDEMIOLOGIA DA HEPATITE B

Dois bilhões de pessoas em todo o mundo já tiveram contato com o vírus da hepatite B e cerca de 240 milhões vivem com a infecção crônica. Estima-se que mais de 620 mil pessoas morrem, por ano, devido às consequências da hepatite B aguda ou crônica (DATTA *et al.*, 2012; OTT *et al.*, 2012; GERLICH, 2013). São consideradas regiões de alta endemicidade quando a prevalência do marcador HBsAg é maior do que 8%, endemicidade intermediária entre 2% e 7% e baixa

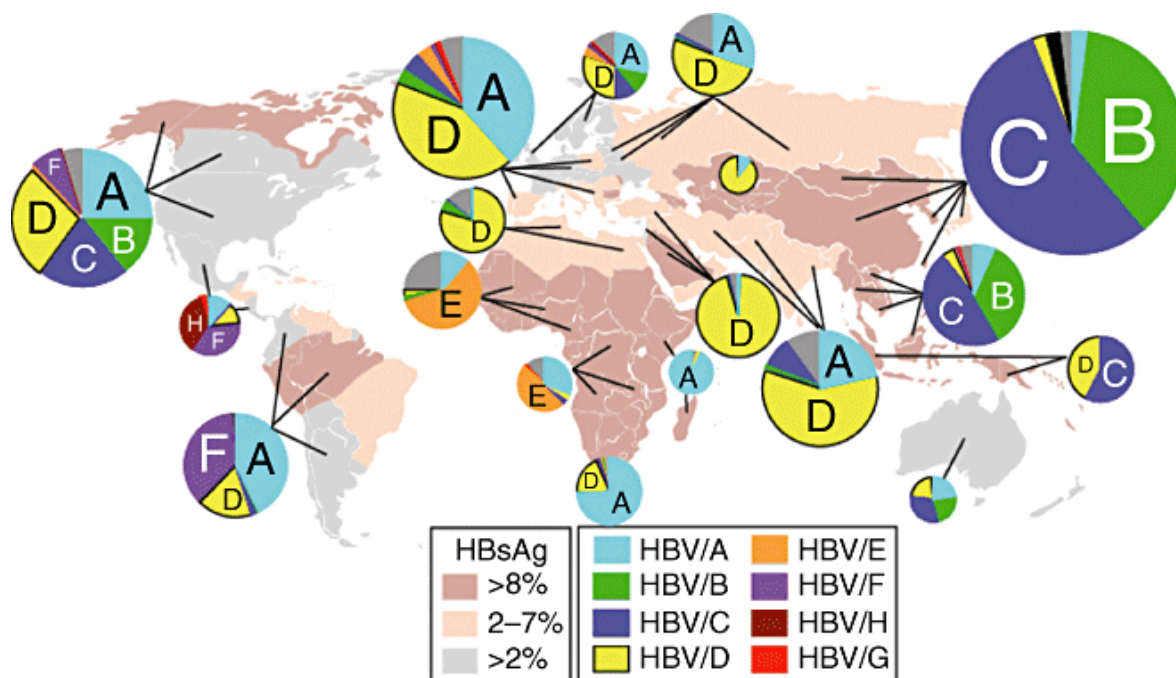
endemicidade menor que 2% (ALTER, 2003; KURBANOV; TANAKA; MIZOKAMI, 2010).

A endemicidade da hepatite B tem ampla variação ao redor do mundo. Nos países desenvolvidos, a prevalência da infecção é baixa e a transmissão geralmente ocorre por via sexual ou através do uso de drogas injetáveis. Nas áreas de alta endemicidade, a infecção é mais comumente adquirida durante o período perinatal, por transmissão sexual ou no início da infância (até os 5 anos), sendo as outras formas de transmissão pouco significantes nessas regiões (ALTER, 2003; LAVANCHY, 2005).

São consideradas regiões de alta endemicidade a China, Indonésia, Nigéria, região amazônica, e grande parte do restante da Ásia e da África. O sul da Europa, Oriente Médio e sul da Ásia são regiões de endemicidade intermediária. Os Estados Unidos e a maior parte da Europa e da América Central e do Sul são consideradas áreas de baixa endemicidade (SHERPARD *et al.*, 2006). A Figura 6 demonstra a prevalência da hepatite B e a distribuição de genótipos do HBV no mundo.

No período de 1990 a 2005, tem sido constatada uma significativa queda na prevalência da infecção na maior parte do mundo, sendo tal situação particularmente evidente na África Subsaariana Central, América Latina Tropical e Central, sudeste da Ásia e Europa Central. Por outro lado, o número absoluto de pessoas HBsAg positivas cresceu de 223 milhões em 1990 para 240 milhões em 2005 (OTT *et al.*, 2012).

Figura 6 - Prevalência do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e seus genótipos



Fonte: Kurbanov; Tanaka; Mizokami (2010).

Apesar da maior parte dos países da América Central e do Sul ser considerada de baixa endemicidade para hepatite B, a América Latina possui um padrão complexo de distribuição da doença não só entre seus países, mas também dentro de cada país. A soroprevalência estimada do marcador HBsAg nesta região varia entre 0,5% e 3%, podendo alcançar um número total de portadores desse marcador de 12 milhões de pessoas. A maior prevalência do marcador HBsAg (8%) é verificada em nativos da Bacia Amazônica Ocidental, incluindo o Brasil, Colômbia, Peru e Venezuela. A endemicidade diminui com o aumento da distância dessa área, com Chile, Uruguai, Paraguai e Argentina tendo a menor prevalência do HBsAg (TE; JENSEN, 2010; ROMAN *et al.*, 2014). Estudo ainda mostrou que a prevalência na América Central e do Sul teve uma forte queda entre 1990 e 2005, passando esta região a ser considerada de baixa endemicidade (OTT *et al.*, 2012).

Segundo o último Estudo de Prevalência de Base Populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C (2005 a 2009), conduzido pela Universidade de Pernambuco, realizado em todas as 26 capitais brasileiras e no Distrito Federal, o resultado global da prevalência de positividade sorológica indicativa de exposição à hepatite B (anti-HBc), na faixa etária entre 10 e 69 anos, foi de 7,4%. Com relação ao marcador HBsAg, a prevalência global foi de 0,37%, classificando o conjunto das

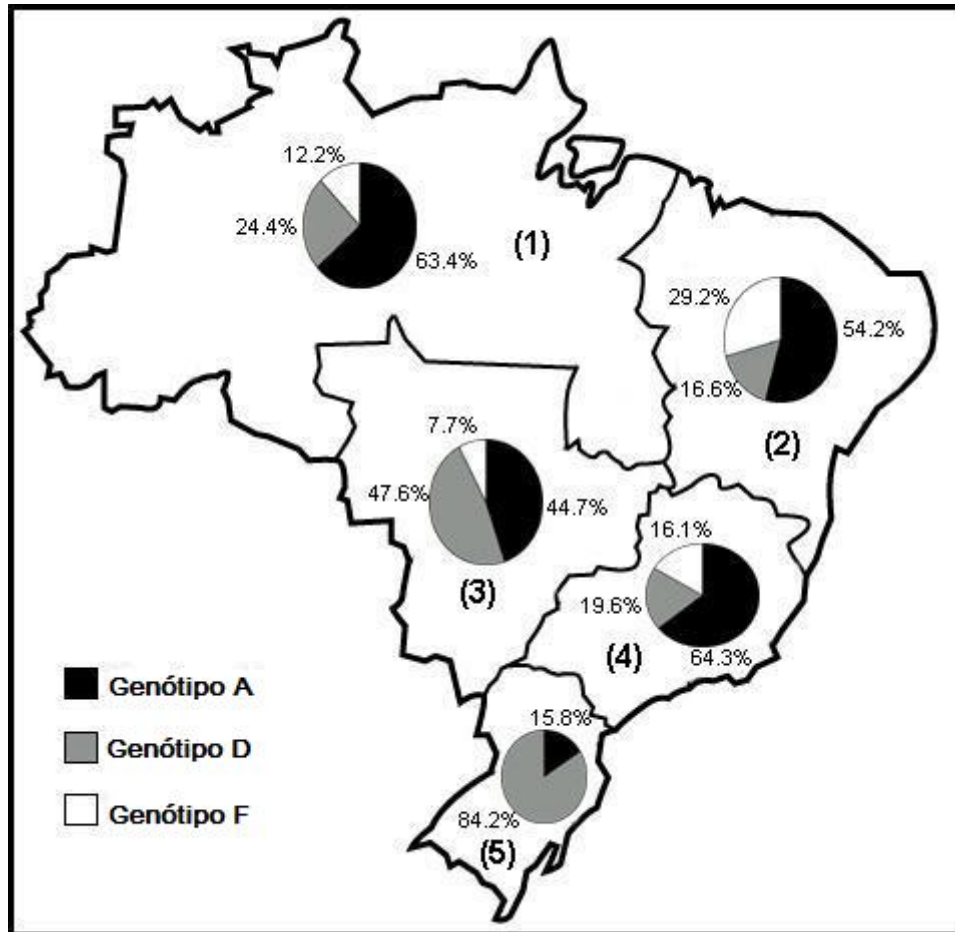
capitais do Brasil como região de baixa endemicidade (UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO, 2010). Contudo, o Brasil ainda possui áreas consideradas de alta endemicidade como a região Amazônica, alguns locais do Espírito Santo, oeste de Santa Catarina e população de afrodescendentes em Mato Grosso do Sul (CHÁVEZ; CAMPANA; HASS, 2003; MOTTA-CASTRO, 2003; COSTA; KIMURA, 2012).

Com relação à mortalidade pela doença, entre 2000 a 2009, foram registradas 5.441 mortes, sendo que a taxa de mortalidade foi maior em indivíduos do sexo masculino e variou de 0,3 a 0,4 por 100 mil habitantes. A maior proporção de óbitos por hepatocarcinoma associados à hepatite B ocorreu no ano de 2001. A região Norte apresentou maior quantidade de óbitos proporcionais provavelmente devido à alta prevalência da doença. Além disso, a coinfeção com o vírus da hepatite Delta, que ocorre somente em indivíduos infectados pelo vírus da hepatite B, constitui um fator de agravamento da doença hepática. O Nordeste foi a região que apresentou menores taxas de mortalidade neste período (TAUIL *et al.*, 2012).

No que se refere à distribuição dos genótipos presentes no Brasil até agora, foram identificados principalmente a presença dos genótipos A, D e F, conforme distribuição geográfica apresentada na Figura 7 (MELLO *et al.*, 2007). No entanto, estudos já reportaram também a presença dos genótipos B, C, E e H em indivíduos brasileiros, o que reflete a miscigenação da população do Brasil (CLEMENTE *et al.*, 2009; BERTOLINI *et al.* 2012; ELOY *et al.*, 2013; MELLO *et al.*, 2014).

Determinar os genótipos do HBV é interessante tanto para a antropologia e epidemiologia, auxiliando a traçar as rotas de transmissão do vírus, como também é útil por motivos clínicos. Genótipos C, D e F são, normalmente, mais patogênicos do que os outros genótipos. Já os genótipos A e B respondem melhor a terapia com interferon do que os genótipos C e D (GERLICH, 2013).

Figura 7 - Distribuição dos genótipos do HBV em diferentes regiões do Brasil



Fonte: Adaptado de Mello *et al.* (2007).

2.6 VACINAÇÃO CONTRA HEPATITE B

A despeito do grande potencial de infecciosidade e de morbidade do vírus, a hepatite B é uma doença imunoprevenível por meio de uma vacina segura, eficaz e gratuita (MORAES; LUNA; GRIMALDI, 2010; LUNA *et al.*, 2009; GONZÁLES, 2008). Tal vacina constitui a principal forma de prevenção da hepatite B, aguda ou crônica, e tem sido responsável por uma importante redução da prevalência da doença em todo o mundo (KAO; CHEN, 2002; OTT *et al.*, 2012).

A vacina foi desenvolvida primeiramente a partir do plasma de portadores crônicos do HBsAg em 1980 e, em 1984, foi desenvolvida a vacina com a tecnologia de DNA recombinante, iniciando-se então o processo de vacinação em massa. Em 1992, a Organização Mundial da Saúde recomendou que a vacinação contra hepatite B fosse incluída em programas de imunização da maioria dos países (DIVISÃO DE IMUNIZAÇÃO, 2006; GONZÁLES, 2007).

No Brasil, a vacinação contra a Hepatite B iniciou-se em 1989 apenas em alguns municípios de alta prevalência na Amazônia Ocidental e, em 1991, passou a fazer parte do calendário vacinal básico do Amazonas. Em 1992, foi estendida para toda a Amazônia Legal, Paraná, Espírito Santo, Santa Catarina e Distrito Federal, para menores de cinco anos de idade. Teve sua oferta ampliada para algumas profissões consideradas de risco aumentado em 1994 (profissionais da saúde do setor privado, bombeiros, policiais, militares, estudantes de medicina, odontologia, enfermagem e bioquímica) e, somente em 1998, foi incorporada ao calendário básico de vacinação nacional para menores de um ano. Em 2001, teve a faixa etária ampliada até os 19 anos; em 2011, contemplou a faixa etária de 20 a 24; em 2012, a faixa etária de 25 a 29 anos e em 2013, estendeu-se para a faixa etária de 30 a 49 anos (BRASIL, 2013). Em 2010, foi publicado um parecer técnico do Ministério da Saúde que passou a disponibilizar gratuitamente a vacina de hepatite B para grupos de maior vulnerabilidade, independente da idade, dentre eles as manicures e pedicures (BRASIL, 2010).

A vacina é aplicada em três doses, com um intervalo de um mês entre a primeira e segunda dose. A terceira dose é administrada seis meses após a primeira. A eficácia da vacina contra hepatite B atinge 95% após a administração das três doses (MORAES; LUNA; GRIMALDI, 2010; LUNA, *et al.*, 2009; GONZÁLES, 2007).

A vacina brasileira contra hepatite B, desenvolvida pelo Instituto Butantan, possui a mesma imunogenicidade da vacina considerada padrão (Engerix B®, fabricante GSK). No entanto, a resposta imune inicial à vacina reduz com o avançar da idade. Crianças, adolescentes e adultos jovens (20-39 anos) saudáveis, em geral possuem resposta protetora superior a 90%, diminuindo para 70% nos indivíduos entre 50 e 59 anos e, fica em torno de 50% para adultos acima de 60 anos. Além da idade, outros fatores podem interferir na resposta vacinal: tabagismo, obesidade e doenças imunossupressoras, incluindo diabetes mellitus, uso de corticosteroide, insuficiência renal crônica e infecção pelo HIV. Existe ainda uma proporção de indivíduos saudáveis (entre 2,5% a 5%) que não respondem adequadamente à vacinação contra o HBV, sendo considerados não-respondedores (LUNA, *et al.*, 2009; MORAES; LUNA; GRIMALDI, 2010).

Seguindo as recomendações do Ministério da Saúde, a primeira dose da vacina deve ser administrada nas primeiras doze horas após o nascimento, e as demais doses devem obedecer ao esquema de 1 mês e 6 meses após a primeira

dose. Todas as doses devem ser aplicadas através da via intramuscular na concentração de 25 µg/mL. Caso não seja aplicada logo após o nascimento, a vacina pode ser administrada, gratuitamente, em todos os postos públicos de vacinação, até os 49 anos de idade, seguindo o esquema vacinal de 0, 1 e 6 meses (MORAES; LUNA; GRIMALDI, 2010; BRASIL, 2014a; BRASIL, 2014b).

Após dois meses da finalização do esquema vacinal, a recomendação é que se realize a sorologia anti-HBs para verificar a resposta vacinal. São considerados protetores os títulos acima de 10 mUI/mL (DIVISÃO DE IMUNIZAÇÃO, 2006; MORAES *et al.*, 2010). Caso tal titulação não seja atingida, realiza-se novamente o esquema de 3 doses, com o mesmo intervalo entre as doses, repetindo-se a sorologia anti-HBs em dois meses. Se após a aplicação das seis doses os títulos continuarem inferiores a 10 mUI/mL, o indivíduo será considerado não respondedor e não será mais vacinado (DIVISÃO DE IMUNIZAÇÃO, 2006).

2.7 A EXPANSÃO DO MERCADO DE BELEZA NO BRASIL E NO MUNDO

As concepções de beleza são influenciadas pela cultura da população e sofrem modificações em determinadas épocas. Porém, durante toda a história, os ideais de beleza perpetuaram a existência humana (BRITTO, 2004). Nos últimos anos, o conceito de beleza tem passado por um processo de supervalorização, fazendo com que o número de estabelecimentos destinados a tratamentos estéticos cresça de forma exorbitante (SAMPAIO; FERREIRA, 2009; STREHLAU.; CLARO; NETO, 2010).

Nos Estados Unidos, mais de 845 mil pessoas estão empregadas no mercado de beleza, sendo que a indústria de salões é considerada um vibrante e crescente componente da economia americana. Mesmo com a estagnação da economia mundial e duas recessões entre 2000 e 2010, este segmento obteve uma performance relativamente boa. Destaca-se ainda que, dentre os serviços que alcançaram um crescimento rápido e lucrativo, encontra-se o serviço de manicure/pedicure. Além disso, uma projeção mostra que o número de empregos para manicures e pedicures crescerá em torno de 16% entre 2012 e 2022 (INDUSTRY Fact Sheet, 2001; PBA, 2014).

No Brasil, houve um tempo em que cuidar das unhas era sinônimo de luxo e ostentação, sendo que esse cuidado se resumia em realizar uma limpeza

significativa das mãos, aparar e lixar as unhas. Porém, atualmente, o hábito de fazer unhas tornou-se bastante popular, comum e acessível a todos, e inclusive para os homens. Considera-se ainda que o cuidado com as unhas seja essencial para uma boa aparência e para uma boa apresentação (FEUZER; NOVOTNY; WATANABE, 2008).

A valorização desse hábito cultural no Brasil propiciou a criação de um campo de atuação profissional com grande oferta de empregos, rendimentos a curto prazo, flexibilidade de horários e possibilidade de autonomia. Soma-se a essa situação o crescimento acelerado do mercado de produtos de beleza que classifica o Brasil no terceiro lugar dentre os consumidores mundiais de cosméticos, ficando somente atrás do Japão e dos Estados Unidos, que ocupa o primeiro lugar. Diante desse contexto socioeconômico e cultural, a profissão de manicure/pedicure atualmente representa um forte atrativo para muitas pessoas, até mesmo para aquelas que ainda não se estabeleceram profissionalmente ou que ainda estão em fase de capacitação em diferentes áreas (SÃO PAULO (Cidade), 2005; ALCÂNTARA, 2007; ANVISA, 2007; ABIHPEC, 2011).

2.8 A PROFISSÃO DE MANICURE/PEDICURE

Trata-se de uma profissão bastante antiga, com registros de até 3.500 a.C. na Babilônia, quando homens coloriam suas unhas de diferentes cores, com instrumentos feitos em ouro maciço, conforme a classe social. Registros mostram ainda a presença da profissão na China (3000 a.C.) e no antigo Egito, com popularização através de Cleópatra e Nefertiti (1.300 a.C.). No entanto, a manicure moderna surgiu na década de 20, junto com a indústria automobilística, quando as mulheres começaram a utilizar a pintura dos automóveis em suas unhas e, em 1932, a empresa norte-americana Revlon criou o primeiro esmalte com um novo pigmento, sendo este vendido diretamente aos salões de beleza (BOURN, 2013; ENDRES, 2013).

Em 1911, menos de 25% das americanas realizavam algum tipo de preparação das unhas, enquanto em 1939, 86% já utilizavam produtos de manicures, o que demonstra uma grande popularização da profissão (NAILS magazine, 1995).

No Brasil, trata-se de uma profissão de regulamentação recente (Lei nº 12.592, de 18 de janeiro de 2012), o que contribui para informalidade, mobilidade acentuada da categoria e condições de trabalho inadequadas. Além disso, não existe norma federal que disponha acerca das condições necessárias para adequado exercício da profissão, cabendo aos estados e municípios a criação de legislações específicas (ANVISA, 2012; BRASIL, 2012).

De acordo com a legislação sanitária brasileira, todo salão de beleza deve possuir licença sanitária para funcionar. Porém, em nível federal, não é exigido nenhum tipo de certificado comprovando a qualificação do profissional. Dessa forma, manicures e pedicures manuseiam instrumentos perfurocortantes sem a devida proteção e sem conhecer procedimentos de biossegurança e os riscos que envolvem o contato com sangue (ABIHPEC, 2007; ALCÂNTARA, 2007).

Por outro lado, os salões de beleza devem obedecer à legislação sanitária local e seguir as normas e condutas de higiene, para garantir a segurança do profissional e de seus clientes, assim como a qualidade dos serviços prestados. No entanto, na maior parte dos estados e cidades brasileiras, não há norma específica publicada, apenas manuais de orientação, o que dificulta a fiscalização dessa atividade (SÃO PAULO (Cidade), 2005; BRASIL, 2009; SÃO PAULO (Estado), 2012).

No município de Campo Grande – MS existem três legislações que tratam sobre as exigências legais para o exercício da profissão de manicure/pedicure. A Lei 3632, de 30/06/1999, disciplina os serviços de cabeleireiros, barbeiros, manicures, pedicures, limpeza de pele e serviços afins e dá outras providências. O Decreto 9656, de 23/06/2006, regulamenta essa lei. A Lei 3629, de 21/06/1999, dispõe sobre a obrigatoriedade de esterilização de material usado em salões e institutos de beleza em Forno de Pasteur (Estufa) (CAMPO GRANDE, 1999a, 1999b, 2006).

Todavia, tais legislações possuem recomendações desatualizadas, como por exemplo, o uso de panela de pressão e de substâncias químicas para esterilização (Lei 3632, de 30/06/1999), visto que essas práticas são proibidas ou não recomendadas pela ANVISA (BRASIL, 2011).

Apesar das deficiências da legislação sanitária vigente no município, o Decreto 9656/2006 exige um conhecimento mínimo para exercer a profissão de manicure/pedicure, com obrigatoriedade de conclusão do ensino fundamental e da

realização de curso profissionalizante, o que poderia contribuir para o desenvolvimento de melhores condições sanitárias (CAMPO GRANDE, 2006).

Diversos estudos apontam sobre a possibilidade de transmissão de doenças através da utilização de utensílios de manicures/pedicures, no entanto, pouco se sabe sobre a real contribuição dessa atividade na disseminação de patógenos veiculados pelo sangue (MELO; ISOLANI, 2011; MORAES *et al.*, 2012; GARBACCIO; OLIVEIRA, 2012; DINIZ; MATTÉ, 2013; YOSHIDA, *et al.*, 2014).

Contudo, estudos apontam que os riscos para a aquisição da hepatite B em profissionais de saúde que manipulam instrumentos perfurocortantes pode ser maior do que na população em geral devido às frequentes exposições ocupacionais a material biológico. Fatores como o tempo de profissão, número de pacientes atendidos, uso inadequado de equipamentos de proteção individual, acidentes com material perfurocortante, são considerados importantes na disseminação da infecção dentre esses profissionais (LOPES *et al.*, 2001; CIORLIA; ZANETTA, 2005; BATISTA *et al.*, 2006; ATTAULLAH *et al.*, 2011; CONTRERA-MORENO *et al.*, 2012). Esses fatores também podem ser compartilhados por outras profissões nas quais existe risco de exposição a material biológico, como na atividade realizada por manicures e pedicures. Nas exposições percutâneas envolvendo sangue sabidamente infectado pelo HBV, o risco de adquirir a infecção pode variar de 2 a 40% dependendo a evolução da doença no paciente-fonte (ERHABOR; EJELE; NWAUCHE, 2007).

Ainda, no volume de 1 ml de sangue podem ser encontradas 10^{10} partículas virais e considera-se 0,00004 mL seja suficiente para transmitir a infecção pelo HBV (KWON, LEE, 2011; ALTER, 2003; THOMPSON; BOUGHTON; DORE, 2003). Reforçando o potencial de infecciosidade do vírus, o HBV é resistente à dessecação e permanece viável em superfícies secas à temperatura ambiente por até 7 dias. É considerado aproximadamente 100 vezes mais infeccioso que o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e 10 vezes mais infeccioso que o vírus da hepatite C (HCV) (BOND *et al.*, 1981).

Com relação aos profissionais manicures e pedicures, o estudo de Oliveira e Focaccia (2010) verificou a prevalência de hepatite B e C nessa população. Outros estudos abordam os possíveis riscos a que estariam expostos esses profissionais (GIR; GESSOLO, 1998; JOHNSON *et al.*, 2001; DINIZ; MATTÉ, 2013; YOSHIDA *et al.*, 2014).

Estudo realizado em Ribeirão Preto – SP apontou que as manicures possuem conhecimento incompleto acerca da transmissão do HIV e apenas 12,5% identificaram o alicate de unha como meio transmissão. Um dado bastante preocupante de tal estudo foi que 100% das manicures não utilizavam um método de esterilização eficaz para a inativação do HIV (GIR; GESSOLO, 1998).

No Canadá, estudo conduzido por Johnson *et al.*, 2001, apontou que 60% dos estabelecimentos que realizavam procedimentos de manicure e pedicure representavam risco de transmissão de infecções e apenas 40% das manicures e pedicures entrevistadas haviam sido imunizadas contra hepatite B. Também foi constatado que não era uma prática comum o uso de luvas de procedimentos durante as atividades e a maior parte dos instrumentos eram reutilizados e somente desinfetados com álcool isopropílico.

No entanto, estudos mais recentes demonstram que houve melhora no conhecimento desses profissionais tanto com relação ao processo de limpeza e esterilização dos materiais, como com relação ao conhecimento sobre as doenças que podem ser transmitidas durante o exercício da função (DINIZ; MATTÉ, 2013; YOSHIDA *et al.*, 2014).

Recentemente, um estudo apontou uma possível transmissão do vírus da imunodeficiência humana (HIV) associado à atividade de manicure/pedicure. Uma pessoa compartilhou alicate de cutícula ou outros instrumentos de manicure com uma prima soropositiva. Porém, na época em que houve o compartilhamento, se desconhecia a soropositividade e, por isso, não havia a supressão viral. Através das informações obtidas sobre a infecção na paciente e da análise filogenética dos vírus, foi sugerido que a infecção foi transmitida pelo compartilhamento desses objetos (MATSUDA *et al.*, 2014).

Em dois estudos consecutivos realizados com casais portadores do HCV em 2009 e 2010, Cavalheiro *et al.* (2009) constataram como fator de risco o compartilhamento de cortadores de unhas em 87,5% e 88,8%, e de alicates de manicure em 58,3% e 66,7% dos casos estudados nos respectivos anos. Oliveira-Filho *et al.* (2010) também observaram em seu estudo com doadores de sangue que o compartilhamento de alicates de manicures constitui um fator de risco para infecção pelo HCV.

O vírus da hepatite B, C e o HIV compartilham as mesmas vias de transmissão. Dessa forma, vale ressaltar que pesquisas já desenvolvidas com a

população ou atividades executadas por manicures/pedicures fornecem dados que reforçam a necessidade da realização de novos estudos sobre as infecções transmitidas pelo sangue. De grande importância são os estudos referentes à hepatite B, uma vez que o HBV possui elevada estabilidade e virulência, o que combinado com sua alta concentração no sangue de indivíduos infectados, determina sua resistência e estabilidade fora do organismo humano. Tais características aumentam a sua eficiência de transmissão por meio de contato com fluidos corpóreos infectados (LAVANCHY, 2004; HUTSE *et al.*, 2005; RIZZETTO; CIANCIO, 2008).

Estudo realizado no Brasil com manicures e pedicures apontou que um em cada dez participantes da pesquisa apresentava marcador sorológico de infecção para hepatite B ou C, sendo que 8% foram positivos para infecção pelo HBV e 2% para o HCV. Dentre os dados levantados durante a entrevista, foi observado que apenas 5% utilizavam luvas de procedimentos durante suas atividades, nenhum profissional relatou lavagem de mãos, 93% não realizavam lavagem de seus instrumentos antes da esterilização e somente 7% utilizavam materiais descartáveis. Porém, o estudo não apresenta fatores de risco ocupacionais para aquisição da infecção pelo vírus da hepatite B (OLIVEIRA; FOCACCIA, 2010).

Além da falta de dados conclusivos sobre a prevalência da hepatite B em manicures e pedicures, e da real influência dessa atividade profissional no contexto epidemiológico da doença, nos países em desenvolvimento, cerca de 40 a 50% dos casos diagnosticados como hepatite B, não se conhece os fatores envolvidos na aquisição dessa infecção (CDC, 2007; OLIVEIRA; FOCACCIA, 2010).

Dessa forma, todas as atividades que envolvem o manuseio de instrumentos perfurocortantes e possibilidade de contato com sangue de indivíduos infectados constitui um risco potencial para a transmissão da infecção causada pelo vírus da hepatite B. O risco de disseminação de infecções que veiculam através do sangue torna-se aumentado quando o conhecimento acerca das doenças e dos métodos de esterilização dos instrumentos perfurocortantes não é adequado, condição essa já citada por alguns autores (GIR; GESSOLO, 1998; JOHNSON *et al.*, 2001; CORRALES *et al.*, 2007; DINIZ; MATTÉ, 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Caracterizar o perfil soroepidemiológico e molecular da infecção causada pelo vírus da hepatite B (HBV) em manicures/pedicures em Campo Grande – Mato Grosso do Sul (MS).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a prevalência da infecção causada pelo vírus da hepatite B em manicures e pedicures em Campo Grande - MS;
- Identificar os fatores de risco de exposição ao vírus estudado em manicures/pedicures em Campo Grande - MS;
- Verificar a situação de imunização contra hepatite B nestes profissionais;
- Investigar a presença de infecção oculta na população estudada;
- Identificar os principais genótipos/subgenótipos do HBV circulantes nessa população.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este é um estudo analítico, transversal, quantitativo realizado com manicures/pedicures do município de Campo Grande – MS.

4.1 POPULAÇÃO ALVO E AMOSTRA

Foram selecionados para este estudo os profissionais manicures/pedicures que atuam como autônomos ou em salões de beleza e desempenham suas atividades dentro da área de abrangência do município.

O cálculo da amostra foi realizado baseado na prevalência da hepatite B de 5,3% encontrada em estudo de base populacional da região Centro-Oeste (PEREIRA *et al.*, 2009). Foi considerado como limite de confiança o valor de 2,5% e efeito de desenho o valor de 1,5. Para um intervalo de confiança de 95%, a amostra total seria de 438 indivíduos, sendo acrescentado mais 20%, considerando as possíveis perdas (DEAN; SULLIVAN; SOE, 2014). A distribuição das amostras foi realizada proporcionalmente ao número de salões de beleza cadastrados por distrito sanitário junto à Vigilância Sanitária do município de Campo Grande - MS.

Os participantes foram selecionados de forma aleatória, o que caracteriza amostragem por conveniência. A coleta de amostras e de dados foi realizada no período de dezembro de 2011 a dezembro de 2014 com os indivíduos que preencheram os critérios de inclusão.

4.1.1 Critérios de Inclusão

- a) Indivíduos do sexo masculino ou feminino ≥ 18 anos de idade;
- b) Indivíduos que preencheram o termo de consentimento livre e esclarecido;
- c) Exercer ou ter exercido a atividade de manicure e pedicure na área de abrangência do município de Campo Grande – MS.

4.1.2 Critérios de Exclusão

- a) Indivíduos com qualquer prejuízo de sua capacidade civil e intelectual;
- b) Indígenas;

- c) Gestantes;
- d) Indivíduos que necessitam de consentimento especial (população privada de liberdade, populações institucionalizadas etc.);
- e) Profissionais com menos de três meses de serviço.

4.2 COLETA DE DADOS

Após leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice B), os participantes responderam o questionário estruturado (Apêndice A) com vistas à obtenção de informações sobre dados sócio-demográficos, fatores de risco para a hepatite B, meios de reprocessamento e compartilhamento dos instrumentos utilizados, além de antecedentes de vacinação contra hepatite B. A coleta de informações ocorreu no próprio local de trabalho do profissional, de maneira reservada e em momento em que não havia atendimento aos clientes. Quando solicitado pelo participante, também foi realizada coleta em sua residência, para maior conforto e privacidade. Todos os participantes foram orientados sobre a importância, objetivos, riscos e benefícios da participação no estudo, assim como sobre a liberdade de cancelar a sua participação em qualquer momento.

Após a entrevista, foi coletada uma amostra de 10 mL de sangue por meio de punção venosa, utilizando adaptador de sistema, tubos e agulhas para coleta a vácuo descartáveis. Os tubos devidamente identificados foram conservados em caixa térmica com gelo artificial reutilizável até o momento da centrifugação para a separação do soro e plasma no Laboratório de Imunologia Clínica do Curso de Farmácia/CCBS/UFMS. Os soros e plasmas foram estocados a -20°C até a realização dos ensaios.

Posteriormente a coleta de sangue, foi aplicada uma dose da vacina contra hepatite B para os profissionais que ainda não a haviam recebido ou que não tinham completado o esquema vacinal. A vacina oferecida (vacina recombinante contra hepatite B, produzida no Brasil, pelo Instituto Butantan – SP) foi fornecida pela Secretaria Municipal de Saúde Pública de Campo Grande – MS (SESAU), sendo essa a mesma utilizada pelo Programa Nacional de Imunização (PNI). A dose da vacina contra hepatite B aplicada foi administrada por via intramuscular, na região deltoide, na concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$ e volume de 1 mL. As vacinas eram

armazenadas em um refrigerador, com temperatura controlada entre 2° a 8°C, e transportadas em caixa térmica com gelo artificial reutilizável também com o controle da temperatura nas mesmas condições.

Após a entrevista, a coleta de sangue e a vacinação, foi feito o aconselhamento sobre transmissão e prevenção da infecção pelo HBV.

4.3 TESTES LABORATORIAIS

4.3.1 Testes sorológicos imunoenzimáticos

Todas as amostras foram testadas pelo ensaio imunoenzimático (ELISA), para a detecção dos marcadores HBsAg, anti-HBs, anti-HBc total de acordo com as recomendações do fabricante e determinações da Resolução 343 da ANVISA, publicada em 13 de dezembro de 2002. As amostras positivas para HBsAg e ou anti-HBc total foram retestadas em duplicata utilizando os mesmos conjuntos diagnósticos. Todas as amostras positivas para o HBsAg foram testadas também para os marcadores anti-HBc IgM, HBeAg e anti-HBe.

Os testes sorológicos foram realizados no Laboratório de Imunologia Clínica do CCBS/UFMS.

4.3.1.1 Detecção do HBsAg

No teste para detecção do marcador sorológico HBsAg foi utilizado o kit comercial desenvolvido pela Biokit S.A. (Bioelisa HBsAg 3.0, *Spain*). A técnica imunoenzimática ELISA é baseada no princípio direto, tipo *sandwich*, que utiliza anticorpos anti-HBs monoclonais e policlonais, que se ligam aos diferentes subtipos de HBsAg. Na microplaca sensibilizada com anticorpos anti-HBs, foram adicionados as amostras e os controles positivos e negativos e, após esse procedimento, a placa foi incubada a 37°C por 60 minutos. Em seguida, foi realizada a lavagem e, posteriormente, foi adicionado o conjugado (anticorpos obtidos de cabra anti-HBs conjugados com peroxidase) e realizada nova incubação por 30 minutos, a 37°C, com subsequente lavagem. Na sequência, foi adicionada a solução de revelação de atividade enzimática (tetrametilbenzidina mais peróxido de hidrogênio) e realizada incubação em temperatura ambiente, por 30 minutos. Em seguida, a reação foi

interrompida pela adição da solução de paragem (ácido sulfúrico 1N) e, posteriormente, foi realizada a leitura espectrofotométrica no comprimento de onda 450 nm. O valor de *cut-off* foi calculado somando-se 0,040 à média da absorbância dos valores dos controlos negativos. Foram consideradas positivas as amostras com a relação absorbância/*cut-off* $\geq 1,0$, negativas as com a relação absorbância/*cut-off* $< 0,9$ e, indeterminadas quando essa razão foi entre 0,9 e 1,0. A especificidade do teste é de 99,5% e sensibilidade de 100%.

4.3.1.2 Detecção do anti-HBc total

Para detecção desse marcador foi utilizado o kit comercial para teste imunoenzimático de anticorpos anti-HBc totais (ETI-AB-COREK PLUS, DiaSorin S.p.A., Italy). Consiste em um teste competitivo, que permite a detecção simultânea de anticorpos totais, ou seja, da classe IgG e IgM, direcionados contra o HBcAg. Em uma microplaca, revestida com anticorpos anti-HBc monoclonais obtidos de camundongo, foi distribuído o tampão de incubação. Em seguida, foi adicionado o calibrador, os controlos positivos e negativos e as amostras juntamente com uma solução de neutralização (HBcAg obtido por meio de um DNA recombinante). Após esse procedimento, a placa foi incubada a 37°C por 120 minutos e, em seguida, foi realizada a lavagem. Posteriormente, foi adicionado o conjugado (anticorpos humanos anti-HBc conjugados com peroxidase) e realizada nova incubação por 60 minutos, a 37°C, com subsequente lavagem. Na sequência, foi adicionada a solução de revelação de atividade enzimática (tetrametilbenzidina mais peróxido de hidrogênio) e realizada incubação ao abrigo da luz, em temperatura ambiente, por 30 minutos. Em seguida, a reação foi interrompida pela adição da solução de paragem (ácido sulfúrico 0,4 N) e, então, foi realizada a leitura espectrofotométrica no comprimento de onda 450/630 nm. O valor de *cut-off* foi calculado através da média da absorbância dos valores do calibrador multiplicado por 0,300. Foram consideradas negativas as amostras que apresentaram absorbância igual ou maior do que 10% acima do valor do *cut-off* e positivas as que apresentaram absorbância igual ou menor do que 10% abaixo do valor do *cut-off*. A especificidade do teste é de 99,83% e sensibilidade de 100%.

4.3.1.3 Detecção do anti-HBs

Para detecção do anti-HBs, foi utilizado o kit comercial Imuno-Elisa Anti-HBsAg (Wama Diagnóstica, Brasil). Trata-se de uma técnica imunoenzimática ELISA, baseada no princípio *sandwich*, que detecta a presença de anticorpos anti-HBs. Na microplaca sensibilizada com o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg), dos subtipos ad e ay, foram distribuídos as amostras e controles e adicionado o conjugado (HBsAg marcado com peroxidase). Em seguida, a placa foi incubada a 37°C, por 60 minutos e, posteriormente lavada. Na sequência, foi adicionada a solução cromógeno/substrato (tetrametilbenzidina/ peroxidase) e realizada a incubação à temperatura ambiente ao abrigo de luz, por 15 minutos. Ao término da incubação, a reação foi interrompida adicionando-se ácido sulfúrico 1N. Na sequência, a leitura em espectrofotômetro foi realizada no comprimento de onda de 450/620 nm. Absorbância medida por espectrofotometria para cada amostra foi comparada a um valor limite determinado a partir do calibrador 10 mUI/mL. Foi calculado o valor de *cut-off* considerando as médias das absorbâncias dos controles negativos multiplicado por 2,1. As amostras com a relação $\text{absorbância/cut-off} \geq 1,1$ foram consideradas positivas; com a relação $\text{absorbância/cut-off} < 0,9$ foram negativas e, quando esta razão foi entre 0,9 e 1,1 as mesmas foram indeterminadas. A especificidade do teste é de 99,55% e sensibilidade de 100%.

4.3.1.4 Detecção do HBeAg

Para detecção do HBeAg foi utilizado o kit comercial desenvolvido pela Biokit S.A. (Bioelisa, Spain). O método consiste em um ensaio imunoenzimático ELISA de princípio direto, não competitivo. Na microplaca sensibilizada com anticorpos monoclonais anti-HBe (obtidos de camundongo) foi distribuído o tampão de incubação e em seguida o calibrador, os controles negativos e positivos e as amostras. Posteriormente, a placa foi incubada a 37° C, por 120 minutos, e em seguida lavada. Após a lavagem, foi adicionado o conjugado e realizada nova incubação na mesma temperatura, por 60 minutos. Na sequência, a placa foi lavada novamente e foi adicionado substrato/cromógeno (tetrametilbenzidina/ peroxidase), sendo então incubada à temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por 30 minutos. Em seguida, foi adicionada a solução de bloqueio (ácido sulfúrico 0,4 N) e a leitura foi

realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm. O valor de *cut-off* foi calculado pela adição de 0,060 à absorbância média dos valores do calibrador. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram absorbância igual ou maior do que 10% acima do valor do *cut-off* e negativas as que apresentaram absorbância igual ou menor do que 10% abaixo do valor do *cut-off*.

A especificidade do teste é de 99,73% e sensibilidade de 99,54%.

4.3.1.5 Detecção do anti-HBe

Para detecção do anti-HBe foi utilizado o kit comercial desenvolvido pela Biokit S.A. (Bioelisa, *Spain*). O método utilizado para determinação do anti-HBe baseia-se em um ensaio imunoenzimático ELISA competitivo na sua fase sólida. Na microplaca sensibilizada com anticorpos monoclonais anti-HBe (obtidos de camundongo) foi distribuído o tampão de incubação e em seguida o calibrador, os controles negativos e positivos e as amostras juntamente com uma solução neutralizante (HBeAg obtido por meio de um DNA recombinante). Posteriormente, a placa foi incubada a 37° C, por 120 minutos, sendo realizada a lavagem após a incubação. Após a lavagem, foi adicionado o conjugado e realizada nova incubação em mesma temperatura, por 60 minutos. Na sequência, a placa foi lavada novamente e foi adicionado substrato/cromógeno (tetrametilbenzidina/ peroxidase), sendo então incubada a temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por 30 minutos. Em seguida, foi adicionada a solução de bloqueio (ácido sulfúrico 0,4 N) e a leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm. O valor de *cut-off* foi calculado pela média da absorbância dos valores do calibrador multiplicado por 0,50. Foram consideradas negativas as amostras que apresentaram absorbância igual ou maior do que 10% acima do valor do *cut-off* e positivas as que apresentaram absorbância igual ou menor do que 10% abaixo do valor do *cut-off*. A especificidade do teste é de 99,57% e sensibilidade de 99,58%.

4.3.1.6 Detecção do anti-HBc IgM

Para detecção desse anticorpo foi utilizado o kit comercial para teste imunoenzimático da IgM anti-HBc (ETI-CORE-IGMK PLUS, DiaSorin S.p.A., *Italy*). Consiste em um teste não competitivo de captura de anticorpos séricos IgM, na fase

sólida. Em uma microplaca revestida com anticorpos monoclonais (obtidos de camundongo e dirigidos contra a IgM humana) foram distribuídos o calibrador, os controles positivos e negativos e as amostras. Após esse procedimento, a placa foi incubada a 37°C por 120 minutos e, em seguida, foi realizada a lavagem. Posteriormente, foi adicionado o conjugado (anticorpos humanos anti-HBc conjugados com peroxidase) e realizada nova incubação por 60 minutos, a 37°C, com subsequente lavagem. Na sequência, foi adicionada a solução de revelação de atividade enzimática (tetrametilbenzidina mais peróxido de hidrogênio) e realizada incubação ao abrigo da luz, em temperatura ambiente, por 30 minutos. Em seguida, a reação foi interrompida pela adição da solução de paragem (ácido sulfúrico 0,4 N) e, posteriormente, foi realizada a leitura espectrofotométrica no comprimento de onda 450/630 nm. O valor de *cut-off* foi calculado pela adição de 0,200 à absorbância média dos valores do calibrador. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram absorbância igual ou maior do que 10% acima do valor do *cut-off* e negativas as que apresentaram absorbância igual ou menor do que 10% abaixo do valor do *cut-off*. A especificidade do teste é de 99,79% e sensibilidade de 100%.

4.5.2 Testes moleculares

Todas as amostras positivas para a infecção pelo HBV (anti-HBc positivas) por meio dos testes imunoenzimáticos foram submetidas aos testes moleculares. Primeiramente, foi realizada a extração de DNA presente no soro.

A verificação da presença do DNA do HBV foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). A PCR teve também por objetivo verificar a presença de hepatite B oculta nas amostras negativas para o HBsAg, porém positivas para o anti-HBc total independente da presença do anti-HBs. Esses procedimentos foram realizados no Laboratório de Imunologia Clínica do CCBS/UFMS.

As amostras positivas para o marcador molecular HBV-DNA foram testadas para a identificação do genótipo por meio da técnica RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), conforme descrito por Araujo *et al.* (2004). Esse procedimento foi realizado no Laboratório de Virologia Molecular, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz-RJ.

4.5.2.1 Extração do HBV-DNA

Foram utilizados os reagentes do kit comercial *High Pure Viral Nucleic Acid Kit*, Roche Applied Science (Basel, Suíça) para extração de DNA das amostras de soro.

Em um microtubo foram adicionados 200 µL de soro, 200 µL da solução de trabalho previamente preparada (*binding buffer* + *poly(a)* - RNA carreador), 50 µL de proteinase K, com posterior homogeneização. Em seguida, a mistura foi incubada a 72°C por 10 minutos, e após a incubação foram adicionados 100 µL de *binding buffer* e realizada homogeneização por meio da pipeta. Na sequência, cada amostra foi transferida para seu respectivo filtro acoplado em um tubo coletor seguido de centrifugação. Posteriormente, o tubo coletor foi descartado e substituído, e foram adicionados 500 µL de removedor de inibidores ao filtro. Em seguida, foi realizada nova centrifugação e substituição do tubo coletor, com adição de 450 µL do tampão de lavagem. Novamente, os filtros acoplados ao tubo coletor foram centrifugados e foi realizada mais uma substituição do tubo coletor, com posterior adição de 450 µL do tampão de lavagem. Após nova centrifugação, apenas os resíduos líquidos do tubo coletor foram descartados, sendo o mesmo tubo mantido acoplado ao filtro. Para remover qualquer resíduo do tampão de lavagem, o microtubo foi centrifugado, mais uma vez. O tubo coletor foi novamente descartado e foi substituído por um tubo de microcentrífuga estéril. Na sequência, foi adicionado 50 µL do tampão de eluição ao filtro acoplado ao tubo. Em seguida, foi realizada a última centrifugação, e o filtro foi descartado, sendo que o produto da eluição apresentou um volume final de 50 µL, e foi armazenado a -70°C, até o momento de sua utilização.

4.5.2.2 Amplificação do HBV-DNA por reação em cadeia da polimerase (PCR)

A amplificação de parte da região 'S' do HBV-DNA foi realizada utilizando 3 µL do produto da extração descrita no item anterior, por meio da metodologia *nested* PCR. Para a primeira amplificação (PCR-1), o HBV-DNA extraído foi adicionado a uma mistura, contida em um microtubo, composta de 0,5 µL dos *primers* PS1, S2 e S22 (Quadro 2), 8,6 µL de água ultra pura, 5 µL de tampão da enzima *GoTaq* DNA polymerase, 2,5 µL de desoxirribonucleotídeos fosfatados (dNTP), 2,5 µL de MgCl₂ e 0,4 µL de *GoTaq* DNA polymerase (Promega®). O controle positivo (HBV-DNA

codificado por um plasmídeo diluído na proporção de 1:100.000) e negativo (água ultra pura) da reação também foram adicionados a mesma mistura descrita acima. Em seguida, os microtubos de cada amostra foram colocados no termociclador programado da seguinte forma: um ciclo de 94°C por 2 minutos (desnaturação inicial), 30 ciclos de 94°C por 30 segundos cada; 30 ciclos de 52°C por 30 segundos e 30 ciclos 72°C por 90 segundos (desnaturação, anelamento e extensão, respectivamente), seguidos por um período de alongamento final de sete minutos a 72°C. Cada produto final da PCR-1 apresentou aproximadamente 1228 pb.

A segunda amplificação (PCR-2) foi realizada com a utilização de 3 µL do produto final da PCR-1. Esse produto foi adicionado a uma mistura, contida em outro microtubo, composta de 0,5 µL dos *primers* S1, S2 e S22 (Quadro 2), 8,6 µL de água ultra pura, 5 µL de tampão da enzima *GoTaq* DNA polymerase, 2,5 µL de desoxirribonucleotídeos fosfatados (dNTP), 2,5 µL de MgCl₂ e 0,4 µL de *GoTaq* DNA polymerase (Promega®). Em seguida, os microtubos de cada amostra foram colocados no termociclador programado da seguinte forma: um ciclo de 94°C por 3 minutos (desnaturação inicial), 30 ciclos de 95°C por 30 segundos cada; 30 ciclos de 52°C por 40 segundos e 30 ciclos 72°C por 2 minutos (desnaturação, anelamento e extensão, respectivamente), seguidos por um período de alongamento final de sete minutos a 72°C. Cada produto final da PCR-2 apresentou aproximadamente 717 pb.

Uma alíquota de 10 µL do produto obtido da PCR-2 foi aplicada em gel de agarose a 2,0%, o qual foi submetido à eletroforese em tampão TBE (Tris/Borato de ácido etilenodiamino tetra-acético). O gel foi corado com brometo de etídio e as bandas visualizadas sob luz ultravioleta (UV).

Quadro 2 – Sequência dos *primers* utilizados na PCR-1, PCR-2, PCR-3 e PCR-4

Primers	Posição no genoma	Sequência
PS1 (senso)	nt 2826 – 2845	5'-CCA TAT TCT TGG GAA CAA GA-3'
S1 (senso)	nt 124 – 143	5' -CTT CTC GAG GAC TGG GGA CC-3'
S2 (anti-senso)	nt 841 – 819	5'-GGG TTT AAA TGT ATA CCC AAA GA-3'
S22 (anti-senso)	nt 841 – 819	5'-GTA TTT AAA TGG ATA CCC ACA GA-3'
SR (anti-senso)	nt 704 – 685	5'-CGA ACC ACT GAA CAA ATG GC-3'

4.5.2.3 Detecção do genótipo/subgenótipo nas amostras HBV-DNA positivas

Previamente ao procedimento de detecção dos genótipos/subgenótipos, foi realizada uma *semi-nested* PCR para amplificação da região pré-S/S do genoma viral. Na primeira amplificação (PCR-3) foram utilizados os *primers* PS1, S2, S22 e na segunda amplificação (PCR-4) foram utilizados os *primers* PS1, SR (Quadro 2). O produto da PCR-4 apresentou 1099 pb.

A detecção do genótipo/subgenótipo do HBV foi realizada por meio da análise do polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism* - RFLP). Os produtos da PCR-4, foram submetidos separadamente à digestão pelas endonucleases de restrição *BamHI*, *EcoRI* e *StuI*, por duas horas, em banho maria a 37°C (ARAUJO *et al.*, 2004). Os produtos da digestão de cada endonuclease foram aplicados em gel de agarose a 2%, o qual foi submetido à eletroforese com tampão TBE 1X. Após o término da corrida eletroforética, o gel foi corado com brometo de etídio e, em seguida, foi visualizado sob luz UV.

Para determinação do genótipo/subgenótipo, foi observado, no gel de agarose, a presença ou ausência de sítios de restrição nos produtos da PCR-4 digeridos pelas endonucleases de restrição, bem como o comprimento dos mesmos. As endonucleases podem totalizar conjuntamente até seis sítios de restrição na região amplificada. Por meio da quantidade de sítios e do comprimento dos fragmentos evidenciados no gel, para cada enzima e produto, é possível classificar os diferentes genótipos/subgenótipos do HBV (A–H) em mais de 20 perfis de RFLP conforme o Quadro 3. Dessa forma, foi possível a interpretação do padrão de restrição por meio da análise conjunta das três endonucleases. Não foi necessário a utilização de enzimas de restrição adicionais (*SexAI*, *AvaI* ou *Apal*) uma vez que as enzimas *BamHI*, *EcoRI* e *StuI* foram suficientes para a determinação do genótipo/subgenótipo nas amostras submetidas a RFLP.

Quadro 3 - Perfis de RFLP definidos pela presença ou ausência de seis sítios de restrição na região pré-S/S

Sítios de Restrição ^a							
RFLP Padrão	<i>Bam</i> HI 2943	<i>Stu</i> I 3074	<i>Eco</i> RI 0	<i>Bam</i> HI 28	<i>Stu</i> I 48	<i>Bam</i> HI 491	Endonuclease Adicional ^b
AI	-	-	+	-	-	+	
AII	+	-	+	-	-	+	
AIII	-	-	+	+	-	-	
AIV	-	-	+	-	-	-	SexAI (+)
AV	-	-	-	+	-	+	
AVI	-	-	-	-	-	+	SexAI (+)
BI	-	-	-	-	-	-	AvaI (-)
CI	-	-	-	-	-	-	AvaI (+)
CII	+	-	-	-	-	-	ApaI (-)
CIII	-	-	+	-	-	-	SexAI (-)
CIV	-	+	-	-	-	-	
DI	+	+	-	-	+	+	
DII	+	+	-	-	+	-	
DIII	+	-	-	-	+	-	
DIV	+	+	+	-	+	+	
DV	-	-	-	-	+	+	
EI	+	+	+	+	+	-	
EII	+	+	-	+	+	-	
EIII	-	-	-	-	-	+	SexAI (-)
FI	+	-	-	+	-	+	
FII (H)	+	-	-	+	-	-	
FIII	+	-	-	-	-	+	
FIV	+	-	-	-	-	-	ApaI (+)
FV	+	-	-	-	+	+	
GI	-	+	-	-	-	+	

a (+), Presença de sítio de restrição; (-), Ausência de sítio de restrição

b Isolados de HBV classificados como AIV e CIII (AIV-CIII), AVI-EIII, BI-CI e CII-FIV são indistinguíveis pela digestão com *Bam*HI, *Eco*RI e *Stu*I. Nesses casos, o uso de uma endonuclease adicional é necessário.

Fonte: Adaptado de Araujo *et al.* (2004).

4.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO

4.4.1 Variáveis de Predição

- a) Sócio-demográficas e laborais: idade, gênero, raça, renda, estado civil, naturalidade, escolaridade, local de trabalho, tempo de profissão e número de clientes por semana.
- b) Fatores e comportamentos de risco para a infecção pelo vírus da hepatite B: história de hepatite na família; número de parceiros sexuais; uso de preservativo durante relações sexuais; antecedentes de cirurgias; tratamento dentário; acupuntura; hemotransfusão; hemodiálise; prisão; compartilhamento de objetos cortantes de higiene pessoal; uso de drogas ilícitas e bebida alcoólica; presença de tatuagem e/ou “piercing” no corpo; história de doença sexualmente transmissível.
- c) Conhecimentos sobre as hepatites B: formas de prevenção e transmissão do vírus da hepatite B.
- d) Biossegurança e esterilização: participação em cursos profissionalizantes; uso de luvas; higienização das mãos; história de acidente de trabalho com material biológico; métodos de limpeza e esterilização dos instrumentos de trabalho; reutilização de lixas e palitos; utilização do mesmo instrumento para fazer suas unhas e dos clientes; história de vacinação contra hepatite B.

4.4.2 Variáveis de Desfecho

- a) Exposição ao HBV: positividade para os marcadores sorológicos HBsAg e/ou anti-HBc total;
- b) Imunidade vacinal contra o HBV: positividade para o marcador sorológico anti-HBs.

4.5 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados das entrevistas e os resultados dos testes sorológicos foram digitados em planilha do Excel 2007 e analisados em programa estatístico "SPSS"

versão 15.0 (*International Business Machines* - IBM, Armonk, NY) e “Epi Info” versão 7.0. (*Centers for Disease Control and Prevention*, Atlanta, GA). A prevalência foi calculada com intervalo de 95% de confiança. Inicialmente, foi estimado o índice de soropositividade ao HBV associado aos fatores de risco investigados. Os fatores que apresentaram valor de p menor do que 0,20 foram submetidos a análise multivariada por regressão logística (SPSS versão 15.0 do Windows). Os testes de χ^2 , χ^2 para tendência e exato de Fisher foram utilizados quando apropriados.

4.6 ASPECTOS ÉTICOS

Esta pesquisa faz parte do projeto intitulado “Infecção pelos vírus das hepatites B e C e HIV em manicures, pedicures e podólogos em Campo Grande - MS”. Por se tratar de uma pesquisa envolvendo seres humanos, esse projeto foi submetido ao Comitê de Ética em pesquisa da UFMS e aprovado sob o número do protocolo 2185 CAAE 0281.0.049.000-11 em 19 de outubro de 2011 (Anexo A).

4.7 ENTREGA DOS RESULTADOS

A entrega do resultado da sorologia foi realizada pessoalmente para todos os indivíduos que apresentaram positividade ao HBV. Para os indivíduos com sorologia negativa, o resultado foi entregue pessoalmente ou via correios. Previamente, foi realizada uma ligação telefônica para explicar os resultados dos exames. Os resultados dos exames que não foram entregues, devido a mudanças de endereço e/ou telefone, estão disponíveis no Laboratório de Imunologia Clínica CCBS/UFMS. Durante a coleta, todos os profissionais receberam um número de telefone para contato com a pesquisadora e com o laboratório. Os participantes, cujos resultados revelaram presença de infecção ativa pelo HBV (aguda ou crônica), foram encaminhados ao Hospital Dia Prof^a. Esterina Corsini do Núcleo do Hospital Universitário da UFMS para atendimento e avaliação clínico-laboratorial.

5 RESULTADOS

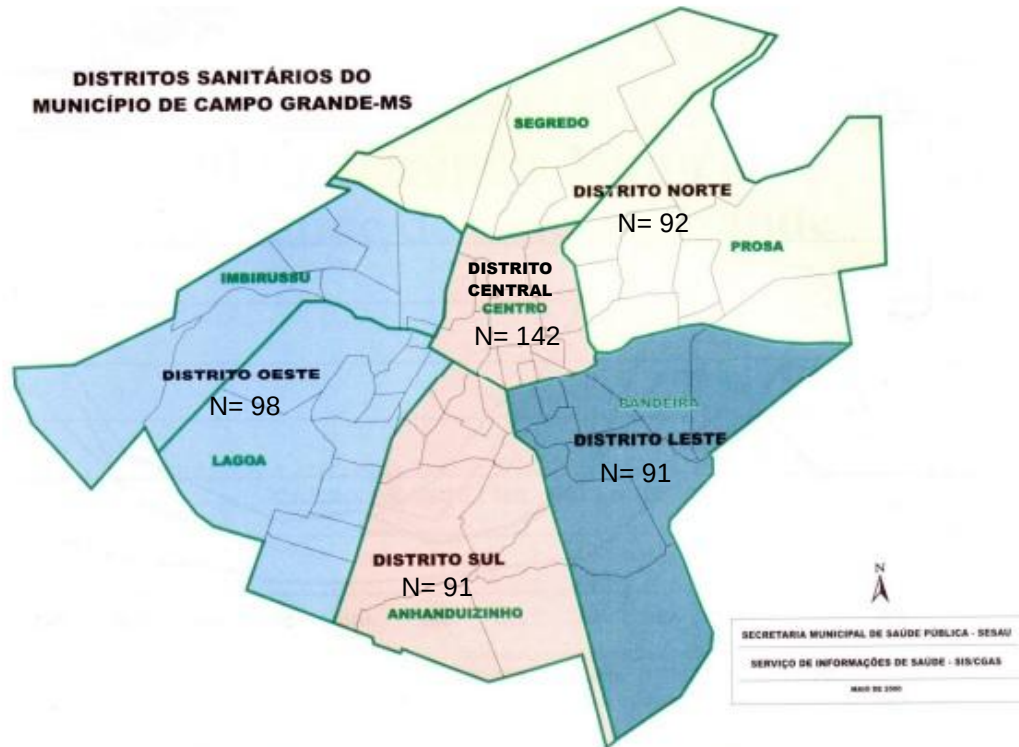
5.1 DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS E LABORAIS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

O estudo incluiu 514 manicures/pedicures que aceitaram participar da pesquisa, responderam ao questionário e permitiram a coleta de sangue para os testes sorológicos e moleculares. A seleção foi realizada aleatoriamente, com distribuição proporcional à quantidade de salões cadastrados junto a Vigilância Sanitária Municipal em cada distrito sanitário do município de Campo Grande – MS, conforme apresentado na Tabela 1. A Figura 8 mostra a área do município de Campo Grande dividida em distritos sanitários.

Tabela 1 - Distribuição dos salões de beleza cadastrados junto à Vigilância Sanitária do município de Campo Grande - MS e número de amostras coletadas, conforme distritos sanitários

Distrito Sanitário	Nº de salões cadastrados		Nº de amostras coletadas	
	N	%	N	%
Central	368	26,9	142	27,6
Oeste	281	19,1	98	19,1
Norte	209	15,3	92	17,9
Sul	279	20,4	91	17,7
Leste	250	18,3	91	17,7
Total	1367	100	514	100

Figura 8 – Mapa ilustrativo da divisão por distritos sanitários do município de Campo Grande – MS e quantidade de amostras coletadas em cada região (modificado), 2013.



Fonte: Adaptado de Plano Municipal de Saúde Campo Grande – MS (2014 – 2017).

A população do estudo foi predominantemente feminina (99,6%), com idade variando entre 18 e 65 anos, média de 34,7 anos e mediana de 33 anos. A Tabela 2 apresenta as características sociodemográficas das manicures/pedicures que participaram do estudo.

Tabela 2 - Características sociodemográficas das manicures/pedicures, Campo Grande-MS, 2015 (n=514)

Variáveis	N	%
Gênero		
Feminino	512	99,6
Masculino	2	0,4
Faixa Etária		
18 a 25 anos	118	22,7
26 a 33 anos	149	29
34 a 41 anos	116	22,6
≥ 42 anos	131	25,5
Estado Civil		
Casado	226	44
Solteiro	159	30,9
Amasiado	79	15,4
Separado	41	7,9
Viúvo	9	1,8
Naturalidade		
Mato Grosso do Sul	375	73,0
Outros estados/países	136	26,5
Sem informação (3)		
Raça		
Parda	253	49,2
Branca	192	37,3
Negra	58	11,3
Amarela	10	1,9
Sem informação (1)		
Renda Familiar		
< 2 salários mínimos	131	25,5
2 à 5.9 salários mínimos	343	66,7
6 à 9.0 salários mínimos	29	5,6
> 9 salários mínimos	6	1,2
Sem informação (5)		
Instrução		
Ensino Fundamental	125	24,3
Ensino Médio	329	64,0
Ensino Superior	59	11,5
Sem informação (1)		

A Tabela 3 apresenta a distribuição de profissionais por distrito sanitário, local de trabalho e características laborais.

Tabela 3 - Distribuição de profissionais por distrito sanitário, local de trabalho e características laborais das manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=514)

Variáveis	N	%
Distrito Sanitário		
Central	142	27,6
Oeste	98	19,1
Norte	92	17,9
Sul	91	17,7
Leste	91	17,7
Local de trabalho		
Bairro onde mora e circunvizinhos	372	72,4
Centro	142	27,6
Tempo de profissão		
≤ 5 anos	157	30,5
> 5 até 10 anos	160	31,1
>10 até 15 anos	81	15,8
>15 anos	115	22,4
Sem informação (1)		
Número de Clientes por Semana		
≤ 20	289	56,2
>20	224	43,8
Sem informação (1)		

5.2 A INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B NA POPULAÇÃO ESTUDADA

A prevalência global da infecção pelo HBV na população estudada foi de 5,6% (29/514) (IC: 95%: 4,12-8,21). A positividade para o HBsAg foi de 0,4% (02/514) (IC: 95%: 0,11-0,41). O marcador anti-HBc total associado ao anti-HBs foi detectado em 4,9% (25/514) e em 2 participantes (0,4%), o anti-HBc total foi o único marcador detectado. A presença do marcador anti-HBs isolado, foi verificada em 44% (226/514) da população estudada. Por outro lado, 50,4% (259/514) dos participantes não apresentaram nenhum marcador de infecção pelo HBV, estando portanto susceptíveis à infecção pelo vírus (Tabela 4).

Tabela 4 - Perfil sorológico das manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=514)

Categoria	Marcadores	Positivo		IC* 95%
		N	%	
Infectados	Soropositividade total para HBV	29	5,6	3,96 - 7,98
	• HBsAg + Anti-HBc total	02	0,4	0,11-1,41
	• Anti-HBs + Anti-HBc total	25	4,9	3,32 - 7,08
	• Anti-HBc total isolado	02	0,4	0,11-1,41
Vacinados	Anti-HBs isolado	226	44	39,74-48,29
Susceptíveis	Ausência de marcadores	259	50,4	46,08 - 54,69

*IC – Intervalo de confiança.

5.3 FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO HBV

As Tabelas 5 e 6 apresentam as análises uni e multivariadas dos fatores de risco ocupacionais e não ocupacionais associados à infecção pelo HBV. Para análise estatística das variáveis associadas foram excluídos os profissionais que apresentaram positividade isolada para o anti-HBs, que sugere vacinação prévia contra hepatite B, resultando em 288 investigados.

Na análise univariada dos fatores de risco, com intervalo de confiança de 95%, as variáveis que foram significativamente associadas à infecção pelo HBV foram: ter nível de instrução menor ou igual ao ensino fundamental, não ser natural do estado de Mato Grosso do Sul, trabalhar na região central da cidade e antecedentes de hepatite na família.

Tabela 5 - Análise univariada de potenciais fatores de risco para exposição ao HBV em manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=288)

Variável	HBV		OR* (IC 95%)**	P
	Pos/Total ^a	(%)		
Faixa etária				
≤33 anos	8/118	6,8	1,00	
>33 anos	21/170	12,3	1,94 (0,83-4,54)	0,12
Instrução^c				
Ensino superior	2/31	6,5	1,00	
Ensino médio	13/168	7,7	1,22 (0,26-5,68)	0,80
Ensino fundamental	14/88	15,9	2,25 (1,01-5,04)	0,05
Naturalidade				
Mato Grosso do Sul	11/194	5,7	1,00	
Outros estados/países	18/92	19,6	4,05 (1,82-8,98)	<0,01
Tempo de profissão				
≤ 5 anos	8/70	11,4	1,00	
> 5 até 10 anos	7/85	8,2	0,70 (0,24-2,02)	0,51
>10 até 15 anos	3/46	6,5	0,54 (0,13-2,15)	0,41
>15 anos	11/87	12,6	1,12 (0,42-2,96)	0,83
Número de atendimentos/semana				
≤ 20	15/171	8,8	1,00	
>20	14/117	12,0	1,41 (0,65-3,05)	0,38
Local de trabalho				
Demais distritos	16/211	7,6	1,00	
Distrito Central	13/77	16,9	2,48 (1,13-5,42)	0,02
Conhece as formas de transmissão da doença				
Sim	22/191	11,5	1,00	
Não	7/97	7,2	0,60 (0,25-1,45)	0,25
Conhece as formas de prevenção da doença				
Sim	22/194	11,3	1,00	
Não	7/94	7,4	0,63 (0,26-1,53)	0,30
Realizou curso profissionalizante				
Sim	25/230	10,9	1,00	
Não	4/56	7,1	0,63 (0,21-1,89)	0,41
Uso de luvas				
Sempre	7/62	11,3	1,00	
Ocasionalmente	7/72	9,7	0,85 (0,28-2,56)	0,77
Nunca	15/154	9,7	0,85 (0,33-2,19)	0,72
Antecedentes de acidente com perfurocortantes				
Não	22/191	11,5	1,00	
Sim	7/96	7,3	0,60 (0,25-1,47)	0,30
Utiliza o mesmo kit dos clientes				
Não	11/116	9,5	1,00	
Sim	18/171	10,5	1,12 (0,51-2,47)	0,77
Antecedentes de hepatite na família				
Não	20/240	8,3	1,00	
Sim	9/47	19,1	2,60 (1,10-6,15)	0,03

Continuação

Variável	HBV		OR* (IC 95%)**	P
	Pos/Total ^a	(%)		
Antecedentes de transfusão sanguínea				
Não	24/257	9,3	1,00	0,22
Sim	5/31	16,1	1,87 (0,66-5,08)	
Piercing				
Não	24/225	10,7	1,00	0,55
Sim	5/62	8,1	0,73 (0,27-2,01)	
Tatuagem				
Não	23/201	11,4	1,00	0,25
Sim	6/86	7,0	0,58 (0,23-1,64)	
Antecedentes de acupuntura				
Não	24/262	9,2	1,00	0,10
Sim	5/26	19,2	2,36 (0,82-6,83)	
Antecedentes de cirurgia				
Não	6/85	7,1	1,00	0,27
Sim	23/203	11,3	1,68 (0,66-4,29)	
Tratamento odontológico				
Não	1/7	14,3		0,53
Sim	28/281	10,0	0,66 (0,08-5,72)	
Sexo com pessoa do mesmo sexo				
Não	29/280	10,4		1,00
Sim	0/8	0,0	-	
Antecedentes de droga				
Não	28/275	10,2		1,00
Sim	1/10	10,0	0,98 (0,12-8,02)	
Antecedentes de sexo com usuário de droga ilícita				
Não	26/258	10,1		1,00
Sim	0/7	0,0	-	
Antecedentes de prisão				
Não	27/283	9,5	1,00	0,29
Sim	1/3	33,3	4,74 (0,41 – 54)	
Antecedentes de prostituição				
Não	28/282	9,9		1,00
Sim	0/5	0,0	-	
Numero de parceiros nos últimos seis meses				
1	21/224	9,4	1,00	0,46
≥2	8/64	12,5	1,38 (0,58-3,28)	
Antecedentes de DST ^b				
Não	25/262	9,5	1,00	0,30
Sim	4/25	16,0	1,81 (0,57-5,68)	
Frequência de uso de preservativo				
Sempre	4/69	5,8	1,00	0,75
Ocasionalmente	5/69	7,2	1,27 (0,33-4,94)	
Nunca	19/147	12,9	2,41 (0,79-7,38)	

* OR: *odds ratio*; **IC: intervalo de confiança de 95%;^a Denominador reflete o número de respostas válidas; ^bDST: doenças sexualmente transmissíveis;^cForam incluídos indivíduos que completaram ou não o referido nível de instrução.

As variáveis que apresentaram $p < 0,20$ foram incluídas na análise multivariada. Após a análise ajustada para as variáveis confundidoras, nível de instrução menor ou igual ao ensino fundamental, não ser natural do estado de Mato Grosso do Sul e trabalhar na região central da cidade permaneceram significativamente associados à infecção pelo HBV (Tabela 6).

Tabela 6 - Análise multivariada dos fatores de risco associados à exposição ao HBV em manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=288)

Variável	OR Ajustado* (IC 95%)**	P
Faixa etária		
≤33 anos	1,00	
>33 anos	1,47 (0,58-3,69)	0,42
Instrução		
≥ ensino médio	1,00	
≤ ensino fundamental	2,72 (1,14-6,47)	0,02
Naturalidade		
Mato Grosso do Sul	1,00	
Outros estados/países	4,37 (1,84-10,35)	<0,01
Antecedentes de hepatite na família		
Não	1,0	
Sim	2,09 (0,81 – 5,34)	0,12
Local de trabalho		
Demais distritos	1,0	
Distrito Central	3,70 (1,53 – 8,94)	<0,01
Antecedentes de acupuntura		
Não	1,00	
Sim	1,96 (0,58 – 6,68)	0,28

*OR: *odds ratio* ajustado por idade, instrução, naturalidade, antecedentes de hepatite na família e local de trabalho; **IC: intervalo de confiança de 95%.

5.4 CARACTERÍSTICAS SOROLÓGICAS E MOLECULARES DOS PACIENTES HBsAg POSITIVOS

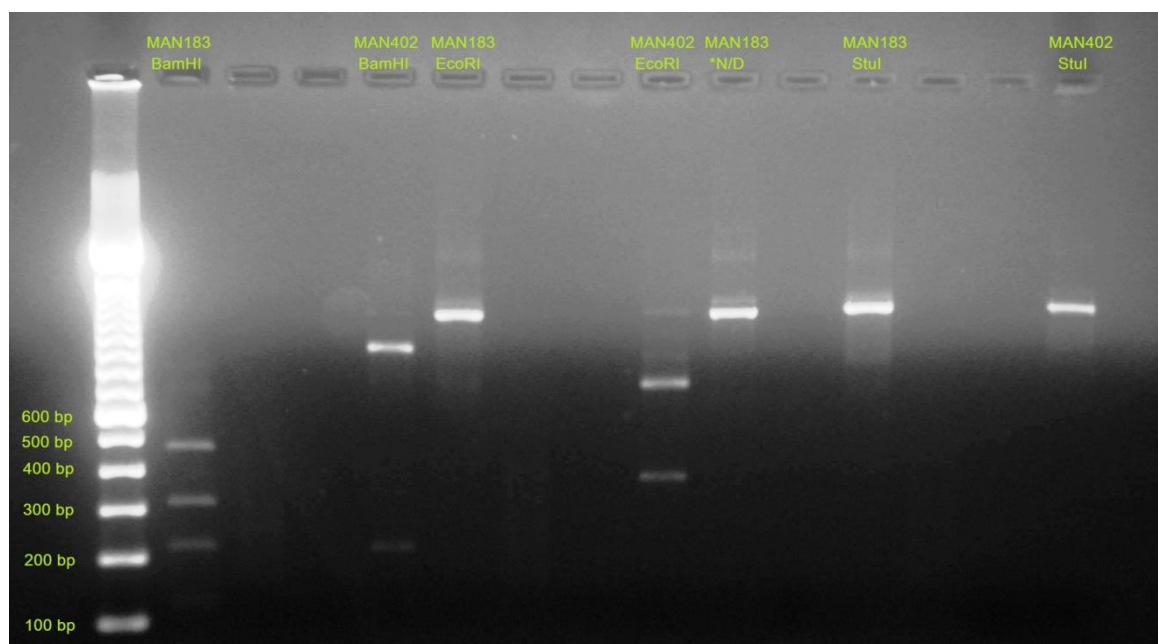
As duas amostras HBsAg positivas foram submetidas à detecção do anti-HBc IgM, HBeAg, anti-HBe e HBV-DNA, sendo que nenhuma apresentou reatividade para os marcadores HBeAg e anti-HBc IgM, e as duas foram positivas para o marcador anti-HBe (Tabela 7). O HBV-DNA foi detectado nas duas amostras HBsAg positivas (100%) que foram genotipadas e identificadas uma como pertencente aos genótipo/subgenótipo F1 e outra ao A1.

Tabela 7 – Características sorológicas e moleculares das amostras HBsAg positivas em manicures/pedicures, Campo Grande-MS, 2015 (n=2)

Identificação	Anti-HBc IgM	HBeAg	anti-HBe	HBV-DNA	Genótipo/Subgenótipo
MAN – 183	-	-	+	+	F1
MAN - 402	-	-	+	+	A1

A Figura 9 mostra os produtos da PCR da região pré-S/S, após eletroforese em gel de agarose a 2%, digeridos pelas endonucleases de restrição BamHI, EcoRI e Stul (RFLP).

Figura 9 - Produtos da PCR da região pré-S/S digeridos pelas endonucleases de restrição BamHI, EcoRI e Stul (RFLP).



*N/D - Não Digerido

Conforme o padrão de sítios de restrição observados no gel de agarose, verificamos que a amostra MAN-183 apresentou sítios para a endonuclease BamHI, e nenhum sítio para as endonucleases EcoRI e Stul, sendo definida, portanto, como genótipo/subgenótipo F1. Com relação a amostra MAN-402, verificamos a presença de um sítio de restrição para a endonuclease BamHI e também para a EcoRI e ausência de sítios para a endonuclease Stul, caracterizando essa amostra como genótipo/subgenótipo A1.

Para ser classificado como genótipo/subgenótipo A1, é esperado que sejam visualizados no gel de agarose dois fragmentos de 395 pb e 704 pb digeridos pela

endonuclease de restrição EcoRI e dois fragmentos de 213 pb e 886 pb digeridos pela endonuclease BamHI. Com relação ao genótipo F1, é esperada a visualização de seis fragmentos de 117 pb, 213 pb, 423 pb, 676 pb, 886 pb e 982 pb digeridos pela endonuclease BamHI. A amostra MAN-183 foi caracterizada como F1 pela presença de fragmentos que não podem ser associados a nenhum dos demais padrões de restrição gerados nos outros genótipos/subgenótipos.

5.5 INFECÇÃO OCULTA PELO HBV

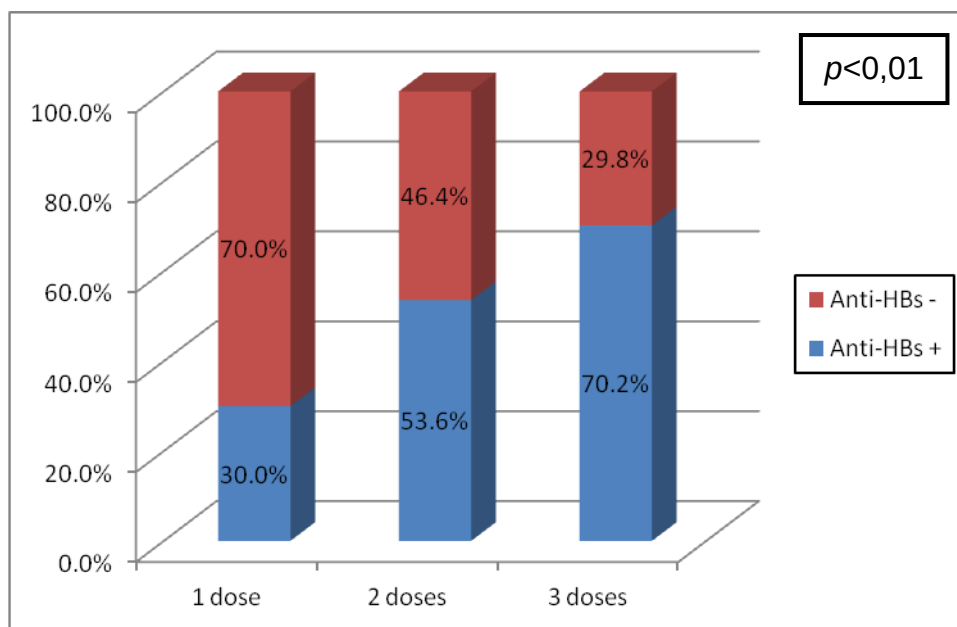
Todas as amostras positivas para o marcador anti-HBc e negativas para o HBsAg (n=27) foram investigadas quanto à presença de hepatite B oculta pela detecção molecular do HBV-DNA no soro. Das 27 amostras investigadas, duas possuíam perfil sorológico de positividade para o anti-HBc total isolado e 25 amostras o perfil de positividade para o anti-HBc total associado ao anti-HBs. No entanto, o marcador molecular, HBV-DNA, não foi detectado por meio de *nested* PCR em nenhuma das amostras testadas, caracterizando a ausência de infecção oculta nessa população.

5.6 IMUNIZAÇÃO DOS PROFISSIONAIS

Quando os participantes foram questionados sobre anterior vacinação contra hepatite B, 63,6% (327/514) afirmaram ter recebido a vacina. Dentre os que afirmaram, 58,1% (190/327) receberam as 3 doses, 17,1% (56/327) receberam duas doses, 18,4% (60/327) receberam uma dose e 6,4% (21/327) não souberam informar o número de doses. Dessa forma, 36,4% (187/514) dos participantes afirmaram que não receberam ou não se lembravam de ter recebido a vacina.

O gráfico apresentado na Figura 10 evidencia o aumento do número de indivíduos com o marcador de imunidade vacinal de acordo com o número de doses de vacinas recebidas ($p < 0,01$). Para essa análise, foram considerados apenas os 306 participantes que responderam o número de doses da vacina recebido, excluindo-se dentre esses 16 indivíduos que foram positivos para o marcador anti-HBc totalizando 290 profissionais.

Figura 10 - Aumento do número de indivíduos com o marcador de imunidade vacinal (anti-HBs isolado) conforme o número de doses de vacina recebidas relatadas pelas manicures/pedicures, Campo Grande - MS, 2015 (n=290).



O marcador de imunidade vacinal (anti-HBs isolado) foi detectado em 44% (226/514) dos indivíduos e, dentre esses, 81,4% (184/226) afirmaram ter recebido a vacina. Por outro lado, 50,4% (259/514) dos manicures/pedicures estavam susceptíveis à infecção, apesar de 20,8% (54/259) deles terem afirmado ter recebido as três doses da vacina.

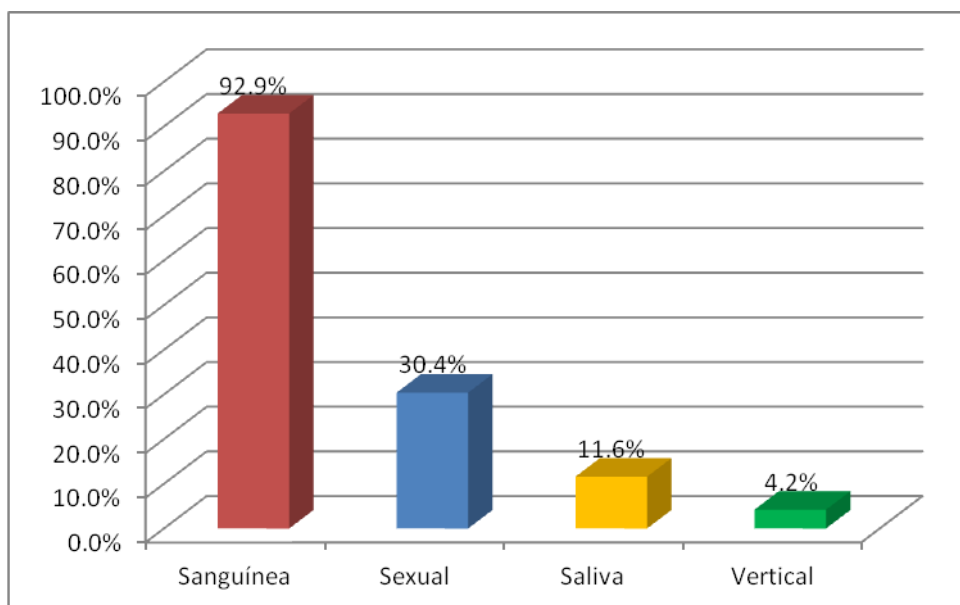
Para os profissionais que não haviam recebido a vacina contra hepatite B ou que ainda não haviam completado o esquema vacinal, foi oferecida uma dose da vacina após a realização da coleta de sangue, tendo sido vacinados 273 manicures/pedicures. Após aplicação de uma dose vacinal, foi realizada orientação sobre a necessidade de se completar o esquema vacinal e foi registrada na carteira de vacinação a data em que se deveria receber a próxima dose, que poderia ser administrada gratuitamente em qualquer unidade de saúde pública do município.

5.7 CONHECIMENTO EM RELAÇÃO À TRANSMISSÃO E PREVENÇÃO DA HEPATITE B

A maioria dos entrevistados 65,4% (336/514) relatou possuir conhecimento sobre as formas de transmissão de hepatite B. A principal forma apontada foi a

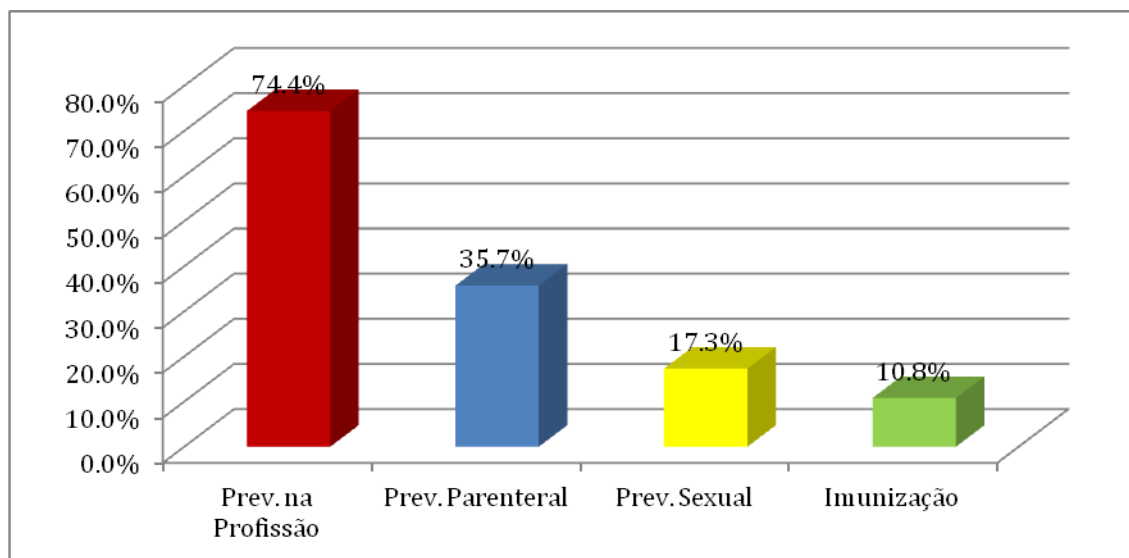
transmissão sanguínea, seguida pela transmissão sexual. O gráfico abaixo (Figura 11) mostra as formas de transmissão apontadas pelos participantes (n=336).

Figura 11 - Formas de transmissão do HBV apontadas pelas manicures/pedicures, Campo Grande-MS, 2015 (n=336)



Com relação ao conhecimento sobre prevenção da hepatite B, 63,0% (324/514) relataram pelo menos uma forma de prevenção da doença. As respostas foram categorizadas em quatro grupos: prevenção da hepatite B durante o exercício da profissão; prevenção da transmissão sanguínea não relacionada à profissão; prevenção da transmissão sexual; e imunização. A prevenção durante o exercício da profissão, 74,4% (241/324), foi a mais relatada. O gráfico abaixo (Figura 12) apresenta as categorias das formas de prevenção apontadas pelos participantes (n=324).

Figura 12 - Categorias referentes as formas de prevenção da hepatite B apontadas pelas manicures/pedicures, Campo Grande-MS, 2015 (n=336)



5.8 PROCEDIMENTOS DE BIOSSEGURANÇA REALIZADOS NO EXERCÍCIO DA PROFISSÃO

A maioria dos profissionais estudados, 79,2% (407/514), afirmou ter realizado curso profissionalizante para o exercício da atividade de manicure/pedicure, sendo que 96,7% (502/514) relataram realizar algum tipo de limpeza dos utensílios antes da sua utilização, embora 33,1% (170/514) não utilizassem produto adequado. Quanto à esterilização, 97,3% (500/514) afirmaram realizar algum tipo de procedimento. No entanto, 27,6% (142/514) utilizavam equipamentos inadequados. Dentre os 372 participantes que possuíam estufa ou autoclave, foi possível detectar que 65,3% (243/372) dos profissionais apresentavam falhas nos procedimentos técnicos. Ou seja, o processo de esterilização dos materiais não era realizado ou era realizado inadequadamente em 77,6% (399/514) dos casos. Com relação à reutilização de materiais descartáveis (lixa e palitos), verificamos que 20,2% (104/514) das manicures/pedicures reutilizam esses materiais.

Além dos cuidados referentes à limpeza e esterilização dos materiais, 96,9% (498/514) relataram higienizar as mãos entre os atendimentos, porém somente 20% (103/514) das manicures/pedicures afirmaram que utilizavam luvas regularmente. Além disso, 52,1% (268/514) possuem um kit de uso individual para fazer as

próprias unhas e apenas 35% (180/514) relataram já ter sofrido acidente com material cortante.

6 DISCUSSÃO

Estudos apontam que as atividades prestadas por serviços de embelezamento apresentam riscos para a saúde dos profissionais como, distúrbios osteomusculares, intoxicação química, câncer e infecções transmissíveis que podem, inclusive, comprometer os clientes atendidos. Dentre as doenças transmissíveis, as manicures/pedicures encontram-se no rol dos profissionais expostos aos riscos relacionados com micoses, hepatites B, C e HIV (OLIVEIRA; FOCACCIA, 2010; GALLICCHIO *et. al.*, 2011; HARRIS-ROBERTS *et. al.*, 2011; CÁRDENAS; INUNGARAY, 2013; GARBACCIO; OLIVEIRA, 2014; GARCIA *et al.*, 2015).

Assim sendo, o presente estudo contribui com esclarecimentos sobre a circulação do vírus da hepatite B dentre os profissionais manicures/pedicures. Vale ressaltar que esses profissionais manipulam instrumentos perfurocortantes sendo, portanto, vulneráveis à importante via de transmissão sanguínea. Além disso, estudos relatam que em cerca de 30% dos indivíduos portadores da infecção pelo HBV não foi possível identificar a forma pela qual adquiriram a doença (SILVA *et al.*, 1986; CDC, 2007; OLIVEIRA; FOCACCIA, 2010; GARBACCIO; OLIVEIRA, 2014).

Em nosso estudo, a prevalência global (presença do marcador anti-HBc total) da infecção pelo vírus da hepatite B em manicures/pedicures do município de Campo Grande foi de 5,6%. Esse percentual de positividade é classificado como sendo de baixa prevalência, à semelhança da prevalência global de 5,3%, estimada para população em geral da região Centro-Oeste do Brasil, de acordo com Pereira *et al.* (2009) ($p= 0,74$; OR= 1,07; IC 95%= 0,70-1,63). A presença do marcador sorológico HBsAg em 0,4% dos indivíduos também caracteriza essa população como de baixa endemicidade.

Por outro lado, quando comparamos com pesquisas de aproximadamente 10 anos atrás, observamos grande diferença. O valor de 10,8% de prevalência global para o HBV, registrado em cirurgiões-dentistas de Campo Grande – MS, em 2003 e 2004 (BATISTA *et al.*, 2006) e de 11,1% para trabalhadores da atenção básica de Mato Grosso do Sul em 2005 e 2006 (SANCHES *et al.*, 2008) são significativamente maiores do que o percentual de 5,6% encontrado no presente estudo. Salientamos que houve uma redução importante do índice de infecção pelo HBV nos últimos anos, tanto na população em geral (PEREIRA *et al.* 2009), como em primodoadores

de sangue (LINDENBERG *et al.*, 2013) o que contribuiu para modificar a classificação da região Centro-Oeste de intermediária para baixa endemicidade. Essa redução significativa no índice de infecção pelo HBV pode justificar a baixa prevalência da hepatite B em manicures/pedicures de Campo Grande.

O nosso resultado de 5,6% assemelha-se também ao encontrado por Anjos *et al.* (2010) em candidatos a doação de sangue no estado de Goiás, que foi de 6,9% ($p= 0,34$; OR= 0,81; IC 95%= 0,50-1,29). No estudo realizado em Goiás, foram incluídos tanto os indivíduos aptos, como os inaptos para a doação de sangue, o que caracterizou os participantes da pesquisa como integrantes da população em geral. Entretanto, uma pesquisa realizada recentemente com primodoadores de sangue do Mato Grosso do Sul (LINDENBERG *et al.*, 2013), que incluiu apenas indivíduos aptos para doação, registrou uma prevalência de infecção pelo HBV de 3,04%. Esse índice foi significativamente menor do que o percentual de 5,6% registrado no presente estudo ($p<0,01$; OR= 1,91, IC 95%= 1,26-2,87). A pesquisa realizada com primodoadores em Mato Grosso do Sul excluiu todos os indivíduos que apresentavam algum fator de risco conhecido para hepatite B. Essa seleção criteriosa pode explicar a diferença nas prevalências entre as duas populações da mesma região geográfica.

Outra justificativa para a baixa prevalência da hepatite B em manicures/pedicures é que a despeito da possibilidade de contato com sangue, a condição de baixa prevalência foi registrada recentemente em bombeiros de Campo Grande – MS, com um índice de infecção de 6,5%, também semelhante a população em geral (CONTRERA-MORENO *et al.*, 2012). É provável que a redução na incidência da hepatite B, as campanhas de vacinação e as medidas proteção adotadas tenham influenciado na circulação do vírus da hepatite B, independente do contato com sangue e manuseio de instrumentos perfurocortantes.

Ainda, analisando estudos realizados com manicures/pedicures de outras localidades do Brasil, constatamos que não há diferença significativa nas prevalências, o que corrobora com a hipótese de que, nos últimos anos, essa população não possui risco aumentado para aquisição da hepatite B. No estudo realizado em São Paulo, a prevalência de hepatite B foi de 8% ($p= 0,36$; OR=0,69; IC 95%= 0,30-1,55) (OLIVEIRA; FOCACCIA, 2010) e em Minas Gerais a prevalência foi de 4% ($p=0,40$; OR= 1,46; IC 95%= 0,60-3,60) (GARBACCIO; OLIVEIRA, 2014).

Quando consideramos populações de maior vulnerabilidade para a infecção pelo HBV da mesma região, verificamos que a prevalência da hepatite B em nosso estudo permanece significativamente menor. Em população privada de liberdade, com fatores de risco comportamentais, a prevalência foi de 17,9% ($p < 0,01$; OR = 0,27; IC 95% = 0,17-0,43) (STIEF *et al.*, 2010) e em afrodescendentes de comunidades isoladas, de alta endemicidade para a hepatite B, a prevalência foi de 19,8% ($p < 0,01$; OR = 0,24, IC 95% = 0,16-0,36) (MOTTA-CASTRO *et al.*, 2005).

Neste estudo, as amostras dos indivíduos que apresentaram marcadores de infecção passada, anti-HBc total isolado e anti-HBc associado ao anti-HBs, foram testadas para o HBV-DNA a fim de verificar a presença de infecção oculta pelo vírus da hepatite B. Não foi encontrado dentre as amostras testadas nenhum caso de infecção oculta, o que constitui um achado comum para populações de baixa endemicidade (KWAK; KIM, 2014; SOFIAN *et al.*, 2010). A hepatite B oculta deve ser pesquisada na presença de marcadores de infecção passada, uma vez que já foi comprovado a transmissão e reativação da doença, em situações de ausência do marcador HBsAg (LIU; CHEN; CHEN, 2006; COPPOLA *et al.*, 2011; LLEDÓ *et al.*, 2011). Porém, a ausência do marcador HBV-DNA nas amostras negativas para o HBsAg não significa total eliminação do vírus, já que estudos apontam que os indivíduos com infecção passada pelo vírus da hepatite B podem não estar curados, o que acarreta a possibilidade de reativação da doença (PUNGPAPONG; KIM; POTERUCHA, 2007; KAO, 2008).

A RFLP do genoma viral das duas amostras positivas para o marcador HBsAg revelou a presença dos genótipos/subgenótipos A1 e F1, compatível com outros estudos de epidemiologia molecular realizados na mesma região (MELLO *et al.*, 2007; MOTTA-CASTRO *et al.*, 2008; MATOS *et al.*, 2013). Os genótipos A, D e F são comumente encontrados no Brasil. O genótipo A é de origem africana e se disseminou pelo mundo através de marinheiros que realizam viagens com objetivos comerciais e de colonização. Já o genótipo F é proveniente de indígenas das Américas (TE; JENSEN, 2010; ZEHENDER *et al.*, 2014).

Na análise das variáveis associadas à infecção pelo HBV que influenciaram na prevalência da hepatite B na população de nosso estudo, verificamos que os fatores de risco para a infecção pelo HBV não possuem relação direta com as atividades exercidas pelos profissionais manicure/pedicure. Tais fatores identificados como, antecedentes de hepatite na família, possuir baixo nível de instrução, ser

natural de outros estados, também são apontados em diversos estudos realizados com populações vulneráveis ou não (PEREIRA *et al.*, 2009; MOTTA-CASTRO *et al.*, 2005, CHACHÁ *et al.*, 2011; COMPRI *et al.*, 2012).

Da mesma forma, Oliveira e Focaccia (2010) e Garbaccio e Oliveira (2014) também não identificaram nenhum fator de risco laboral que tivesse relação com a prevalência da hepatite B em manicures/pedicures. Reforçando a similaridade com a população em geral, não foram identificados dentre os participantes do presente estudo fatores de risco comportamentais.

Algumas características observadas na população deste estudo também podem ter contribuído para a baixa prevalência da hepatite B. A mediana da idade dos profissionais foi de 33 anos, o que representa uma população jovem, com menor tempo de exposição ao vírus, uma vez que a prevalência da hepatite B aumenta com a idade, devido maior tempo de possível contato com o vírus (PEREIRA *et al.*, 2009; LINDENBERG *et al.*, 2013).

Além disso, 79,2% (407/514) dos indivíduos realizaram curso profissionalizante. Esse percentual foi superior aos resultados apontados por outros autores (DINIZ;MATTÉ, 2013; GARBACCIO; OLIVEIRA, 2014; YOSHIDA *et al.*, 2014). O acesso a informação foi constatado em nosso estudo quando verificamos que 65,4% (336/514) das manicures/pedicures afirmaram conhecer alguma forma de transmissão do vírus da hepatite B e 63% (324/514) souberam informar medidas de prevenção que deveriam ser empregadas no exercício da profissão. Moraes *et al.* (2012) também verificaram que a maior parte das manicures/pedicures conheciam alguma forma de transmissão da doença. Embora a diferença não tenha sido significativa, maior prevalência de hepatite B foi encontrada por Oliveira e Focaccia (2010) que registraram apenas 28% de manicures/pedicures com conhecimento sobre a transmissão e 7% com conhecimento sobre a prevenção da hepatite B.

Mais um fator favorável encontrado foi que quase todas as manicures/pedicures do nosso estudo 97% (499/514) afirmaram realizar a higienização de mãos entre o atendimento dos clientes, índice mais elevado do que o encontrado em outras pesquisas com os mesmos profissionais (OLIVEIRA; FOCACCIA, 2010; MORAES *et al.*, 2012; YOSHIDA *et al.*, 2014). Estudos realizados em hospitais apontam que a higiene das mãos é um fator importante na redução da transmissão de doenças (BOYCE; PITTET, 2002; TROMP *et al.*, 2012). Outro hábito positivo foi possuir um kit próprio para fazer as unhas, ou seja, não compartilhar os

seus instrumentos com os clientes ou outros indivíduos, o que ocorreu em 52,1% (268/514). Garbaccio e Oliveira (2014) verificaram que pouco mais de um terço dos profissionais (36%) possuíam este hábito.

Uma situação importante na transmissão de doenças nos serviços de saúde é a ocorrência de acidente de trabalho que envolve o contato com fluído corpóreo infectado. Esse risco é considerado aumentado quando o acidente envolve o manuseio de materiais perfurocortantes. Em nosso estudo, apenas 35% dos profissionais relataram acidente com material cortante durante o exercício da profissão, índice menor do que o encontrado por Garbaccio e Oliveira (2014) (62%). Ainda, é comprovado pela literatura que o uso de luvas é capaz de reduzir a possibilidade de aquisição de doenças nos acidentes envolvendo perfurocortantes (MAST; WOOLWINE; GERBERDING, 1993). Apesar do índice de 20% (103/514) de adesão ao uso de luvas regularmente, na população deste estudo, esse percentual foi maior do que o valor de 5% encontrado por Oliveira e Focaccia (2010), em manicures/pedicures com maior índice de infecção pelo vírus da hepatite B. No entanto, não foi realizado questionamento sobre contato com sangue durante o exercício da profissão.

No presente estudo, a prevalência da hepatite B foi significativamente maior em manicures/pedicures oriundas de outros estados. É possível que essa diferença possa estar relacionada com a acentuada queda na prevalência da doença em nosso estado entre os anos de 2001 e 2011 (LINDENBERG *et al.*, 2013). Além disso, 24,1% das manicures/pedicures com marcadores de infecção pelo HBV são provenientes de regiões que já foram consideradas de alta prevalência como o sudoeste do Paraná e Regiões da Bacia Amazônica (COLLI *et al.*, 1999; BERTOLINI *et al.*, 2010; KATSURAGAWA *et al.*, 2010; KURBANOV *et al.*, 2010; BERTOLINI *et al.*, 2012).

Com relação a principal forma de prevenção da hepatite B, a maioria dos participantes deste estudo 63,6% (327/514) relatou ter sido vacinada. Esse percentual poderia ser considerado satisfatório uma vez que a vacina se tornou acessível para manicures/pedicures apenas a partir de 2010. Esse índice foi semelhante ao registrado por outros grupos que realizaram pesquisa com a mesma população (MORAES *et al.*, 2012; GARBACCIO; OLIVEIRA, 2014). Por outro lado, 42% (137/327) dos indivíduos relataram que não receberam o esquema completo ou não informaram o número de doses recebidas. O esquema vacinal de três doses,

com intervalos longos, pode dificultar a continuidade do processo de vacinação, assim como, acarretar um relato incorreto devido a possível confusão na memória quanto ao número de doses recebidas.

Quanto à situação de imunização dos profissionais estudados, apenas 44% apresentaram anti-HBs isolado com títulos maiores que 10mUI/mL, sugerindo a urgente necessidade de implementação de programas de vacinação para os profissionais manicures/pedicures. O baixo índice de imunidade vacinal encontrado foi contraditório com o número de profissionais que afirmaram ter recebido a vacina contra a hepatite B. Ainda mais importante foi a constatação de que 50,4% (259/514) dos profissionais estão susceptíveis à infecção pelo HBV. Esse percentual pode ser considerado elevado diante da disponibilidade de uma vacina segura, gratuita e eficaz.

O índice de imunidade vacinal foi diretamente proporcional ao número de doses, com percentual significativamente maior para os indivíduos que receberam as 3 doses o que comprova a importância de completar o esquema vacinal. Por outro lado, no presente estudo, o marcador anti-HBs isolado foi detectado em 66,7%, daqueles que relataram ter recebido as três doses da vacina. Esse percentual foi inferior ao índice de 95% de imunidade vacinal já registrado na literatura a partir de estudos de vacinação, com acompanhamento do esquema vacinal, e exclusão dos indivíduos com fatores que poderiam interferir na resposta imune a vacina, o que não era proposta do nosso estudo (MORAES; LUNA; GRIMALDI, 2010; BAGHIANIMOUGHADAMA; SHADKAM; HADINEDOUSHAN, 2011). Além disso, como em nosso estudo não foi realizada conferência da carteira de vacinação, a memória dos participantes com relação ao número de doses da vacina contra hepatite B também pode ter influenciado no índice de imunidade vacinal encontrado.

A baixa prevalência de hepatite B e a ausência de riscos relacionados ao exercício da profissão permitem sugerir que a atividade de manicure/pedure não oferece maior risco de infecção pelo HBV do que os riscos inerentes a transmissão da doença na população em geral. Por outro lado, o presente estudo apresenta algumas limitações. O delineamento do estudo não permitiu afirmar se os indivíduos que apresentaram positividade para o HBV foram infectados no local de trabalho ou não. Essa limitação fica evidente uma vez que o índice de infecção foi significativamente maior na região central da cidade, local onde os salões de beleza possuem maior fluxo de clientes. Outra limitação foi a impossibilidade de investigar a

presença da infecção pelo HBV nos clientes que eram atendidos pelos profissionais infectados. Além disso, é necessário cautela na análise dos resultados pois não é possível afirmar também que não há risco de transmissão da infecção entre clientes por meio dos procedimentos realizados pelas manicures/pedicures. Vale ressaltar que existem diversos relatos em artigos científicos, nos quais é muito provável que tenha ocorrido a transmissão de doenças entre clientes durante a realização das atividades de manicures/pedicures e podologia. Dentre essas, infecção pelo HBV (WISE *et al.*, 2012), infecção pelo HIV (MATSUDA *et al.*, 2014) e infecções bacterianas (WINTHROP *et al.*, 2002; VUGIA *et al.*, 2005).

Nesse contexto, verificamos em nosso estudo que algumas manicures/pedicures ainda utilizam os materiais sem realizar qualquer tipo de desinfecção ou esterilização. Há reutilização de materiais descartáveis, e problemas nos procedimentos de esterilização. Embora o acesso a informação e as medidas de prevenção tenham sido importantes para justificar a baixa prevalência encontrada, ainda há necessidade de melhorar o conhecimento e o compromisso com a segurança no exercício da atividade profissional. Essas dificuldades revelam a necessidade de educação continuada e intensificação dos programas de vacinação contra hepatite B tendo em vista o elevado percentual de indivíduos susceptíveis à essa infecção. Sugerimos ainda a realização de novos estudos com clientes e com os materiais e instrumentos utilizados pelas manicures/pedicures.

7 CONCLUSÕES

- A prevalência global da infecção pelo HBV em manicures/pedicures de Campo Grande - MS foi de 5,6%, sendo semelhante a prevalência encontrada na população em geral da mesma região.
- Os fatores de risco associados a infecção pelo HBV nas manicures/pedicures estudadas foram: ter nível de instrução menor ou igual ao ensino fundamental, não ser natural do estado de Mato Grosso do Sul e trabalhar na região central da cidade.
- O risco de infecção pelo HBV em manicures/pedicures é igual ao risco para a população em geral, uma vez que não foram encontrados fatores de risco associados ao exercício da profissão.
- Metade dos profissionais (50,4%) estão susceptíveis à infecção pelo HBV e, apenas 44% apresentou marcador sorológico de imunidade vacinal ao HBV (anti-HBs isolado).
- Não foi encontrado nenhum caso de hepatite B oculta na população estudada.
- Foram detectados os genótipos/subgenótipos A1 (50%) e F1 (50%) do vírus da hepatite B nas amostras positivas para o marcador molecular HBV-DNA.

REFERÊNCIAS

- ABIHPEC - Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. Seminário sobre cosméticos reúne especialistas em Brasília [notícias]. 19 ago. 2011. Disponível em <<http://www.abihpec.org.br/seminario-sobre-cosmeticos-reune-especialistas-em-brasilia/>>. Acesso em: 6 dez. 2011.
- ACG - AMERICAN COLLEGE OF GASTROENTEROLOGY. Hepatitis transmission risk needs to be studied in nail salons, barbershops: new analysis questions adequacy of disinfection regulations. **Obesity, Fitness & Wellness Week** Washington, DC, p. 307, Oct. 2011.
- ALCÂNTARA, O. Manicure: a porta de entrada do salão de beleza. **Revista Cabeleireiros.com**, ano 5, n. 22, 2007. Disponível em <<http://revistacabeleireiros.com/materia/manicure-a-porta-de-entrada-do-salao-de-beleza/22>>. Acesso em: 05 dez. 2011.
- ALMEIDA, J. D.; RUBENSTEIN, D.; STOTT, E. J. New antigen-antibody system in australia-antigen-positive hepatitis. **The Lancet**, p. 1225-1227, Dec. 1971.
- ALTER, H. J. *et al.* Clinical and serological analysis of transfusion-associated hepatitis. **The Lancet**, v. 306, n. 7940, p. 838-841, Nov. 1975.
- ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. **Journal of Hepatology**, n. 39, p. 64-69, 2003.
- ALAVIAN, S. M.; CARMAN, W. F.; JAZAYERI, S. M. HBsAg variants: Diagnostic-escape and diagnostic dilemma. **Journal of Clinical Virology**, v.57, n. 3, p.201–208, Jul. 2013.
- AMPONSAH-DACOSTA, E. *et al.* Hepatitis B virus infection in post-vaccination South Africa: Occult HBV infection and circulating surface gene variants . **Journal of Clinical Virology**, n. 63, p.12–17, 2015.
- ANJOS, G. L. R. C, *et al.* Epidemiology of hepatitis B virus infection in first-time blood donors in the southwestern region of Goiás, central Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 33, n.1, p.38-42, 2010.
- ANVISA, Anvisa Publica: Reportagens Especiais. Abusos na busca pela beleza colocam a saúde em risco, Brasília, 11 de junho de 2007. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/divulga/reportagens/110607.htm>>. Acesso em: 02 dez. 2011.
- ANVISA, Sala de Imprensa: Lei abre caminho para mais segurança sanitária em salões de beleza, 20 de janeiro de 2012. Disponível em <portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 02 dez. 2014.

ARABABADI, M. K. *et al.* Post-Transfusion Occult Hepatitis B (OBI): A Global Challenge for Blood Recipients and Health Authorities. **Hepatitis Monthly**, v. 11, n. 9, p.714-718, 2011.

ARAUJO, N. M. *et al.* High proportion of subgroup A' (genotype A) among Brazilian isolates of Hepatitis B virus. **Archives of Virology**, v. 149, n. 4, p. 1383-1395, Jul. 2004.

ATTULLAH, S. *et al.* Prevalence of HBV and HBV vaccination coverage in health care workers of tertiary hospitals of Peshawar, Pakistan. **Virology Journal**, v. 8, n.275, p.1-5, 2011.

BAGHIANIMOGHADAMA, M. H.; SHADKAM, M. N.; HADINEDOUSHAN, H. Immunity to hepatitis B vaccine among health care workers. **Vaccine**, v. 29, n. 15, p. 2727-2729, 2011.

BATISTA, S. M. F. *et al.* 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**, v.101, n.3, Rio de Janeiro, mai. 2006.

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

BOYCE; J. M.; PITTET, D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Recommendations and Reports, v. 51, n. RR16, p. 1-44, Oct. 2002.

BERTOLINI, D. A. *et al.* Characterization of hepatitis B virus strain in Southwestern Paraná, Brazil, presenting mutations previously associated with anti-HBs resistance. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 1, p. 25-29, jan.-fev. 2010.

BERTOLINI, D. A. *et al.* Hepatitis B virus genotypes from European origin explains the high endemicity found in some areas from Southern Brazil. **Infection, Genetic and Evolution**, n. 12, p. 1295-1304, 2012.

BLUMBERG, B. S. Australia antigen and the biology of hepatitis B. **Science**, v. 197; n. 4298, p. 17-25, Jul. 1977.

BLUMBERG, B. S.; SUTNICK, A. I.; LONDON, W. T. Hepatitis and leukemia: their relation to australia antigen. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**, v. 44, n. 12. p. 1566-1586, Dec. 1968.

BOND, W. W. *et al.* Survival of Hepatitis B Virus After Drying and Storage for One Week. **The Lancet**, v. 317, n. 8219, p. 550-551, Mar. 1981.

BOURNE, C. *et al.* Small-Molecule Effectors of Hepatitis B Virus Capsid Assembly Give Insight into Virus Life Cycle. **Journal of Virology**, v. 82, n. 20, p. 10262–10270 Oct. 2008.

BOURN, L. G. Manicure set: polish up on manicure history. Honorable Mention, Museum of Southern History, Sep. 2013.

BRASIL. Referência técnica para o funcionamento dos serviços de estética e embelezamento sem responsabilidade médica. ANVISA, Brasília: dez. 2009.

BRASIL. Parecer Técnico Nº 04/2010/CGPNI/DEVEP/SVS/MS e DST/AIDS e HEPATITES VIRAIS/SVS/MS. Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC/ANVISA nº 31, de 4 de julho de 2011. ANVISA, 2011.

BRASIL. Lei nº 12.592 de 18 de janeiro de 2012. Dispõe sobre o exercício das atividades profissionais de Cabeleireiro, Barbeiro, Esteticista, Manicure, Pedicure, Depilador e Maquiador, 2012.

BRASIL. Calendário Nacional de Vacinação. Ministério da Saúde, Portal da Saúde, 27 de junho de 2014a. Disponível em <<http://portalsaude.saude.gov.br>>. Acesso em: 04 fev. 2015.

BRASIL. Nota Técnica Conjunta nº 02/2013/CGPNI/DEVEP e CGDHRV/DST-AIDS/SVS/MS. Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Normas e Procedimentos para Vacinação / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014b.

BRITTO, M. das G. M. Obrigatoriedade da Licença para Funcionamento em Salões de Beleza no Distrito Federal. **Revista de Direito Sanitário**, v. 5, n. 3, p. 114-128, nov. 2004.

BUSCH, K.; THIMME, R. Natural history of chronic hepatitis B virus infection. **Medical microbiology and immunology**, v. 204, n.1, p. 5 -10, 2015.

CÁRDENAS, G. A. R.; INUNGARAY, M. L. C. Evaluación de las principales causas de onicomicosis por instrumentos de pedicura em mujeres universitarias. **Revista Académica de Investigación**, n. 13, p. 1-12, ago. 2013.

CAMPO GRANDE. Decreto nº 9656, 23 de junho de 2006.

CAMPO GRANDE. Lei nº 3629 de 21 junho de 1999a.

CAMPO GRANDE. Lei nº 3632 30 de junho de 1999b.

CAVALHEIRO, N. de P. *et al.* Hepatitis C: sexual or intrafamilial transmission? Epidemiological and phylogenetic analysis of hepatitis C virus in 24 infected couples. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 3, p. 239-244, mai.-jun. 2009.

CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Unusual cases of hepatitis B virus transmission, May 2007. Disponível em <www.immunize.org/catg.d/p2100nrs.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2015.

CHACHÁ, S. G. F. *et al.* Clinical, demographic and epidemiological characteristics of patients with hepatitis B followed at a university hospital in southeastern Brazil: predominance of HBeAg negative cases. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 1, p. 13-17, jan.-fev. 2011.

CHAI, N. *et al.* Properties of Subviral Particles of Hepatitis B Virus. **Journal of Virology**, v. 82, n. 16, p. 7812-7817, Aug. 2008.

CHANG, J. J.; LEWIN, S. R. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. **Immunology and Cell Biology**, v.85, p.16–23, 2007.

CHARNAY, P. *et al.* Cloning in *Escherichia coli* and physical structure of hepatitis B virion DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 76, n. 5, p. 2222-2226, May 1979.

CHÁVEZ, J. H.; CAMPANA, S. G.; HASS, P. Panorama da hepatite B no Brasil e no Estado de Santa Catarina. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 14, n. 2, p. 91-96, 2003.

CHU, C. *et al.* Precore Stop Mutant in HBeAg-Positive Patients with Chronic Hepatitis B: Clinical Characteristics and Correlation with the Course of HBeAg-to-Anti-HBe Seroconversion. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 16–21, Jan. 2002.

CIORLIA, L. A. S.; ZANETTA, D. M. T. Hepatitis B in healthcare workers: prevalence, vaccination and relation to occupational factors. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.9, n.5, p. 384-389, out. 2005.

CLEMENTE, C. M. *et al.* A phylogenetic study of hepatitis B virus in chronically infected Brazilian patients of Western and Asian descent. **Journal of Gastroenterology**, v. 44, n. 6, p. 568–576, 2009.

COLLI, L. di; SILVEIRA, T. G. V.; BERTOLINI, D. A. Prevalência da hepatite B em doadores de sangue no Núcleo de Hemoterapia de Apucarana (Hemepar), Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum**, v. 21, n. 2, p. 363-368, 1999.

COMPRI, A. P. *et al.* Hepatitis B virus infection in children, adolescents, and their relatives: genotype distribution and precore and core gene mutations. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 3, p. 301-304, May-Jun. 2012.

CONTRERA-MORENO, L. *et al.* Hepatitis B virus infection in a population exposed to occupational hazards: firefighters of a metropolitan region in central Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 4, p. 463-467, jul.-ago. 2012.

COPPOLA, N. *et al.* Reactivation of overt and occult hepatitis B infection in various immunosuppressive settings. **Journal of Medical Virology**, v. 83, n. 11, p.1909-1916, Nov. 2011.

CORRALES, C. L. *et al.* Evaluación de la efectividad de los procesos de desinfección de los utensilios en salones de belleza en um municipio de Cundinamarca. **Nova - Publicación Científica**, v.5, n. 7, p. 65-69, jan.-jun. 2007.

COSSART, Y. E. Australia antigen and hepatitis: A review. **Journal of clinical pathology**, n. 24, p. 394-403, 1971.

COSTA, C. A. da; KIMURA, L. O. Molecular epidemiology of hepatitis B virus among the indigenous population of the Curuçá and Itaquai Rivers, Javari Valley, State of Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 4, p. 457-462, Jul.-Aug. 2012.

DANE, D. S.; CAMERON, C. H.; BRIGGS, M. Virus-like particles in serum of patients with australia-antigen associated hepatitis. **The Lancet**, p. 695-698, Apr. 1970.

DANGERS of the barber's chair. Notes comments and abstracts. **The Lancet**, p. 1251, Dec. 1926.

DATTA, S. *et al.* Molecular Biology of the Hepatitis B Virus for Clinicians. **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**, v. 2, n. 4, p. 353-365, Dec. 2012.

DEAN, A. G.; SULLIVAN, K. M.; SOE, M.M. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Versão. www.OpenEpi.com, atualizado em 22 sep. 2014, Acesso em: 31 out. 2014.

DINIZ, A. F.; MATTÉ, G. R. Procedimentos de biossegurança adotados por profissionais de serviços de embelezamento. **Saúde e Sociedade São Paulo**, v.22, n.3, p.751-759, 2013.

DIVISÃO DE IMUNIZAÇÃO. Vacina contra hepatite B. **Revista de Saúde Pública**, v. 40 n. 6, p.1137-1140, 2006.

ELOY, A. M. X. *et al.* Hepatitis B virus in the State of Alagoas, Brazil: genotypes characterization and mutations of the precore and basal core promoter regions. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 6, p. 704-706, 2013.

ENDRES, K. The history of nail polish, 30 dec. 2013. Disponível em <<http://www.sheknows.com>>. Acesso em: 05 fev. 2015.

ERHABOR, O.; EJELE, O. A.; NWAUCHE, C. A. Epidemiology and management of occupational exposure to blood borne viral infections in a resource poor setting: the case for availability of post exposure prophylaxis. **Nigerian Journal of Clinical Practice**, v. 10, n. 2, p. 100-104, Jun. 2007.

FEUZER, E.; NOVOTNY, V. R.; WATANABE, E. Elaboração de uma ficha de anamnese nos serviços de manicure e pedicure. **Revista Personalité**, n. 59, nov.-dez. 2008.

FIELDS, B. **Virology**. 5ª ed. Philadelphia: LWW, 2007. v. 2.

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

FONSECA, J. C. F. da Histórico das hepatites virais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 3, p. 322-330, mai.-jun. 2010.

GALLICCHIO, L. *et al.*, Somatic Symptoms Among Cosmetologists Compared to Women in Other Occupations. **Journal of Women's Health**, v. 20, n. 4, p. 605-615, 2011.

GANEM, D.; PRINCE, A. M. Hepatitis B Virus Infection — Natural History and Clinical Consequences. **The New England Journal of Medicine**, v.350, n. 11, p. 1118-1129, 2004.

GARBACCIO, J. L; OLIVEIRA, A. C. de Biossegurança e risco ocupacional entre os profissionais do segmento de beleza e estética: revisão integrativa. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 14, n. 3, p.702-711, Jul./Sep. 2012.

GARBACCIO, J. L; OLIVEIRA, A. C. de. Adherence to and knowledge of best practices and occupational biohazards among manicurists/pedicurists 2014. **American Journal of Infection Control**, v 42, p. 791-795, 2014.

GARCIA, E. *et al.* Evaluating a County-Based Healthy Nail Salon Recognition Program. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 58, p. 193–202, 2015.

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-Jun 1987.

GERLICH, W. H. Medical Virology of Hepatitis B: how it began and where we are now. **Virology Journal**, v. 10, n. 239, p. 2-25, 2013.

GIR, E.; GESSOLO, F. Conhecimentos sobre AIDS e alterações nas ações profissionais das manicure de Ribeirão Preto. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 32, n. 2, p. 91-100, ago. 1998.

GONZÁLES, H. V. Vacunación contra Hepatitis B: Veinte años Después. **Revista de Gastroenterología do Perú**, v. 27, p. 47-56, 2007.

GONZÁLES, H. V. Hepatitis B virus and vaccination. **Acta Medica Peruana**, v. 25, n. 2, p. 56-57, 2008.

GRAMMATICOS, P. C.; DIAMANTIS, A. Useful known and unknown views of the father of modern medicine, Hippocrates and his teacher Democritus **Hellenic Journal of Nuclear Medicine**, v. 11, n. 1, Jan.-Apr. 2008.

HAN, Z. *et al.* Occult hepatitis B virus infection with positive hepatitis B e antigen. **Clinica Chimica Acta**, v. 438, p. 266–268, Jan. 2015.

HARRIS-ROBERTS, J. *et al.* Work-related symptoms in nail salon technicians. **Occupational Medicine**, v. 61, p. 335–340, 2011.

HIRSCHMAN, S. Z.; VERNACE, S. J; SCHAFFNER, F. D.N.A. polymerase in preparations containing australia antigen. **The Lancet**, p. 1099-1103, May 1971.
HUTSE, V. *et al.* Oral fluid as a medium for the detection of hepatitis B surface antigen. **Journal of Medical Virology**, v. 77, n. 1, p. 53-56, 2005.

INFECTIVE HEPATITIS. **The Lancet**, v. 1, p. 435-436, Sep. 1947.

INDUSTRY FACT SHEET – Beauty Salons, The University of Georgia BOS/SBDC, Applied Research Division, p. 1-5, Oct. 2001.

JOHNSON, I. L *et al.* Survey of infection control procedures at manicure and pedicure establishments in North York. **Revue Canadienne de Santé Publique**, v. 92, n. 2, p. 134-137, Mar.-Abr. 2001.

KAO, J. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers. **Expert review of gastroenterology & hepatology**, v. 2, n. 4, p. 553 -562, Aug. 2008.

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

KATSURAGAWA, T. H. *et al.* High seroprevalence of hepatitis B and C markers in the upper Madeira river region, Porto Velho, Rondônia State, Brazil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 91-96, 2010.

KIDD-LJUNGGREN, K. *et al.* High levels of hepatitis B virus DNA in body fluids from chronic carriers. **Journal of Hospital Infection**, v. 64, n. 4; p. 352-357, 2006.

KOTT, N.; KÖNIG, A.; GLEBE, D. Hepatitis B virus (HBV) bypasses classical endocytic pathways to infect primary hepatocytes in vitro. Oral presentations. **Journal of Hepatology**, v. 52, S43–S54, 2010.

KRAMVIS, A. Genotypes and genetic variability of hepatitis B virus. **Intervirology**, v.57, p. 141–150, Jul. 2014.

KRUGMAN, S. Viral hepatitis and Australia antigen. **The journal of pediatrics**, v. 78, n. 5, p. 887-891, May 1971.

KURBANOV, F.; TANAKA, Y.; MIZOKAMI, M. Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus. **Hepatology Research**, v. 40, p. 14–30, 2010.

KWAK, M.; KIM, Y. J. Occult hepatitis B virus infection. **World Journal of Hepatology**, v. 6, n. 12, p. 860-869, Dec. 2014.

KWON, S. Y.; LEE, C. H. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. **The Korean Journal of Hepatology**, n. 17, p. 87-95, 2011.

LANDERS, T. A.; GREENBERG, H. B.; ROBINSON, W. S. Structure of Hepatitis B Dane Particle DNA and Nature of the Endogenous DNA Polymerase Reaction. **Journal of Virology**, v. 23, n. 2, p. 368-376, Aug 1977.

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

LAVANCHY, D. Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention. **Journal of Clinical Virology**, v. 34, suppl. 1, p. S1-3, 2005.

LAVANCHY, D. Viral hepatitis: Global goals for vaccination. **Journal of Clinical Virology**, v. 55, p.296– 302, 2012.

LE BOUVIER, G. L. *et al.* Subtypes of Hepatitis B Antigen: Clinical Relevance? **Annals of Internal Medicine**, v. 79, n. 6, p. 894-896, 1973.

LIANG, T. J. Hepatitis B: The Virus and Disease. **Hepatology**, v. 49, n. 5, p. p. S13-21, May 2009.

LINDENBERG, A. de S. C; *et al.* Decrease in hepatitis B prevalence among blood donors in Central West Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 19, n. 5, 2013.

LIU, C.; CHEN, D.; CHEN, P. Epidemiology of HBV infection in Asian blood donors: Emphasis on occult HBV infection and the role of NAT. **Journal of Clinical Virology**, v. 36, suppl. 1, p. S33-S44, 2006.

LLEDÓ, J. L. *et al.* Management of occult hepatitis B virus infection: An update for the clinician. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, n.12, p. 1563-1568, Mar. 2011.

LOPES, C. L. R. *et al.*, Perfil soropidemiológico da infecção pelo vírus da hepatite B em profissionais das unidades de hemodiálise de Goiânia-Goiás, Brasil Central. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 6, p. 543-548, nov.-dez. 2001.

LUCIFORA, J.; ZOULIM, F. The life cycle of hepatitis B virus and antiviral targets. **Future Virology**, v. 6, n. 5, p. 599–614, 2011.

LUNA, E. J. de A. *et al.* Eficácia e segurança da vacina brasileira contra hepatite B em recém-nascidos. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 6, p.1014-1020, 2009.

MAGNIUS, L. O. Characterization of a new antigen-antibody system associated with hepatitis B. **Clinical and Experimental Immunology**, n. 20, p. 209-216, 1975.

MAST, S. T; WOOLWINE, J. D.; GERBERDING, J. L. Efficacy of Gloves in Reducing Blood Volumes Transferred during Simulated Needlestick Injury. **Journal of Infectious Diseases**, v. 168, n. 6, p. 1589-1592, 1993.

MATOS, M. A. D. *et al.* Occult hepatitis B virus infection among injecting drug users in the Central-West Region of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 3, p. 386-389, mai. 2013.

MATSUDA, E. M. *et al.* An HIV-1 transmission case possibly associated with manicure care. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 30, n. 11, p. 1150-1153, 2014.

MELLO, F. C. A. *et al.* Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. **BMC Microbiology**, v. 7, n. 103, p. 1-9, 2007.

MELLO, F. M. M. A. *et al.* Hepatitis B virus genotypes and mutations in the basal core promoter and pre-core/core in chronically infected patients in southern Brazil: a cross-sectional study of HBV genotypes and mutations in chronic carriers. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 701-708, nov.-dez. 2014.

MELO, F. C. A de; ISOLANI, A. P. Hepatite B e C: do risco de contaminação por materiais de manicure/pedure à prevenção. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v.6, n.2, p.72-78, mai./ago. 2011.

MEO, S. A. *et al.* Transmission of hepatitis-B virus through salivary blood group antigens in saliva. **Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan**, v. 20, n. 7, p. 444-448, 2010.

MORAES, J. C. de; LUNA, E. J. de A.; GRIMALDI, R. A. Imunogenicidade da vacina brasileira contra hepatite B em adultos. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 2, p. 353-359, 2010.

MORAES, J. T. *et al.*, Hepatite B: Conhecimento dos riscos e adoção de medidas de biossegurança por manicures/pedures de Itaúna-MG. **Revista de Enfermagem do Centro-Oeste Mineiro**, v. 2, n. 3, p. 347-357, set.-dez. 2012.

MOTTA-CASTRO, A. R. C. *et al.* Seroprevalence of Hepatitis B Virus Infection among an Afrodescendant Community in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 1, p.13-17, jan. 2003.

MOTTA-CASTRO, A.R.C. *et al.* Hepatitis B virus infection in isolated Afro-Brazilian Communities. **Journal of Medical Virology**, n.77, p. 188-193, 2005.

MOTTA-CASTRO, A.R.C. *et al.* Molecular epidemiology of hepatitis B virus in an isolated Afro-Brazilian community. **Archives of virology**, v. 153, n. 12, p. 2197-2205, 2008.

NAILS Magazine, Nail Polish History Dates Back to 3200 B.C. 1 jan 1995. Disponível em <<http://www.nailsmag.com>>. Acesso em: 15 jan. 2015.

NORTON, P. A. Hepatitis B Virus Cellular Entry – Erecting a Barrier. **Journal of Virology & Antiviral Research**, v. 1, n. 1, p. 1-2, 2012.

OHMURA, T. *et al.* Properties of recombinant hepatitis B vaccine. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.149, n.3, p. 1172 -1178, Dec. 1987.

OKAMOTO, H. *et al.* Point mutation in the S gene of hepatitis B virus for a d/y or w/r subtypic change in two blood donors carrying a surface antigen of compound subtype adyr or adwr. **Journal of Virology**, v. 61, n; 10, p. 3030-3034, Oct 1987.

OLIVEIRA, A. C. D. S. de, FOCACCIA, R. Survey of hepatitis B and C infection control: procedures at manicure and pedicure facilities in São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 5, p. 502-507, 2010

OLIVEIRA-FILHO, A. B. de, *et al.* Likely transmission of hepatitis C virus through sharing of cutting and perforating instruments in blood donors in the State of Pará, Northern Brazil. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 837-844, abr. 2010.

OTT, J. J. *et al.* Global epidemiology of hepatitis B virus infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. **Vaccine**, v. 30, p. 2212– 2219, 2012.

PBA - PROFESSIONAL BEAUTY ASSOCIATION. Economic Snapshot of the Salon and Spa Industry, May 2014.

PEREIRA, L. M. M. B. *et al.* Population-Based Multicentric Survey of Hepatitis B Infection and Risk Factor Differences among Three Regions in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, n. 2, p. 240-247, 2009.

PUNGPAPONG, S.; KIM, R.; POTERUCHA, J.J. Natural history of hepatitis B virus infection: an update for clinicians. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 82, n. 8, p. 967-975, Aug. 2007.

REUBEN, A. The Thin Red Line. **Hepatology**, v. 36, n. 3, p. 770-773, sep 2002.
RAIMONDO, G. *et al.* Occult HBV infection. **Seminars in Immunopathology**, v. 35, p.1-14, 2012.

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

ROBINSON, W. S.; CLAYTON, D. A.; GREENMAN, R. L. DNA of human hepatitis B virus candidate. **Journal of Virology**, v. 14, n. 2, p. 384-391, Aug. 1974.

ROMAN, S. *et al.* Hepatitis B virus infection in Latin America: A genomic medicine approach. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 23, p. 7181-7196, Jun. 2014.

SAMPAIO, R. P. A. de; FERREIRA, R. F. Beleza, Identidade e Mercado. **Psicologia em Revista**, Belo Horizonte, v. 15, n. 1, p. 120-140, abr. 2009.

SAMAL, J.; KANDPAL, M.; VIVEKANANDAN, P. Molecular Mechanisms Underlying Occult Hepatitis B Virus Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 1, p. 142–163, Jan. 2012.

SANCHES, G. B. dos S. *et al.* Caracterização soropidemiológica da infecção pelo vírus da hepatite B em profissionais de saúde da atenção básica no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Panamericana de Infectologia**, v. 10, n. 2, p. 17-22, 2008.

SÃO PAULO (Cidade). Secretaria da Saúde. Coordenação de Vigilância em Saúde. Beleza com segurança: guia técnico para profissionais. São Paulo: COVISA; 2005.

SÃO PAULO (Estado). SES-SP. Manual de orientação para instalação e funcionamento de institutos de beleza sem responsabilidade médica. São Paulo: CVS / CCD / SES-SP, jun. 2012.

SCHMELTZER, P.; SHERMAN, K. E. Occult Hepatitis B—Clinical Implications and Treatment Decisions. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 55, n. 12, p. 3328–3335, Dec. 2010.

SCHULZE, A. *et al.* Hepatocyte Polarization Is Essential for the Productive Entry of the Hepatitis B Virus. **Hepatology**, v. 55, n. 2, p. 373-383, Feb. 2012.

SEEFF, L. B. Transfusion-Associated Hepatitis B: Past and Present. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 2, n. 4, p. 204-214, Dec. 1988.

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

SELZER, L.; KATEN, S. P.; ZLOTNICK, A. The Hepatitis B Virus Core Protein Intradimer Interface Modulates Capsid Assembly and Stability. **Biochemistry**, v. 53, n. 34, p. 5496–5504, 2014.

SHEPARD, C. W. *et al.* Hepatitis B Virus Infection: Epidemiology and Vaccination. **Epidemiologic Reviews**, v.28, p.112-125, 2006.

SILVA, L. C. da *et al.* Epidemiological aspects of acute viral hepatitis in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 28, n. 6, p. 400-405, nov.-dez. 1986.

SIMMONDS, P. The origin and evolution of hepatitis viruses in humans. **Journal of General Virology**, v. 82, p. 693–712, 2001.

SOFIAN, M. *et al.* Lack of occult hepatitis B virus infection among blood donors with isolated hepatitis B core antibody living in an HBV low prevalence region of Iran. **International Journal of Infectious Diseases**, v.14, p. e308-e310, 2010.

SQUADRITO, G.; SPINELLA, R.; RAIMONDO, G. The clinical significance of occult HBV infection. **Annals of Gastroenterology**, v. 27, n. p. 15-19, 2014.

STEPHENNE, J. Development and production aspects of a recombinant yeast-derived hepatitis B vaccine. **Vaccine**, v. 8, Suppl. 1, p. S69–S73, Mar. 1990.

STIEF, A. C. F. et. al. Seroprevalence of hepatitis B virus infection and associated factors among prison inmates in State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 5, p. 512-515, set.-out. 2010.

STREHLAU, V. I.; CLARO, D. P.; NETO, S. A. L. Espelho, espelho meu, existe alguém mais vaidosa do que eu? A vaidade feminina e sua influência na autoestima e no consumo de procedimentos estéticos. In: ENCONTRO DE MARKETING DA ANPAD, 4., Florianópolis. **Resumo...** Florianópolis, 2010.

SUMMERS, J.; O'CONNELL, A.; MILLMAN, I. Genome of hepatitis B virus: Restriction enzyme cleavage and structure of DNA extracted from Dane particles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 72, n. 11, p. 4597-4601, Nov 1975.

SZMUNESS, W. *et al.* Passive-active immunisation against hepatitis b: immunogenicity studies in adult Americans. **The Lancet**, v. 1, p. 575-577, Mar. 1981.

TAUIL, M. de C. *et al.* Mortalidade por hepatite viral B no Brasil, 2000-2009. **Cadernos Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 28, n.3, p.472-478, mar. 2012.

TATEMATSU, K. *et al.* A Genetic Variant of Hepatitis B Virus Divergent from Known Human and Ape Genotypes Isolated from a Japanese Patient and Provisionally Assigned to New Genotype J. **Journal of Virology**, v. 83, n. 20, p. 10538–10547, Oct. 2009.

TE, H. S.; JENSEN, D. M. Epidemiology of hepatitis B and C viruses: a global overview. **Clinical Liver Disease**, n. 14, p. 1-21, 2010.

THOMPSON, S.C.; BOUGHTON, C.R; DORE, G. J. Bloodborne viruses and their survival in the environment: is public concern about community needlestick exposures justified? **Australian and New Zealand Journal of Public Health**, v. 27, n. 6, p. 602-607, 2003.

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

TROMP, M. *et al.* The short-term and long-term effectiveness of a multidisciplinary hand hygiene improvement program. **American Journal of Infection Control**, v. 40, p. 732-736, 2012.

UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO. Núcleo de Pós-Graduação. Estudo de prevalência de base populacional das infecções pelos vírus das hepatites A, B e C nas capitais do Brasil. **Relatório de Pesquisa**. Brasil, 2010.

VUGIA, D. J. *et al.* Mycobacterial in nail salon whirlpool footbaths, California. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 4, p. 616-618, Apr. 2005.

XIE, Y. *et al.* Entry of hepatitis B virus: mechanism and new therapeutic target. **Pathologie Biologie**, v. 58, n. 4, p. 301–307, Aug. 2010.

WANG, J. *et al.* Clinical and virological characteristics of chronic hepatitis B with concurrent hepatitis B E antigen and antibody detection. **Journal of viral hepatitis**, v. 18, n.9, p. 646 -652, 2011.

WEI, Y. *et al.* Molecular biology of the hepatitis B virus and role of the X gene. **Pathologie et biologie**, v. 58, n. 4 p. 267 -272, Aug. 2010.

WEISZFLOG, W. Michaelis Moderno dicionário da língua portuguesa (Online), Ed. Melhoramentos, 2009. Disponível em: <<http://michaelis.uol.com.br>>. Acesso em: 20 jan. 2015.

WINTHROP, K. L. *et al.* An outbreak of mycobacterial furunculosis associated with footbaths at a nail salon. **The New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 18, p. 1366-71, may 2002.

WISE, M. E. *et al.* Outbreak of acute hepatitis B virus infections associated with podiatric care at a psychiatric long-term care facility. **American Journal of Infection Control**, v. 40, p. 16-21, 2012.

YANG, D. *et al.* Complete replication of hepatitis B virus and hepatitis C virus in a newly developed hepatoma cell line. **PNAS**, v. 111, n. 13, p. E1264-E1273, Mar. 2014.

YOSHIDA, C. H. *et al.* Processo de esterilização de instrumentais em estabelecimentos comerciais com serviços de manicures e pedicuros. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 27, n.1, p. 18-32, 2014.

YU, H. *et al.* Molecular and phylogenetic analyses suggest an additional hepatitis B virus genotype “I”. **Plos One**, v. 5, n. 2, p. e9297, Feb. 2010.

ZEHENDER, G. *et al.* Enigmatic origin of hepatitis B virus: an ancient travelling companion or a recent encounter? **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 24, p. 7622-7634, Jun. 2014.

APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO ESTRUTURADO

“INFECÇÃO PELOS VÍRUS DAS HEPATITES B e C e HIV EM MANICURES, PEDICURES E PODÓLOGOS EM CAMPO GRANDE, MS”

I. DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS Fone para contato: _____

1. Iniciais/número de identificação: _____

2. Data coleta: ____/____/____

3. Naturalidade: _____

4. Data de nascimento: ____/____/____

5. Estado Civil: 1.()Solteiro 2.()Casado 3.()Amasiado 4.()Viúvo 5.()Separado

6. Sexo: 1.() Feminino 2.() Masculino

7. Raça: 1.()Branco 2.()Negro 3.()Pardo 4.()Amarelo

8. Você estudou até que série: _____

9. Renda familiar: _____sm

10. Religião: 1.()s/ religião 2.()católica 3.()evangélica 4.()espírita 5.()outras

11. Tempo de profissão: _____anos

12. Há quanto tempo trabalha no atual salão? _____

13. Função: 1.()Manicure 2.()Pedicure 3.()Podólogo

14. Local trabalho: 1.()bairro 2.()centro 3.()shopping

15. Número clientes: _____/semana

16. Você atende somente no salão ou atende também em casa/casa do cliente?

1.() Salão 2.()Casa

II. FATORES DE RISCO

1. Algum caso de hepatite na família: 1.()Não 2.()Sim 3.() S/inf.

Em caso afirmativo, qual o grau de parentesco:

1.()pai 2.()mãe 3.()cônjuge 4.()irmão 5.()outro

2. Já recebeu transfusão de sangue: 1.()Não 2.()1994 ou após 3.()antes de 1994

3. Já fez alguma cirurgia: 1.()Não 2.()Sim

4. Já fez tatuagem: 1.()Não 2.()Sim

5. Você tem piercing: 1.()Não 2.()Sim

6. Já compartilhou objetos cortantes de higiene: 1.()Não 2.()Sim

7. Já fez acupuntura: 1.()Não 2.()Sim

8. Já fez tratamento dentário: 1.()Não 2.()Sim

9. Tem atividade sexual atualmente: 1.()Não 2.()Sim

Número de parceiros ____/6 meses

10. Já teve relação sexual com parceiro do mesmo sexo: 1.()Não 2.()Sim

11. Algum parceiro fez uso de droga injetável: 1.()Não 2.()Sim 3.() S/inf.

12. Faz uso de preservativo: 1.() sempre 2.() ocasionalmente 3.() nunca

13. Você já contraiu alguma Doença Sexualmente Transmissível: 1.()Não 2.()Sim 3.() S/inf.

Se sim, quando: _____ qual DST: _____

14. Tem alguma outra doença: 1.()Não 2.()Sim

Se sim, quais: _____

15. Já recebeu dinheiro por sexo: 1.()Não 2.()Sim

16. Já foi preso: 1.()Não 2.()1 vez 3.()2 vezes 4.()3-5 vezes

17. Já fez hemodiálise: 1.()Não 2.()Sim

18. Você fuma: 1.()Não 2.()Sim

19. Você toma bebida alcoólica: 1.()Não 2.()Sim

Se sim, qual: _____ Em que quantidade _____ copos (250 mL)/semana

20. Usa ou usou droga: 1.()Não 2.()Sim

Se sim, tipo: 1.() não injetável 2.() injetável 3.() ambas	
21. Já fez teste para:	
Hepatite B: 1.() Não 2.() Sim	
Hepatite C: 1.() Não 2.() Sim	
HIV: 1.() Não 2.() Sim	
Sífilis: 1.() Não 2.() Sim	
22. Se sim, o resultado foi:	
Hepatite B: 1.() Positivo 2.() Negativo	
Hepatite C: 1.() Positivo 2.() Negativo	
HIV: 1.() Positivo 2.() Negativo	
Sífilis: 1.() Positivo 2.() Negativo	
23. Se for portador de Hepatite B, C, HIV ou Sífilis, já iniciou tratamento:	
1.() Não 2.() Sim Tempo: _____	
24. Você teve algum corrimento nos últimos 12 meses: 1.() Não 2.() Sim 3.() Não se lembra	
25. Você teve alguma ferida/úlceras na genitália nos últimos 12 meses:	
1.() Não 2.() Sim 3.() Não se lembra	
III. CONHECIMENTOS SOBRE HEPATITES B E C E HIV	
1. Formas de transmissão do vírus da hepatite B: 1.() não conheço 2.() conheço	
Em caso afirmativo, especificar: 1.() sangue 2.() sexual 3.() mãe para filho	
2. Formas de transmissão do vírus da hepatite C: 1.() não conheço 2.() conheço	
Em caso afirmativo, especificar: 1.() sangue 2.() sexual 3.() mãe para filho	
3. Formas de transmissão do HIV: 1.() não conheço 2.() conheço	
Em caso afirmativo, especificar: 1.() sangue 2.() sexual 3.() mãe para filho	
4. Formas de prevenção do vírus da hepatite B: 1.() não conheço 2.() conheço	
Em caso afirmativo, especificar: _____	
5. Formas de prevenção do vírus da hepatite C: 1.() não conheço 2.() conheço	
Em caso afirmativo, especificar: _____	
6. Formas de prevenção do HIV: 1.() não conheço 2.() conheço	
Em caso afirmativo, especificar: _____	
IV. BIOSSEGURANÇA E ESTERILIZAÇÃO	
1. Já fez algum curso de profissionalização para exercer sua ocupação: 1.() Não 2.() Sim	
2. Utiliza equipamentos de proteção individual: 1.() Não 2.() Sim	
Em caso afirmativo:	
Luvas: 1.() sempre 2.() ocasionalmente 3.() nunca	
Máscara: 1.() sempre 2.() ocasionalmente 3.() nunca	
Sapatos fechados: 1.() sempre 2.() ocasionalmente 3.() nunca	
Outros (especificar): _____ 1.() sempre 2.() ocasionalmente 3.() nunca	
3. Troca a luva de um cliente para outro: 1.() Não 2.() Sim	
4. Já sofreu acidente de trabalho com sangue ou fluido corpóreo: 1.() Não 2.() Sim	
5. Realiza higienização de mãos: 1.() Não 2.() Sim	
Se sim: 1.() antes do procedimento 2.() após o procedimento 3.() ambos	
6. Qual o produto utilizado para higienização das mãos:	
1.() sabonete líquido 2.() sabonete em barra 3.() álcool gel 4. outro (especificar): _____	
7. Qual o meio utilizado para secagem das mãos:	
1.() papel toalha 2.() toalha de tecido 3.() não seca 4.() outro (especificar): _____	
8. Realiza limpeza/lavagem dos instrumentos antes da esterilização: 1.() Não 2.() Sim	
Se sim: 1.() água e sabão 2.() álcool 3.() acetona 4.() outro (especificar): _____	

9. Utiliza algum equipamento de proteção individual para lavar os instrumentos:	
1.()Não 2.()Sim Se sim, especificar: 1.()luva de procedimento 2.()luva grossa de borracha 3.()máscara 4.()óculos de proteção 5.()outro (especificar):	
10. Método de esterilização os instrumentos de trabalho (alicate, afastador de cutícula, etc.):	
1.()autoclave 2.()estufa 3.()forno elétrico 4.()nenhum método Em caso de esterilização por estufa: Utiliza termômetro de bulbo: 1.()Não 2.()Sim	
	Temperatura/tempo de esterilização:
Em caso de esterilização por autoclave: Realiza controle biológico: 1.()Não 2.()Sim	
	Frequência:
11. Reutiliza lixas e palitos: 1.()Não 2.()Sim	
12. Você possui um kit só seu pra fazer suas unhas ou utiliza o mesmo kit do salão:	
1.() sempre 2.() ocasionalmente 3.() nunca Se sim, especificar qual(is) instrumento(s):	
13. Você já foi vacinado contra Hepatite B: 1.()Não 2.()Sim 3.()Não se lembra	
Em caso afirmativo: (nº doses)	
14. Você gostaria de receber a vacina: 1.()Não 2.()Sim	
Em caso negativo, por quê?	
15. Você já foi vacinado contra difteria e tétano (dupla adulto):	
1.()Não 2.()Sim 3.()Não lembra	
Em caso afirmativo: (nº doses)	
16. Possui licença sanitária atualizada: 1.()Não 2.()Sim	
Data da última licença: / /	
Peso: _____	Altura: _____
IMC: _____	

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado(a) Senhor(a),

Você está sendo convidada a participar, como voluntária, de uma pesquisa sobre “INFECÇÃO PELOS VÍRUS DAS HEPATITES B e C e HIV EM MANICURES, PEDICURES E PODÓLOGOS EM CAMPO GRANDE, MS”. Este documento irá lhe fornecer informações importantes sobre o estudo. Por favor, leia as instruções abaixo atentamente e, em caso de dúvidas, esclareça-as junto à equipe, para decidir se participa ou não do estudo. No caso de participar do mesmo, assine ao final deste documento. Caso não queira participar, você não será penalizado de forma alguma. Se após os esclarecimentos, você ainda tiver dúvidas, por favor, contate os pesquisadores listados abaixo.

Pesquisador(a) responsável: ANA RITA CASTRO / Telefone para contato: (67) 3345.7559

OBJETIVO DO ESTUDO: Estudar a distribuição das infecções pelos vírus da imunodeficiência humana e das hepatites B e C e, se necessário, estudo de outras infecções futuramente, além dos fatores de risco que as envolvem a adesão e a resposta vacinal contra hepatite B em manicures, pedicures e podólogos em Campo Grande, MS.

CONDUÇÃO DO ESTUDO: Poderão participar do estudo todos os indivíduos do sexo masculino e feminino com idade igual ou superior a 18 anos que exercem ou exerceram a atividade de manicure, pedicure e/ou podólogo na área de abrangência do município de Campo Grande – MS e que concordarem em assinar este termo de consentimento livre e esclarecido. Indígenas, menores de 18 anos ou indivíduos com qualquer tipo de prejuízo de sua capacidade civil não poderão participar do estudo. Se você concordar em participar do estudo e preencher os critérios supracitados, a entrevista, coleta de sangue e vacinação contra hepatite B serão realizadas individualmente em um local privativo, para garantia da privacidade plena dos participantes da presente pesquisa. Todos participantes serão orientados sobre a importância, objetivos, ausência de riscos e benefícios da participação no estudo, assim como a liberdade de sair do estudo a qualquer momento. Aqueles que desejaram participar do estudo serão encaminhados para o local da coleta de dados, quando então será oferecido o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para leitura e assinatura. Após leitura e assinatura do TCLE, será realizada uma

entrevista sobre dados sociodemográficos, conhecimentos e fatores de risco para hepatite B, hepatite C, e HIV/AIDS, biossegurança e esterilização. Não é obrigatório que todas as perguntas do questionário sejam respondidas então, você poderá se recusar a responder algumas questões. Após a entrevista, e antes da coleta de sangue, será realizado o aconselhamento sobre essas infecções. As amostras obtidas (soro e sangue total) serão estocadas em freezer a – 20 °C no Laboratório de Imunologia Clínica da UFMS, por um período de 5 anos, sob a responsabilidade da professora Ana Rita Castro.

RISCOS: Esta investigação não oferece riscos aos participantes. Não existe contra-indicação para participação no estudo em caso da pré-existência de patologias ou infecções contagiosas. Todo material utilizado para punção venosa e vacinação contra hepatite B será estéril e descartável. Os profissionais responsáveis pela coleta e vacinação utilizarão técnica asséptica para realização dos procedimentos. O material utilizado será descartado em recipiente apropriado, para posterior coleta pública de material hospitalar. A vacina contra hepatite B (Instituto Butantan) é fornecida pela Secretaria Municipal de Saúde Pública de Campo Grande – MS, sendo esta a mesma utilizada pelo Programa Nacional de Imunização. Trata-se de uma vacina segura e eficaz que oferece imunização a cerca de 90 – 95% dos indivíduos após o esquema de três doses. A vacina normalmente não causa efeitos adversos, mas algumas vezes, principalmente em crianças, pode causar algumas reações como dor e hiperemia no local da injeção, cefaléia, febre e/ou fadiga que geralmente são leves e de resolução espontânea.

BENEFÍCIOS: As manicures, pedicures e podólogos representam um grupo expostos a um maior risco de aquisição de infecções por HIV e hepatites virais que a população em geral e todos os meios de prevenção devem ser utilizados para proteger a saúde dessas profissionais. Torna-se importante à conscientização das manicures, pedicures e podólogos para uso da proteção individual na sua rotina de trabalho para prevenir futuras doenças. Dessa forma, os benefícios diretos para os participantes desse estudo será o conhecimento de sua situação sorológica em relação a essas infecções, a entrega dos resultados será efetuada individualmente. Os indivíduos confirmadamente reagentes serão encaminhados ao Hospital Dia Prof^a. Esterina Corsini do Núcleo do Hospital Universitário da UFMS para atendimento e avaliação clínico-laboratorial. Outro benefício direto será a administração da vacina contra hepatite B gratuitamente e avaliação da resposta

vacinal. Já os benefícios indiretos serão os conhecimentos obtidos pela pesquisa que permitirão o planejamento de estratégias que tratem os “desiguais” de forma “desigual”, contemplando, assim, suas especificidades, e garantindo a universalidade do atendimento.

CONFIDENCIABILIDADE E PERÍODO DE PARTICIPAÇÃO: A sua participação neste estudo se dará apenas no momento da coleta de dados e vacinação contra hepatite B. Se você concordar em participar, as informações obtidas relacionadas a você serão registradas em formulários próprios. Os dados e resultados serão armazenados e analisados por computador na forma de códigos/números, sendo que os seus dados pessoais serão mantidos em sigilo o tempo todo. Portanto, o seu nome não constará nos formulários ou em qualquer outro registro ou publicação. Ainda, você tem liberdade de retirar o consentimento a qualquer tempo. Este termo será fornecido em duas vias, sendo que uma delas será entregue ao participante e a outra ficará armazenada durante 5 anos sob responsabilidade da professora Ana Rita C. Motta de Castro.

ASSINATURA DO PESQUISADOR:

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS (CEP/UFMS). Assim, se você tiver ainda dúvidas e desejar alguma informação adicional sobre aspectos bioéticos referentes ao presente projeto, por favor, entre em contato com o CEP, no seguinte endereço e telefones:

UFMS Avenida Filinto Muller, s/n – Bairro Cidade Universitária Tel: (67) 3345-7187

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO:

Eu, _____, RG/CPF _____

abaixo assinado, concordo em participar do estudo “INFECÇÃO PELOS VÍRUS DAS HEPATITES B e C e HIV EM MANICURES, PEDICURES E PODÓLOGOS EM CAMPO GRANDE, MS”. Fui devidamente informado e esclarecido pelos pesquisadores sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a

qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/ tratamento.

Local e data: Campo Grande, ____ de _____ de 20____.

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

Assinatura Dactiloscópica:



Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar:

Nome: _____ Assinatura: _____

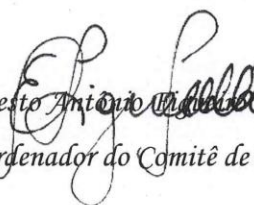
Nome: _____ Assinatura: _____

ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO

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

*Carta de Aprovação*

Atesto que o protocolo nº 2185 CAAE 0281.0.049.000-11 da Pesquisadora Ana Rita Coimbra Motta de Castro intitulado "Infecção pelos vírus das hepatites B e C e HIV em manicures, pedicures e podólogos em Campo Grande-MS", e o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram revisados por este comitê e aprovados em reunião ordinária no dia 19 de outubro de 2011, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.


Ernesto Antonio Magalhães
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 19 de outubro de 2011.

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