



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

JACQUELINE DE AGUIAR BARROS

**CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DO VÍRUS DA HEPATITE B NO ESTADO DE  
RORAIMA**

**Boa Vista, RR**

**2014**

**JACQUELINE DE AGUIAR BARROS**

**CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DO VÍRUS DA HEPATITE B NO ESTADO DE  
RORAIMA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Roraima, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de Concentração: Vigilância Epidemiológica e Indicadores de Agravos à Saúde na Fronteira Pan-Amazônica.

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Granja.

Co-orientador: Prof. Dr. Felipe Gomes Naveca.

**Boa Vista, RR**

**2014**

**JACQUELINE DE AGUIAR BARROS**

**CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DO VÍRUS DA HEPATITE B NO ESTADO DE  
RORAIMA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Roraima, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de Concentração: Vigilância Epidemiológica e Indicadores de Agravos à Saúde na Fronteira Pan-Amazônica. Defendida em 30 de junho de 2014 e avaliada pela seguinte banca examinadora.

---

**Profa. Dra. Fabiana Granja**  
**Orientadora/PROCISA – UFRR**

---

**Prof. Dr. Mario Maciel de Lima Jr**  
**PROCISA – UFRR**

---

**Profa. Dra. Elaine C. Morari**  
**UERR**

**Aos meus maiores incentivadores,  
Pai e Mãe,  
Raimundo Pena Barros e  
Ducineia de Aguiar Barros,  
pelo carinho e apoio de toda a vida.**

## AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, sempre presente em todos os momentos da minha vida;

À minha orientadora, **Profa Dra Fabiana Granja**, por ter me mostrado o novo horizonte da biologia molecular, além de todo o apoio durante a elaboração e execução desse trabalho;

Ao meu co-orientador **Felipe Naveca**, pelos conhecimentos transmitidos e por ter disponibilizado o Laboratório Genômica do Centro de Pesquisa Leônidas e Maria Deane, Fiocruz (CpLMD/Fiocruz) para que pudesse levar pessoalmente as amostras e ter acesso a todo o conhecimento do sequenciamento de DNA;

Ao pesquisador do CpLMD/Fiocruz **Victor Souza pelo** apoio no sequenciamento das amostras no CpLMD/Fiocruz;

Ao professor **Pablo Amezaga**, pelo incentivo e conhecimentos transmitidos;

A **Wilson Junior** pelo companheirismo nos momentos de coleta de amostras e aplicação do questionário e pela paciência em me ensinar a parte prática dos ensaios de biologia molecular;

À **Débora Dinelly** e **Raquel** por terem sido prestativas no momento de “força tarefa” para processarmos todas as amostras;

À **Juliana Cristina**, Bioquímica do LACEN/RR, por todo apoio e companheirismo para o desenvolvimento do estudo;

À **Rosângela** (Nossa querida Baiana), técnica do LACEN/RR, pelo apoio na coleta das amostras analisadas nesse trabalho;

À **Francisca Erineuda**, diretora do Hospital Coronel Mota, pela disponibilidade e colaboração disponibilizando acesso aos dados e serviços dessa instituição para desenvolvimento do estudo;

Às Farmacêuticas do SAE, **Karoline Ribeiro** e **Daniela Mendonça**, por fornecerem dados em relação ao tratamento dos participantes desse estudo;

Aos técnicos do Laboratório de Patologia de Roraima, pelo empenho em procurar os resultados de biópsia hepática dos participantes desse estudo;

Aos colegas da Coordenação Geral de Vigilância em Saúde de Roraima, pela parceria de sempre, um agradecimento especial minha chefe **Cecília Bessa** por toda sua compreensão e incentivo para a realização deste trabalho;

À amiga **Patrícia Maciel** por todo apoio profissional e incentivo para minha formação;

Aos colegas do Núcleo de Controle das Hepatites Virais, **Neyla Maia**, **Francinete Ferreira** e **Marcelo Amaral**, pelo companheirismo e apoio nos momentos mais atribulados;

Aos amigos **Jairzinho Rabelo** (nascido na década de 70) e **Carlos Benites**, pela amizade trazida pelas corridas e contribuição intelectual na minha vida acadêmica;

Aos amigos de infância **Márcio Gustavo Borges** e **Wildson Braga** por terem me incentivado a continuar na vida acadêmica;

Aos amigos do **Grupo Pampulha (Baiacus)** que mesmo à distância estão sempre me apoiando na vida, na corrida e vida acadêmica;

Aos amigos do Grupo de Corrida Papa-léguas por todo o incentivo na vida, nas corridas e na vida acadêmica, em especial ao **Mestre Márcio Cruz** e às amigas **Cecília, Suze, Apoena, Celinha e Késia**.

Aos meus irmãos, **Líbia Barros** e **Rodrigo Barros**, por todo apoio e companheirismo em muitos momentos da minha vida;

Ao meu namorado, **Paulo Bruschi**, por ser meu porto seguro com toda sua paciência e compreensão;

Aos meus verdadeiros amigos que hoje se alegram com meus logros.

"Assim como nas corridas, as maiores batalhas da vida são travadas na solidão. E na vida, assim como nas corridas, o mais importante é o ato de participar, ainda que a ilusão da vitória dê forças para continuar lutando".

(Emil Zaptpek)

## RESUMO

A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) é um problema de saúde pública no Brasil e no mundo. Subpopulações de 10 genótipos do HBV (definidos de A – J) circulam pelo mundo, apresentando distribuição heterogênea. Evidências crescentes relacionam os genótipos do HBV a diferenças clínicas apresentadas por indivíduos infectados, tais como na patogênese da doença, viremia, surgimento de mutantes, resposta e resistência ao tratamento antiviral. Roraima integra a Amazônia ocidental, considerada de alta prevalência para hepatite B. No entanto, não há estudos que caracterizem a infecção e os genótipos circulantes nessa população. O objetivo do estudo foi descrever o perfil epidemiológico e genotípico da infecção crônica pelo vírus da hepatite B (HBV) no estado de Roraima. Para tanto obtivemos informações para descrição do perfil epidemiológico da doença através da aplicação de questionário específico do estudo, através de prontuários clínicos e informações fornecidas por instituições e Sistemas de Informação que compõem a Rede de Serviços das Hepatites Virais no estado de Roraima. Determinou-se os genótipos do HBV através amplificação do gene S do HBV, pela técnica de *nested-PCR* e posterior sequenciamento do fragmento amplificado. Participaram do estudo 66 portadores de hepatite B crônica, o que representa 11,92% dos 503 casos notificados no banco de dados de Roraima do SINAN. A média de idade entre os participantes do estudo foi de 44,5 anos; homens e mulheres apresentaram o mesmo risco de exposição ao HBV e 51,28% completaram o ensino médio indicando que quanto menor o grau de instrução maior a chance de infecção. Relacionou-se estatisticamente como fatores de risco à infecção pelo HBV, o uso de drogas ilícitas, comportamento sexual de risco, possuir contato familiar com portadores de hepatite B e acidente com material perfuro-cortante. O genótipo A foi o mais prevalente nas amostras sequenciadas no estado de Roraima representando 91,67%, seguido pelo genótipo D com 8,33%. Identificou-se ainda subgenótipos A1, A2 e D2.

Palavras-chave: Hepatite B, Epidemiologia, Genótipos, Biologia Molecular, Brasil, Amazônia, Roraima.

## ABSTRACT

The infection by hepatitis B virus (HBV) is a public health problem in Brazil and worldwide. Subpopulations of 10 genotypes of HBV (defined from A to J) circulate worldwide, showing a heterogeneous distribution. Growing evidences relate HBV's genotypes to the clinical differences presented by infected individuals, such as the disease pathogenesis, viremia, mutant's appearance, response and resistance to antiviral treatment. Roraima integrates western Amazon, considered of high prevalence to hepatitis B. However, there are not studies that characterize the infection and the circulating genotypes in this population. The objective of this study was describing the epidemiological and genotype profile of chronic infection by hepatitis B virus (HBV) in Roraima State. For this, we obtained information to the disease's epidemiological profile description through the application of a specific survey, through the clinical records and information provided by institutions and information's systems that compose Viral Hepatitis Network Services in Roraima state. The genotypes were determined through amplification of the HBV's S gene, by the nested-PCR technique and the fragment sequencing. Sixty six porters of chronic hepatitis B participated of this study, resulting in 11,92% of 503 reported cases in Roraima. The age average among the participants was 44,5 years old; men and women presented the same risk of exposition to HBV and 51,28% completed high school indicating that the lower instruction level, the higher the infection chance. It was statistically related to HBV's infection risk, the use of illegal drugs; sexual risk behavior; Owing familiar contact with hepatitis B porters and accidents with cutting and piercing equipment. The genotype A was the most prevalent in the sequenced samples of Roraima, representing 91,67%, followed by genotype D with 8,33%. Subgenotypes A1, A2 and D2 was also identified.

Keywords: Hepatitis B, Epidemiology, Genotypes, Molecular Biology, Brazil, Amazon, Roraima.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Micrografia e ilustrações mostrando partícula completa (partícula de Dane) e partículas incompletas do HBV .....	16
Figura 2	Proteína de superfície do HBV .....	17
Figura 3	Representação esquemática dos componentes do genoma e seus antígenos .....	18
Figura 4	Representação esquemática do Gene S .....	18
Figura 5	Esquema da replicação do material genético no HBV .....	19
Figura 6	Fases da história natural da hepatite B .....	23
Figura 7	Curvas sorológicas da infecção aguda e crônica da hepatite B ..	26
Figura 8	Mapa da prevalência mundial da infecção crônica pelo vírus da hepatite B em Adultos, 2005 .....	32
Figura 9	Taxa de detecção de hepatite B (por 100.000 habitantes) segundo UF de residência, Brasil, 2010 .....	33
Figura 10	Taxa de detecção da hepatite B por município de residência, Roraima, 2007 a 2013 .....	33
Figura 11	Distribuição global dos genótipos e subgenótipos do HBV .....	34
Figura 12	Distribuição dos genótipos do HBV nas regiões do Brasil .....	35
Figura 13	Rede de atenção às hepatites virais no estado de Roraima .....	40
Figura 14	Técnica de <i>nested</i> - PCR .....	44
Figura 15	Gel de Agarose 1,5% da PCR1 e PCR2 .....	45
Figura 16	Exemplo de cromatograma gerado a partir do sequenciamento, utilizado para análise da qualidade das sequências geradas .....	47
Figura 17	Exemplo de cromatograma de uma das regiões de início e/ou fim das sequencias os quais foram removidos na construção da sequencia consenso.....	47
Figura 18	Eletoferograma da sequência consenso do HBV-DNA .....	47
Figura 19	Fluxograma aplicação dos questionários .....	50
Figura 20	Comparação da distribuição por faixa etária dos participantes do Estudo (n = 66) e dos casos de hepatite B notificados no SINAN	52
Figura 21	Cobertura vacinal contra hepatite B, por faixa etária, série histórica de terceiras doses aplicadas, Roraima, 1994 a 2011 .....	53
Figura 22	Comparação da distribuição de casos de Hepatite segundo sexo entre os participantes do estudo (n = 66), casos de Hepatite B	55
Figura 23	Comparação da distribuição de casos de hepatite segundo raça entre os participantes do estudo (n = 66), casos de Hepatite B	56
Figura 24	Participantes do estudo (n = 66) e distribuição de genótipos e subgenótipos do HBV por município de residência, Roraima, Brasil .....	62

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Fatores de risco para progressão de cirrose e carcinoma hepatocelular .....	25
Quadro 2	Principais características dos medicamentos utilizados para tratamento da hepatite B crônica .....	28
Quadro 3	Caracterização dos genótipos do HBV .....	29
Quadro 4	Competências nos níveis de atendimento das hepatites virais no SUS .....	39
Quadro 5	Relação de identidade entre as amostras obtidas no estudo e as amostras no <i>GenBank</i> .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Sequência dos iniciadores usados nas reações de PCR	44
Tabela 2	Situação vacinal dos participantes do estudo, Roraima, 2013 .....	54
Tabela 3	Carga viral e situação de tratamento dos participantes do estudo	60
Tabela 4	Relação carga viral e situação de tratamento dos participantes do estudo .....	60
Tabela 5	Variáveis clínicas relacionadas aos genótipos e subgenótipos do HBV .....	63

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1	HISTÓRICO .....	14
1.2	CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO HBV .....	15
1.3	REPLICAÇÃO DO HBV .....	19
1.4	TRANSMISSÃO E PREVENÇÃO DO HBV .....	20
1.5	HISTÓRIA NATURAL DA HEPATITE B .....	22
1.6	DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA HEPATITE B .....	25
1.7	TRATAMENTO DA HEPATITE B .....	27
1.8	VARIABILIDADE GENÉTICA DO HBV .....	29
1.9	ASSOCIAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS DO HBV E CURSO CLÍNICO DA INFECÇÃO .....	30
1.10	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA HEPATITE B E GENÓTIPOS DO HBV .....	31
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	36
3	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	37
4	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	39
4.1	DESENHO DO ESTUDO .....	39
4.2	LOCAL DO ESTUDO .....	39
4.3	SUJEITO DA PESQUISA .....	42
4.4	TRANSPORTE DO MATERIAL .....	42
4.5	EXTRAÇÃO DO DNA VIRAL .....	43
4.6	QUANTIFICAÇÃO DO DNA POR ESPECTROFOTOMETRIA .....	43
4.7	ESCOLHA DOS INICIADORES .....	43
4.8	AMPLIFICAÇÃO DO DNA .....	44
4.9	PRECIPITAÇÃO DE PRODUTO DA PCR COM POLIETILENOGLICOL (PEG) .....	46
4.10	REAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO .....	46
4.11	PURIFICAÇÃO DA REAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO .....	46
4.12	DETERMINAÇÃO DO GENÓTIPO DO VÍRUS DA HEPATITE B .....	46
4.13	BIOSSEGURANÇA .....	48
4.14	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	48
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	49
6	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	65
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	68
	<b>ANEXOS</b> .....	77
	<b>APÊNDICES</b> .....	88

## INTRODUÇÃO

### 1.1 HISTÓRICO

Atualmente está sedimentado que o termo hepatite significa inflamação no fígado e que pode ter várias causas, tais como uso excessivo de álcool, medicamentos, chás, distúrbios imunológicos. Além disso, algumas doenças infecciosas (dengue, febre amarela, leptospirose, malária, citomegalovírus) e doenças autoimunes também podem causar inflamação no fígado. As hepatites virais pertencem a um grupo específico de hepatite causada por vírus que têm tropismo pelas células do fígado, definidos pelas letras do alfabeto A, B, C, D e E. Estes podem ser divididos em dois grupos, o das hepatites A e E que possuem transmissão oral-fecal e evolução clínica aguda e das hepatites B, C e D que possuem transmissão sexual ou por contato com sangue contaminado e possuem potencial de cronificação (ALVARYZ, 2013, BRASIL, 2008-A, BRASIL, 2008-B, MARINHO, 2003).

No entanto, a história das hepatites remonta milênios, há referências da ocorrência de hepatite epidêmica na literatura chinesa há mais de cinco mil anos, na Babilônia há mais de 2.500 anos e nos escritos de Hipócrates no século IV a.C. Em Épocas de Guerras, também foram relatadas epidemias de icterícia durante a guerra da Sucessão Austríaca (1743), de Napoleão no Egito (1798), Franco-Prussiana (1870) e Secessão Americana (1861-1865) e durante a Segunda Grande Guerra, onde o número estimado de casos de hepatite foi cerca de 16 milhões. Nessa época a forma de transmissão e a etiologia destes surtos eram desconhecidas (FREITAS, 2003, FONSECA, 2010).

Ao contrário da hepatite epidêmica, a hepatite sérica surgiu na história há pouco mais de um século. O primeiro relato documentado de epidemia por icterícia de longo período de incubação ocorreu em Bremen, na Alemanha, envolvendo trabalhadores de um grande estaleiro naval. Esta epidemia foi estudada por Lüdman que publicou em 1885 um relatório que é considerado o relato da primeira epidemia por hepatite B no Mundo. Neste estudo observou-se que aproximadamente 15% dos vacinados começaram a desenvolver icterícia e que não houve casos entre os

trabalhadores vacinados fora do estaleiro ou entre os não vacinados. Diante dessas observações, concluiu-se que a exposição parenteral fosse a possível via de transmissão da doença (FREITAS, 2003, FONSECA, 2010).

Na primeira metade do século XX, surtos de hepatite com longo período de incubação foram associados ao compartilhamento de seringas e agulhas; transfusões de sangue; uso de vacinas estabilizadas com soro humano e ao uso da insulina (MARINHO, 2003, FONSECA, 2010).

Diante das diferenças epidemiológicas e clínicas dos distintos casos de icterícia que ocorreram durante a II Guerra Mundial, foi possível distinguir dois agentes virais que causavam a hepatite infecciosa e hepatite de longo período de incubação. Em 1947, MacCallum introduziu os termos hepatite A e hepatite B, respectivamente, para definir ambas. Posteriormente, a Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Comitê das Hepatites Virais da OMS adotaram essa nomenclatura que vigora até os dias atuais (FREITAS, 2003).

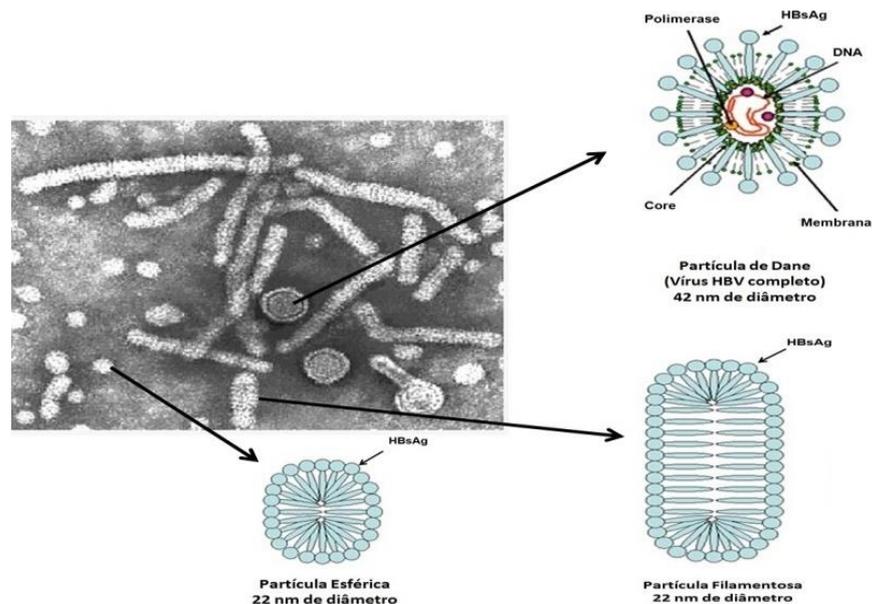
No Brasil, nas décadas de 40 e 50, as vacinas eram estabilizadas de soro humano, além disso, seringas e agulhas eram compartilhadas para aplicação. Nesse período ocorreu um surto de icterícia pós-vacinal no estado do Espírito Santo, onde foram notificados mais de mil casos de icterícia pós vacinal. Na Região Amazônica Brasileira, considera-se que a vacinação em massa contra Febre Amarela foi uma das principais formas de disseminação da hepatite B. Além disso, toma igual relevância para disseminação da doença nessa região o compartilhamento de lancetas utilizadas para punção digital no diagnóstico da malária (FONSECA, 2010).

## 1.2 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO HBV

O vírus da hepatite B (HBV) é um vírus envelopado pertencente à família *Hepadnaviridae* e que encontra maior suporte para sua replicação nos hepatócitos. No entanto, ele também pode ser encontrado, em células extra-hepáticas, como rins, pâncreas e células mononucleares, porém em menor quantidade, pois estas células fornecem suporte menos eficiente à replicação viral (MARINHO, 2003, LOPES, 2010).

A partícula viral íntegra, denominada partícula de Dane, possui 42 nm de diâmetro. Externamente constitui-se por envelope proteolipídico de 7nm de espessura, constituído principalmente por antígeno de superfície do vírus (HBsAg). Internamente possui uma cápsula proteica, denominada core, que mede 27 nm de diâmetro, constituído pelo antígeno do core (HBcAg) e que não é secretado para a corrente sanguínea, sendo mais abundantemente nos hepatócitos. No interior do core, encontra-se o DNA viral, a proteína DNA polimerase (Proteína P) e o antígeno nuclear do HBV (HBeAg). O HBeAg não faz parte da estrutura do HBV, encontra-se solúvel no soro, mas é sintetizado a partir do mesmo gene que codifica a proteína do core. Além da partícula de Dane encontra-se no soro dos indivíduos infectados pelo HBV, outras duas formas distintas de partículas virais incompletas não infecciosas uma com forma esférica e outra com forma filamentosas, ambas apresentam diâmetro de 22 nm, sendo que a filamentosas possui comprimento variável. A natureza não infecciosa das partículas incompletas justifica-se pelo fato de serem compostas exclusivamente por HBsAg, não apresentando core, polimerase e DNA (Figura 1) (MARINHO, 2003, MATOS, 2007-A, ANDRADE, 2008, FRIAS, 2008, ARAUJO, 2008, NOVA, 2010).

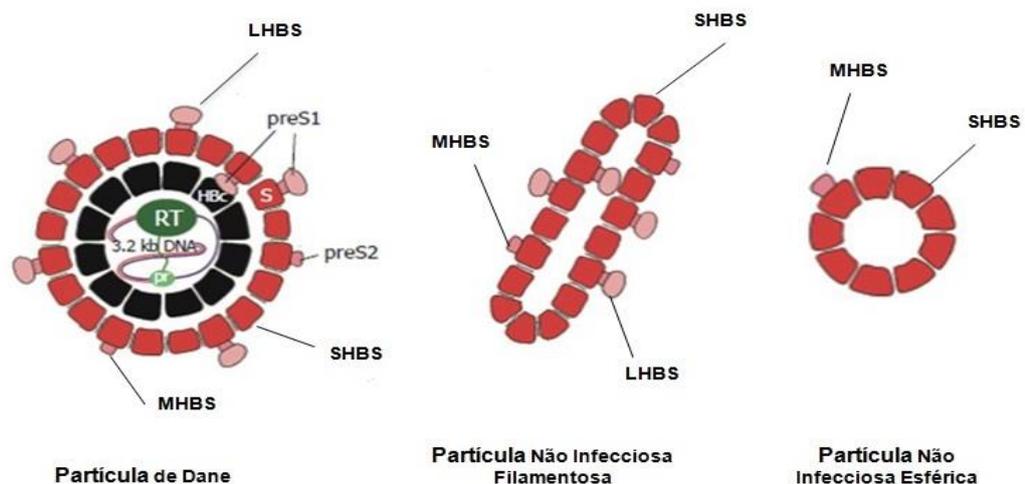
Figura 1 -Micrografia e ilustrações mostrando partícula completa (partícula de Dane) e partículas incompletas do HBV (esférica e filamentosas).



Fonte: HUNT, 2013. Modificado do Original

O envelope lipídico externo do HBV é composto pelas proteínas S pequenas (SHBs), médias (MHBs) e grandes (LHBs), que constituem o HBsAg. A proteína grande contém os domínios preS1, preS2 e S; a proteína média o domínio preS2 e S e a proteína pequena apenas pelo domínio S. A proteína pequena é a mais comum dessas proteínas, encontrando-se nesta o determinante antigênico “a”, comum a todos os subtipos do HBV e é alvo para o anticorpo formando contra o antígeno de superfície do HBV (anti-HBs). A partícula de Dane possui as três proteínas, SHBs, MHBs e LHBs, na sua superfície. As partículas virais não infecciosas esféricas e filamentosas possuem as proteínas MHBs e SHBs, as proteínas LHBs podem estar presentes nas formas filamentosas em indivíduos com alta viremia (Figura 2) (FRIAS, 2008).

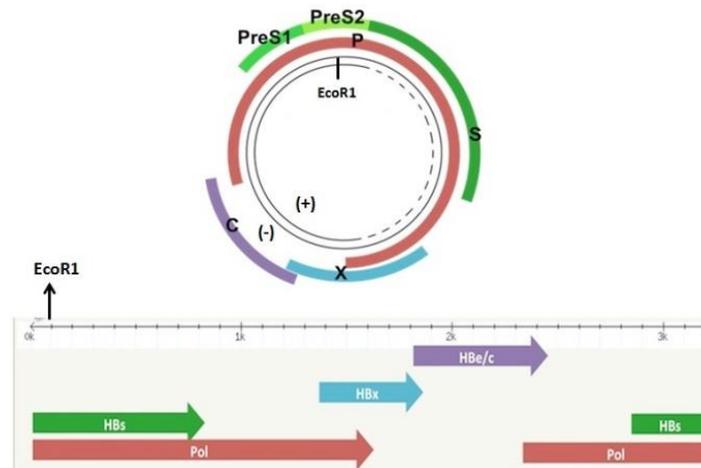
Figura 2 - Proteínas de superfície do HBV



Fonte: DIETER (2007). Modificado do original.

O genoma do HBV mede entre 3182 a 3248 pb, dependendo dos genótipos, sendo considerado um dos menores genomas entre os vírus que infectam o homem. A molécula do DNA viral é circular, com fita parcialmente dupla e com quatro regiões abertas de leitura (ORFs) S, P, C, X, que se apresentam fortemente sobrepostas (67%). (Figura 3) (ARAUJO, 2008, FRIAS, 2008).

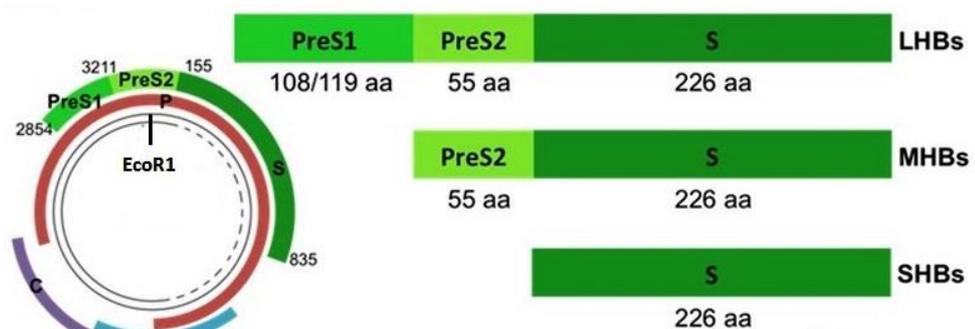
Figura 3 - Representação esquemática dos componentes do genoma e seus antígenos associados



Fonte: THE HEPATITIS B VIRUS DATABASE (2014)– A.Modificado do original.

Cada região codifica uma proteína específica da estrutura partícula viral. Assim, a região genômica pre-S/S codifica as proteínas de superfície viral que compõem o HBsAg (LHBs, MHBs e SHBs) através de 3 diferentes códons de iniciação: preS1 (108 a 119 aa, dependendo do genótipo) presente apenas na LHBs; preS2 (55 aa) presente nas proteínas LHBs e MHBs e S (226 aa) presente nas três proteínas de superfície (Figura 4) (GLEBE, 2007)

Figura 4 - Representação esquemática do gene S



Fonte: THE HEPATITIS B VIRUS DATABASE (2014) - B

O gene C possui 2 códons de iniciação, a região pre-core e a região core, que codificam as proteínas HBeAg e HBcAg, respectivamente. O HBeAg indica que a replicação viral está ativa e o HBcAg protege o DNA viral da degradação por

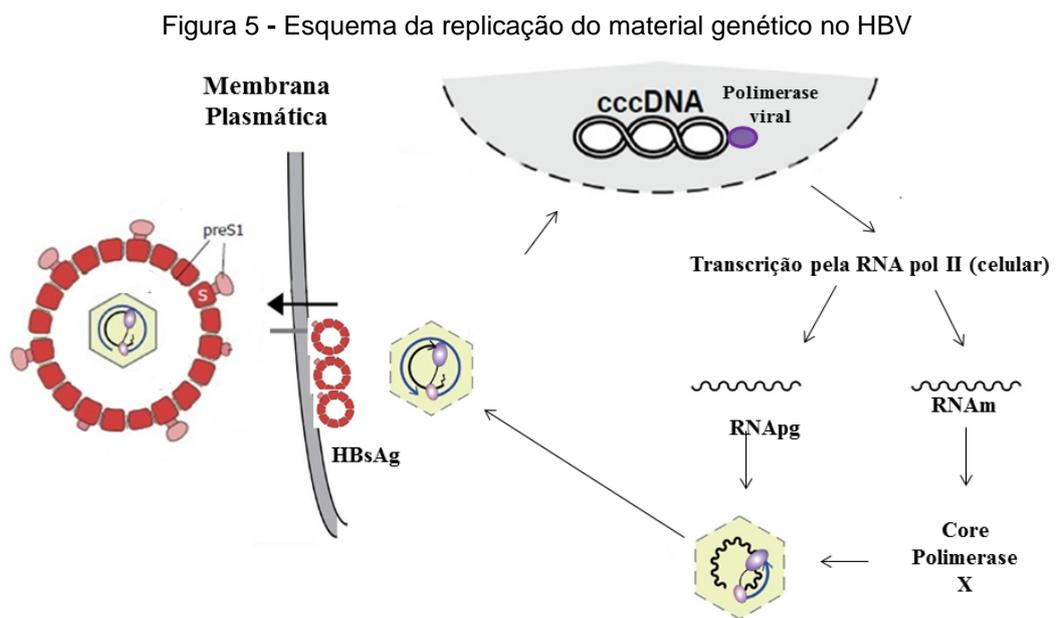
nucleases exógenas. Embora sejam derivados do mesmo gene, HBcAg e HBeAg, não apresentam reação antigênica cruzada (MARINHO, 2003, BECK, 2007).

O gene P é o mais longo do HBV, estendendo-se por aproximadamente 80% o genoma viral sobrepõe-se aos genes S, C e X. Atua codificando a polimerase do vírus, que é uma proteína multifuncional que funciona como transcriptase reversa e como DNA polimerase endógena (NASSAL, 2008).

O gene X codifica HBx atua na modulação da transcrição, reparação de danos do DNA, progressão do ciclo celular e a apoptose. Além disso, está também associado a processos de carcinogênese decorrentes da transativação de promotores celulares e virais e do metabolismo intra-hepático de bases purina e pirimidina, requerida para que a replicação viral seja eficiente (TANG, 2006, BENHENDA, 2009).

### 1.3 REPLICAÇÃO DO HBV

A replicação do material genético no HBV (Figura 5), inicia-se com a ligação da partícula viral ao hepatócito mediada pela glicoproteína de superfície preS1 e um receptor do hepatócito.



Fonte: BECK (2007). Modificado do original.

Após a absorção, o vírus perde seu envelope liberando o core no citoplasma, este se dirige ao núcleo celular interagindo-se com os poros nucleares e liberando o genoma do HBV no interior do núcleo celular, onde é convertido, pela DNA polimerase viral, numa cadeia circular fechada de DNA com ligações covalentes (cccDNA). A RNA polimerase II celular transcreve a partir do cccDNA o RNA mensageiro (RNAm), utilizado para síntese das proteínas do core, polimerase e X, e o RNA pré-genômico para síntese do genoma viral. O RNA pré-genômico é encapsulado no interior do core, juntamente com a polimerase viral, que vai sintetizando o DNA viral e ao mesmo momento degrada o RNA que serve de molde. Esta característica de utilizar a transcrição reversa de um pré-genoma intermediário faz com que o HBV se assemelhe aos retrovírus (MARINHO 2003; ALVARIZ, 2006; BECK, 2007, ANDRADE, 2008, FRIAS, 2008). As proteínas do envelope viral são sintetizadas na membrana do retículo endoplasmático (RE), posteriormente são liberadas para o lúmen do RE, em seguida as partículas do core são envolvidas por HBsAg e secretadas do hepatócito (ONO-NITA, 2008).

#### 1.4 TRANSMISSÃO E PREVENÇÃO DO HBV

O sangue apresenta a maior concentração de HBV, mas o vírus também pode ser encontrado em outros fluídos corpóreos potencialmente infectantes como o sêmen, secreções vaginais, líquido cefalorraquidiano, líquido sinovial, líquido pleural, líquido peritoneal, líquido pericárdico e líquido amniótico. Por outro lado, fezes, urina, suor, lágrimas, saliva e vômito, não apresentam potencial de transmissão desde que não estejam contaminados com sangue (MARINHO, 2003).

A transmissão se faz por via parenteral, e, sobretudo, pela via sexual, sendo a única hepatite viral considerada sexualmente transmissível. As chances de transmissão sexual chegam a 80%. A transmissão vertical é causa frequente de disseminação desse vírus em áreas de alta endemicidade. O risco de transmissão vertical chega a 90% em mães HBeAg positivo. No entanto, existe uma forma eficiente de evitar a transmissão vertical da hepatite B que é a aplicação da primeira dose de vacina e de imunoglobulina humana anti-hepatite B (IGHAHB) no recém-nascido, nas primeiras 12 horas de vida. Após a realização desse procedimento, a

amamentação deixa de trazer riscos adicionais para transmissão e está liberada (BRASIL, 2008-A, MARINHO, 2003).

O HBV é considerado bastante infectivo e sabe-se que uma só partícula viral é capaz de infectar o ser humano, além de ser estável e resistente ao meio ambiente, sobrevivendo até 07 dias fora do corpo humano, o que proporciona altos índices de contaminação nos indivíduos expostos a este agente viral. Esta condição facilita a transmissão através do contato de pele não integra com superfícies contaminadas e compartilhamento de objetos de higiene pessoal (toalhas, escovas de dente e barbeadores), alicates de unha e instrumentos para uso de drogas (inaláveis, injetáveis e crack)(BRASIL,2008-A, MARINHO, 2003).

Em áreas de alta endemicidade, o risco de transmissão intradomiciliar da hepatite B é de 3 a 6% quando um dos residentes é portador crônico e as crianças menores de 5 anos apresentam maior risco de infecção. Os fatores condicionantes para esse tipo de transmissão são o ambiente familiar com péssimas condições de moradia, infestações de artrópodes e frequentes lesões de pele, tais como escabiose, impetigo e estrofuloderma (FONSECA, 2008).

Apesar da facilidade de transmissão, a hepatite B pode ser erradicada, pois possui vacina com eficácia reconhecida que induz imunidade de 90% a 95% em pessoas que completam esquema. Além de possuir imunoglobulina humana anti-hepatite B, que induz imunização passiva, ambas estão disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS).

A vacina recombinante contra a hepatite B é constituída por HBsAg purificado, obtido por engenharia genética. O esquema vacinal é realizado em três doses, com intervalo de 1 mês entre a primeira e a segunda dose e de 6 meses entre a primeira e terceira doses (0,1 e 6 meses). Em caso de esquecimento de alguma dose e consequente atraso na aplicação, deve-se completar o esquema de três doses, não havendo necessidade de recomeçar (BRASIL, 2008-B). Em 2013, com o objetivo de dar continuidade ao processo de busca de melhores condições de saúde, o Ministério da Saúde ampliou a vacinação contra hepatite B, para a faixa etária de 30 a 49 anos. Além disso, houve a recomendação de garantir a vacinação de hepatite B, mesmo para pessoas acima da faixa etária recomendada, para os grupos de alta suscetibilidade como profissionais de saúde, coletadores de lixo, comunicantes de

portadores de HBV, homens que fazem sexo com homens, mulheres que fazem sexo com mulheres, lésbicas, gays, bissexuais, manicures, pedicuros, profissionais do sexo, dentro outros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). Em Roraima, por ser área endêmica para este agravo e ter população pequena, a vacina está disponível para todas as faixas etárias, mesmo as que estejam acima da recomendada pelo Ministério da Saúde.

A imunoglobulina humana anti-hepatite B é obtida de plasma de doadores selecionados, submetidos recentemente à imunização com vacina contra a hepatite B, com altos títulos de Anti-HBs. Em adulto, recomenda-se dose única de 0,06 mL/Kg por via intramuscular e para recém-nascido utiliza-se dose de 0,5 mL por via intramuscular. Além da indicação como medida adicional na profilaxia da transmissão vertical, a imunoglobulina também é indicada para parceiros sexuais ou domiciliar (não sexual) de pessoas com hepatite B aguda; vítimas de estupro não vacinadas e profissionais de saúde (inclusive da área de limpeza) que tiverem exposição ao sangue, por via percutânea ou permucosa (BRASIL, 2008-A).

Em 2012, o Ministério da Saúde ampliou o Calendário Básico de vacinação da Criança com a introdução da Vacina Pentavalente que além da hepatite B também previne contra difteria, tétano, *Bordetellapertussis* e meningites causadas por *Haemophilusinfluenzae* tipo b. Em recém-nascidos ou crianças menores de 1 mês de idade, deve-se aplicar a primeira dose de vacina de hepatite B recombinante (de preferência nas primeiras 12 horas de vida no caso dos recém nascidos) e completar esquema com 03 doses da vacina pentavalente com intervalo de 60 dias (mínimo de 30 dias), aos 2, 4 e 6 meses de idade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

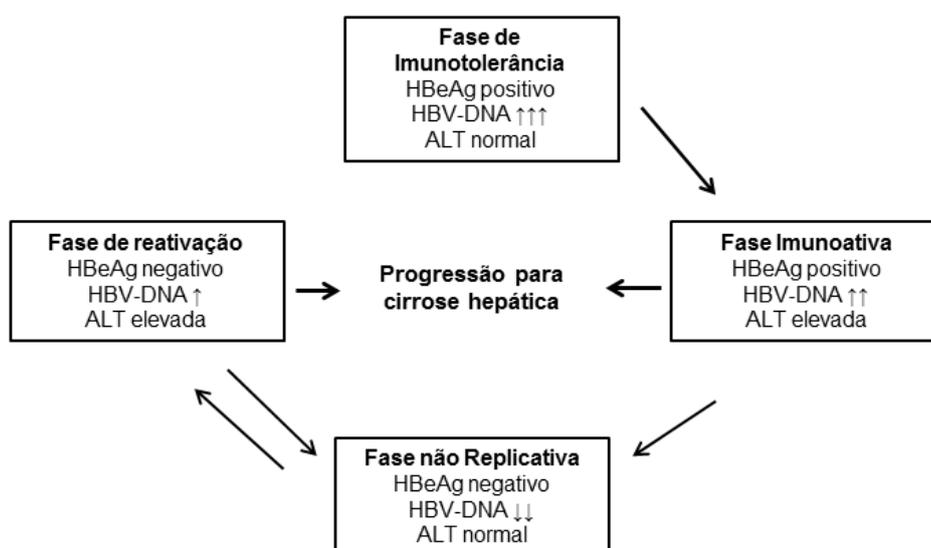
## 1.5 HISTÓRIA NATURAL DA HEPATITE B

A história natural da hepatite B é complexa, a evolução para forma crônica da doença é influenciada principalmente pela idade que aconteceu a infecção. Em indivíduos infectados por transmissão vertical a chance de cronificação é de 90% a 95%. A transmissão ocorrendo até os 05 anos de idade, conhecida como transmissão horizontal precoce, o risco de cronificação é de 70% a 90% e se ocorrer na fase da adolescência ou adulta as chances são de 5% a 10% dos casos (MELLO,

2008, NUNES, 2009, ORGANIZAÇÃO MUDIAL DE GASTROENTEROLOGIA, 2008).

A eliminação do HBV na fase aguda depende do trabalho integrado, pronto e vigoroso do sistema imunológico do hospedeiro realizado através da resposta imune celular, produção de citocinas inflamatórias e imunidade humoral (produção de anticorpos). Da mesma forma, a evolução para cronicidade pode ser causada por falha nessa resposta imunológica. A resposta celular inicia-se quando os linfócitos T citotóxicos reconhecem epítomos do vírus expressos pelos hepatócitos infectados, causando a lise destes, o que caracteriza a base histológica da fase aguda da hepatite B. As células do sistema imunológico também produzem citocinas inflamatórias (Interferon I e II) que recrutam e ativam macrófagos que secretam fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina, estas ativam células *Natural Killer* (NK) que também têm a função de destruir células infectadas. A imunidade humoral contribui igualmente para a eliminação do vírus, pois as células B do sistema imunológico produzem o Anti-HBs que neutraliza o HBsAg. (MARINHO, 2003, BARONE, 2006). O curso natural da hepatite B pode ser dividido em até quatro fases (Figura 6).

**Figura 6** – Fases da história natural da hepatite B



\*VHB-DNA: ↑discreto aumento sérico; ↑↑aumento moderado; ↑↑↑aumento elevado; ↓diminuição moderada. ALT = alanina aminotransferase; HBe- Ag = antígeno da hepatite B

**Fonte:** NUNES, 2009. Adaptado do original.

A primeira fase da história natural da hepatite B é a **fase de Imunotolerância** que apresenta-se clinicamente assintomática e caracteriza-se pela presença de altas taxas de replicação viral (HBeAg reagente); altos títulos de HBV-DNA no soro e tecido hepático ( $10^{5-10}$  cópias por mL); aminotransferases normais ou discretamente elevadas; não há morte dos hepatócitos (fígado normal ou com mínima atividade histológica inflamatória) e intensa expressão imunohistoquímica de HBcAg e HBsAg. Esta fase pode durar de 10 a 30 anos em indivíduos infectados no período perinatal ou horizontal precoce e pode ser mais curta se a infecção acontecer durante a adolescência e fase adulta de vida (FONSECA, 2007, NUNES 2009).

Na segunda fase, definida como **imunoativa ou hepatite B crônica**, as respostas imunes celular e humoral são ativadas promovendo intensa ação inflamatória com consequente apoptose dos hepatócitos, esta fase caracteriza-se pela elevação dos níveis séricos de ALT e decréscimo de HBV-DNA ( $> 10^5$  cópias/mL e  $< 10^{7-10}$ ). Permanecendo nessa fase o portador pode evoluir para cirrose ou carcinoma hepatocelular (CHC) no período de no máximo 20 anos. Um importante desfecho da fase imunoativa é a soroconversão de HBeAg para anti-HBe. Evoluindo, assim, para a terceira fase, conhecida como **não replicativa**, nesta fase nota-se a presença de HBsAg reagente, anti-HBe reagente, títulos baixos ou indetectáveis do HBV-DNA, ALT normal, mínima lesão histológica hepática, risco diminuído de progressão para cirrose, curso assintomático e de bom prognóstico. Portadores inativos do HBV tem chance de 70% a 90% de permanecerem nessa fase pelo resto da vida (FONSECA, 2007, NUNES 2009).

Por fim, a quarta fase, denominada **fase de reativação do HBV**, caracteriza-se pela soro-reversão de HBeAg positivo em pacientes previamente com HBeAg negativo, causando aumento dos níveis de ALT 5 a 10 vezes acima do limite superior de normalidade, elevados níveis de carga viral e lesão histológica ativa. A reativação pode acontecer espontaneamente ou ser desencadeada por estados imunossupressores. Além de ser um fenômeno intrínseco aos *hepadnavirus*, podendo ocorrer 2 a 3 alternâncias de reativação num período de 7 anos. Essas alternâncias aumentam as chances de progressão para fibrose hepática. (FONSECA, 2007, NUNES 2009).

O risco de evolução para cirrose ou CHC em portadores de hepatite B crônica pode ser influenciado por fatores relacionados ao hospedeiro, ao vírus ou concomitância de algumas substâncias tóxicas, tais como descritos no quadro1.

Quadro 1 – Fatores de risco para progressão de cirrose e carcinoma hepatocelular

Fatores de Riscos	Cirrose Hepática - Evidências	CHC - Evidências
<b>Hospedeiro</b>		
Idade > 40 anos	Forte	Forte
Sexo masculino	Forte	Forte
Gravidade da fibrose (F3)	Forte	--
Presença de cirrose	--	Forte
Historia familiar de CHC	--	Forte
Reativação recorrente	Forte	--
Etnia (asiático-africanos)	--	Forte
Diversidade genética	Controversa	Controversa
<b>Vírus</b>		
Carga viral alta	Forte	Forte
Mutantes VHB	Crescente	Crescente
Coinfecção (VHC/VHD/HIV)	Forte	Forte
Genótipo	Crescente	Crescente
<b>Outros fatores</b>		
Ingesta alcoólica > 60 g/dia	Forte	Forte

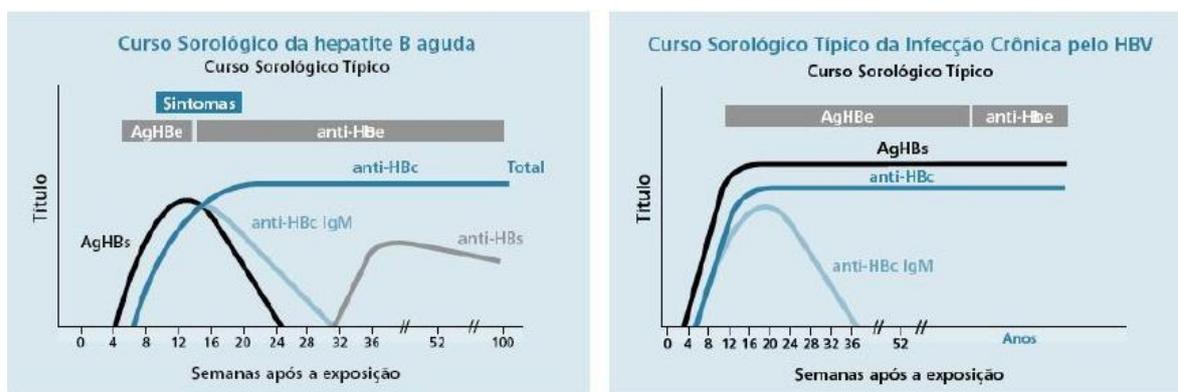
Fonte: FATTOCH (2008). Modificado do original.

## 1.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA HEPATITE B

O diagnóstico sorológico da hepatite B está baseado na interpretação de 06 marcadores sorológicos (HBsAg, Anti-HBc total, Anti-HBc IgM, HBeAg, Anti-HBe e Anti-HBs), que estão relacionados com a estrutura do vírus e cada um fornece uma informação específica para o diagnóstico. O primeiro marcador que aparece no curso sorológico da infecção do HBV é o HBsAg, que indica a presença do vírus no organismo. Na hepatite aguda, ele declina a níveis indetectáveis em até 24 semanas (06 meses). A infecção é considerada crônica se o HBsAg persistir no soro após seis meses do início da infecção (portadores de hepatite B aguda são orientados a repetir a sorologia 06 meses após a infecção). Contra o core do HBV

são formados dois anticorpos, Anti-HBc total e Anti-HBcIgM, o primeiro possui tanto o anticorpo IgM quanto o IgG sendo marcador de contato prévio com o vírus (apresentando positivo na fase aguda, crônica e cura da doença) e o segundo, por apresentar somente a porção IgM, indica que a infecção está na fase aguda. Assim, a hepatite aguda é definida com HBsAg reagente, Anti-HBc Total reagente e Anti-HBc IgM reagente e a hepatite crônica com HBsAg reagente, Anti-HBc Total reagente e Anti-HBc IgM não reagente. A replicação do HBV é indicada pela presença do HBeAg e o surgimento do anti-HBe indica o fim da fase de replicação viral. Por fim, a cura é definida pelo desaparecimento do HBsAg e surgimento do anti-HBs, que está presente no soro entre 4 a 10 semanas após o desaparecimento do HBsAg, dessa forma a cicatriz sorológica é definida com HBsAg não reagente, Anti-HBc Total reagente e Anti-HBs reagente, indicando imunidade por doença. (Figura 7). Indivíduos vacinados apresentam Anti-HBs reagente isoladamente, pois a vacina é composta apenas por HBsAg produzido por engenharia genética, indicando imunidade por vacina. (ARAÚJO, 2008, PARANA, 2008, BRASIL, 2009)

Figura 7 - Curvas sorológicas da infecção aguda e crônica da hepatite B



Fonte: BRASIL (2008-A).

A análise molecular para o HBV são indicados nas seguintes situações: sorologia com Anti-HBc Total reagente, associado ao HBsAg não reagente e Anti-HBs não reagente configurando suspeita de hepatite B oculta (mutantes virais com modificações antigênicas ou baixa produção de HBsAg); suspeita de possível mutação no pré-coreA-1896 (mutantes virais que não produzem HBeAg); suspeita

de resistência aos anti-virais (por exemplo, lamivudina que tem reconhecida indução de resistência viral) e na genotipagem (para estudos epidemiológicos).

Os métodos utilizados são: quantitativo que indica a carga viral presente na amostra e sequenciamento, que pode ser realizado no gene polimerase para estudos de resistência às drogas e no gene S para definir o genótipo do HBV (ANDRADE, 2008).

## 1.7 TRATAMENTO DA HEPATITE B

Não existe tratamento específico para hepatite B aguda, há recomendação de medicação para tratar os sintomas, tomando-se cautela com drogas hepatotóxicas. Recomenda-se ainda dieta balanceada, repouso e abstinência quanto ao uso de álcool por no mínimo 6 meses (SILVA, 2012). Diferente da hepatite aguda, existe tratamento específico para hepatite B crônica e este é garantido pelo SUS através de protocolo específico. O primeiro “Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o tratamento da hepatite viral crônica B” foi publicado pelo Ministério da Saúde através da portaria nº 860 em 04 de novembro de 2002, que preconizava os medicamentos lamivudina e interferon-alfa para o tratamento da hepatite B crônica. Ao longo dos anos, a lamivudina estava causando resistência e os estados começaram a adotar outros medicamentos, independente da recomendação do Ministério da Saúde, o que levou a uma oferta de terapia diferenciada entre as unidades da federação. Dessa forma, através da Portaria 2.561 de 29 de outubro de 2009 o Ministério da Saúde publicou o novo “Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o tratamento da hepatite viral crônica B e coinfeções” que incorporou no arsenal terapêutico contra o HBV os medicamentos tenofovir, adefovir e entecavir (BRASIL, 2010-A). O quadro 2 demonstra um resumo das principais características dos medicamentos utilizados para tratamento da hepatite B crônica.

**Quadro 2 - Principais características dos medicamentos utilizados para tratamento da hepatite B crônica.**

Medicamento	Grupo Farmacológico e Mecanismo de Ação	Posologia	Crítérios de Indicação	Vantagens e Desvantagens*
Lamivudina	- Análogo de nucleosídeo - Inibição da transcriptase reversa.	10 mg/dia, via oral.	- Não é 1ª escolha de monoterapia em pacientes virgens de tratamento e não respondedores ao interferon, devido ao elevado potencial de resistência.	↑ Poucos efeitos adversos ↓ Baixa barreira genética e elevado potencial de resistência.
Interferon-convencional (alfa)	- Interferons - Efeitos antivirais, antiproliferativos e imunoreguladores.	5 MUI diárias ou 10 MUI três vezes por semana, via subcutânea, por 16 a 24 semanas. Pacientes que não apresentam soroconversão em 16 semanas deverão ter seu tratamento prolongado até 24 semanas.	- Pacientes virgens de tratamento, com HBeAg reagente, não cirróticos. - ALT/AST alteradas independente de outros critérios - Biópsias que apresentem atividade inflamatória e fibrose $\geq$ A2 e/ou F2, independente das aminotransferases. - Pacientes HBeAg reagente não cirróticos a biópsia é facultativa, exceto para > 40 anos, do sexo masculino independente das aminotransferases.	↑ Período de tratamento definido ↑ Não causam resistência ↑ Controle do HBV mediado pela resposta imune ↓ Muitos efeitos adversos
Tenofovir e adefovir*	- Análogo de nucleotídeo - Bloqueia ação da enzima transcriptase reversa.	300 mg, 1 comprimido ao dia até soroconversão HBsAg/Anti-HBs e negatificação HBV-DNA.	- Virgens de tratamento, com HBe não reagente, não cirróticos; - <b>Aminotransferases normais:</b> HBV-DNA $\geq$ 2.000 UI/mL, independente da Biópsia hepática; - <b>Aminotransferases alteradas:</b> HBV-DNA < 2.000 UI/mL e biópsia hepática demonstra atividade necroinflamatória e/ou fibrose $\geq$ A2 e/ou $\geq$ F2	↑ Não há relatos de resistência ao tenofovir ↓ Pode ser associado a toxicidade renal, apesar de bem tolerado
Entecavir	- Análogo de nucleosídeo da guanosina. - Bloqueia três funções da DNA polimerase do HBV – a iniciação (“priming”), a síntese dependente do DNA e a transcrição reversa.	0,5 mg, 1 comprimido ao dia durante 12 meses ou até soroconversão HBe/AntiHbe.	- Virgens de tratamento, cirróticos, com HBeAg reagente ou não reagente. - Pacientes HBeAg reagentes, independente das aminotransferases, HBV-DNA ou biópsia hepática; - Pacientes com cirrose child-pugh B e C, independente do HBeAg, carga viral e das aminotransferases; - Pacientes HBeAg não reagente, com cirrose child-pugh A e com aminotransferases alteradas e/ou HBV-DNA $\geq$ 200 UI/mL.	↑ Não há contraindicações ↓ Alguns indivíduos podem ser intolerantes, nestes casos o Tenofovir é alternativa. ↑ Não existe relato de resistência ao entecavir em 4 anos de uso, caso aconteça o resgate deve ser feito com Tenofovir.

↑ Vantagens, ↓ Desvantagens

\*Tenofovir pertence à mesma classe farmacológica do adefovir, mas apresenta maior potência de inibição de replicação viral, maior rapidez de ação e menor potencial de causar resistência, por possuir maior barreira genética. Dessa forma, torna-se fármaco de escolha.

Fonte: BRASIL (2010-A).

## 1.8 VARIABILIDADE GENÉTICA DO HBV

O fato do HBV utilizar a enzima transcriptase reversa em uma das etapas da sua replicação, assim como acontece com os retrovírus, faz com que haja uma elevada taxa de mutação no DNA viral, resultando no aparecimento de subpopulações de HBV conhecidos como *quasispecies* (MARINHO, 2003, FRIAS, 2008, FALLAHIAN, 2012).

A primeira forma de distinguir as diferentes cepas circulantes do vírus era baseada na imunorreatividade de um anticorpo a diferentes determinantes antigênicos (aminoácidos) presentes no HBsAg. O determinante “a” é comum a todos os subtipos, sendo alvo para o anti-HBs. Há cinco determinantes de subtipos denominados *d*, *y*, *w*, *r* e *q*. Do determinante *w* apresenta 04 variantes antigênicas diferenciadas por números *w1*, *w2*, *w3*, e *w4* e o determinante *q* apresenta duas variantes denominadas *q+* e *q-*. As combinações destes dão origem aos 10 subtipos diferentes do HBV (*ayw1*, *ayw2*, *ayw3*, *ayw4*, *ayr*, *adw2*, *adw3*, *adw4q-*, *adrq+* e *adrq-*) que podem pertencer a um ou vários genótipos conforme demonstra Quadro 3 (MARINHO, 2003, KAY, 2007, FRIAS, 2008, FALLAHIAN, 2012).

Atualmente, oito genótipos do HBV, nomeados pelas letras do alfabeto A a H, de acordo com a ordem de descoberta, estão bem definidos baseados na divergência de 8% na sequência de nucleotídeos do genoma completo ou na divergência de 4% na sequência do gene S. Recentemente foram identificados dois novos genótipos denominados I e J que ainda estão em estudo para melhor descrição (MATOS, 2007; OLINGER, 2008, TATEMATSU, 2009, NOVA, 2010) (Quadro 3).

**Quadro 3** - Caracterização dos genótipos do HBV

Genótipo	Subgenótipos	Subtipo	Nº de Pares de base do Genoma	Especificidades
A	A1 – A6	adw2, ayw1	3.221	Inserção de aa 153 e 154 no HBc
B	B1 – B9	adw2, ayw1	3.215	
C	C1 – C16	adw2, adrq+, adrq-, ayr	3.215	

D	D1 – D7	ayw2, ayw3, ayw4	3.182	Deleção de 33 nucleotídeos na PreS1
E	SN*	ayw4	3.212	Deleção de 03 nucleotídeos na região da polimerase
F	F1 – F4	adw4q-, adw2, ayw4	3.215	Substituição Leu45Thr no gene S
G	SN	adw2	3.248	Substituições Gln51Leu e Thr63Lle
H	SN	adw4	3.215	Provavelmente derivado do genótipo F.
I	I1, I2	adw	3.215	Estreitamente relacionado com genótipo C e genótipo G.
J	SN		3.182	Divergência de 10,7% para 15,7% com genomas de outros genótipos.

\*SN =Subgenótipo não identificado

Fonte: MATOS (2010); NOVA (2010); NORDER (1993); NORDER (2004); ARAUZ (2002); OLINGER (2008); TATEMATSU (2009), JAYALAKSHMI, 2013.

## 1.9 ASSOCIAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS DO HBV E CURSO CLÍNICO DA INFECÇÃO

Evidências crescentes mostram a importância da influência dos genótipos e subgenótipos do HBV na relação vírus-hospedeiro, causando heterogeneidade clínica entre os indivíduos infectados. Principalmente em relação a patogênese da doença hepática, viremia, surgimento de mutantes, resposta e resistência à terapia antiviral. E mais recentemente às formas de transmissão (JAYALAKSHMI, 2013, TONG, 2013).

As interferências clínicas causadas pelos genótipos A, B, C e D apresentam maior frequência de estudos, em relação aos 10 genótipos do HBV identificados atualmente. Os genótipos A e D possuem maior potencial de causar hepatite crônica, quando comparados aos demais genótipos, também apresentam maior tempo da fase replicativa (HBeAgpositivo). Os genótipos A e B parecem ter maiores taxas de soroconversão espontânea de HBeAg para Anti-HBe. Doença hepática mais avançada e progressão para o CHC é mais frequentemente nas infecções causadas pelos genótipos C e D, quando comparados aos genótipos A e B. Os genótipos A e B têm maiores taxas de resposta ao interferon quando comparados aos genótipos C e D. Genótipos D e

A apresentam maior potencial de evolução para hepatite fulminante (hepatite que evolui para descompensação hepática em no máximo 08 semanas). O genótipo F parece ter potencial de causar CHC mais cedo que os genótipos A, C e D. A transmissão sexual parece ser a via de transmissão preferida para o genótipo A e o genótipo D parece ser transmitido principalmente através do contato com sangue (TANWAR, 2012, JAYALAKSHMI, 2013, TONG, 2013).

A hepatite B crônica pode ser classificada em duas formas distintas baseada na presença do HBeAg e na ausência do HBeAg (associado a presença sérica do anti-HBe). No entanto, existe uma mutação do HBV na região pré-core causada pela substituição de G (Guanina) pela A (Adenina) na posição 1896 e mais raramente na posição 1899, modificando o códon TGG que codifica o aminoácido triptofano para um códon de terminação precoce TAG, ocasionado assim a seleção de cepas variantes que não produzem o HBeAg. A existência do HBeAg nas células infectadas estimulariam os linfócitos T citotóxicos a realizarem resposta imune-celular. Assim, a origem do mutante pré-core 1896/1899 pode estar relacionada a seleção natural e a vantagem de sobrevivência sobre as cepas do VHB produtoras do HBeAg. Esta mutação é exclusiva dos genótipos B, C, D, E que possuem Timina (T) na posição 1858 do pré-core. Diferente destes, no genótipo A o nucleotídeo 1858 é a Citosina (C), impedindo a seleção da mutação G1896A (BONINO, 2003, FONSECA, 2007).

#### 1.10 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA HEPATITE B E GENÓTIPOS DO HBV

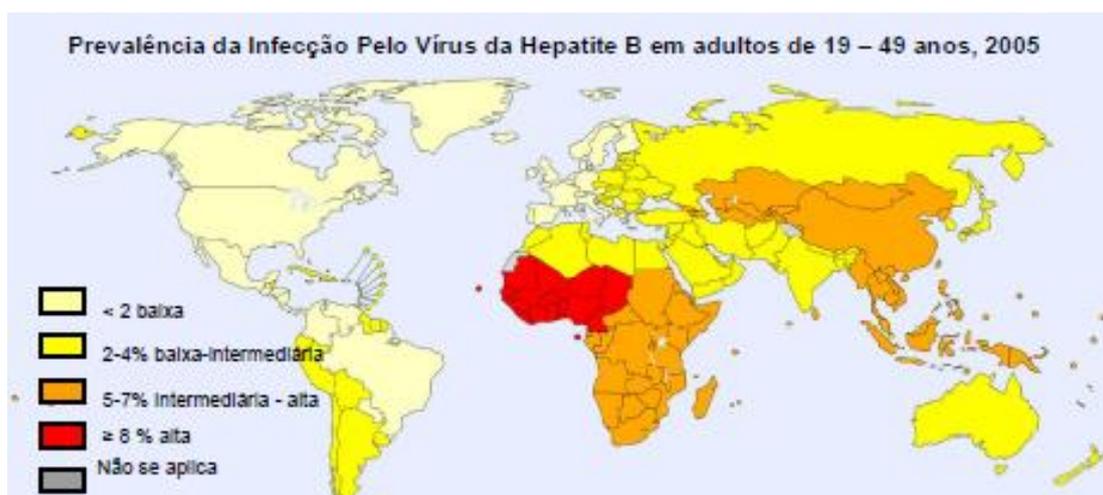
Estima-se que existam em todo o mundo 2 bilhões de pessoas tiveram contato ou que ainda são portadoras do HBV e que 350 milhões são portadores crônicos e correm o risco de evoluir para cirrose ou CHC (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE GASTROENTEROLOGIA, 2008).

O padrão epidemiológico do HBV pode ser classificado como: baixo (menor que 2%), intermediário (2-7%) e alto (maior que 8%). Nas áreas com padrão epidemiológico intermediário, 10% a 60% da população apresentam evidências sorológicas de contato com o vírus. Por outro lado, nas áreas onde

o padrão epidemiológico é alto, 70% a 90% da população tem evidência de infecção prévia por este vírus (FONSECA, 2008)

A prevalência da hepatite B varia marcadamente entre as diferentes regiões do mundo. Observa-se padrão epidemiológico alto na África subsaariana e padrão epidemiológico baixo na América Latina, América do Norte e Europa Ocidental. Regiões da Ásia apresentaram padrões distintos, com padrão intermediário no Sul da Ásia e alto na Ásia Oriental (Figura8). O declínio na prevalência da infecção em algumas localidades pode estar relacionada à imunização, ao aumento do número total de indivíduos cronicamente infectados e às diferenças globais de abordagens para combater a mortalidade relacionada a esta doença (OTT, 2012).

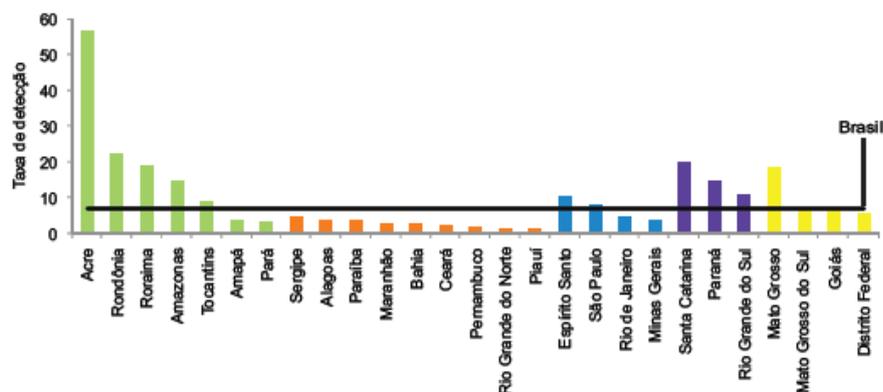
**Figura 8**– Mapa da prevalência mundial da infecção crônica pelo vírus da hepatite B em Adultos, 2005.



Fonte: Modificado de Ott, *et al.*, 2012

Apesar do Brasil estar identificado com baixo padrão epidemiológico, dados do Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde indicam que Roraima apresentou a terceira maior taxa de detecção no ano de 2010 (19,1/100 mil habitantes) estando acima da média nacional (Figura 9) (Ministério da Saúde, 2012).

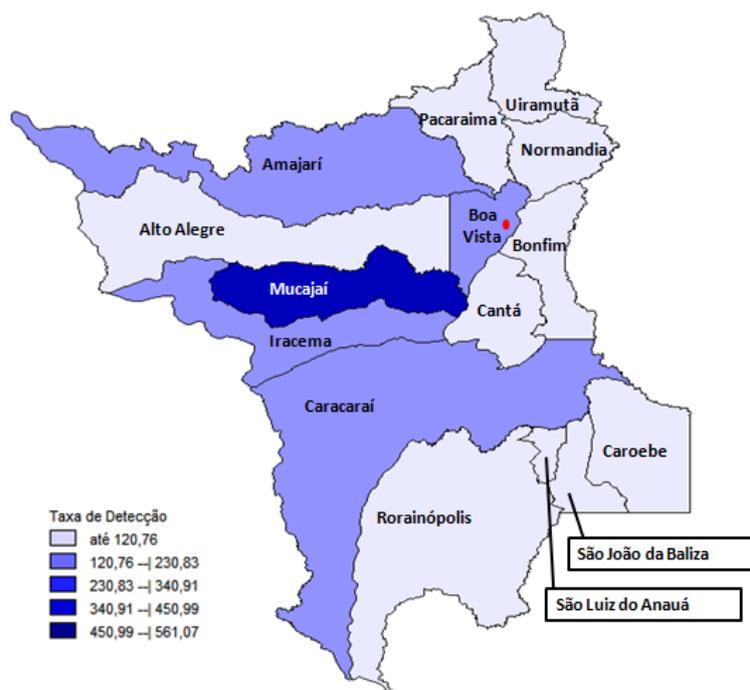
Figura 9 - Taxa de detecção de hepatite B (por 100.000 habitantes) segundo UF de residência. Brasil, 2010.



Fonte: Ministério da Saúde (2012).

Segundo dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), no período de 2007 a 2013 foram detectados 646 casos de hepatite B no estado de Roraima representando 137,37 casos por 100 mil habitantes. O município que apresentou maior taxa de detecção nesse período foi o Mucajaí (561,06/100.000 habitantes) (Figura 10).

Figura 10- Taxa de detecção da hepatite B por município de residência, Roraima, 2007 a 2013.



Fonte: Casos de hepatite B: SINAN/NCHV/DVE/CGVS/SESAU-RR; População: estimativa populacional do Instituto Brasileiro de Geografia (IBGE) segundo o Censo 2010.

Observa-se também uma variação quanto à distribuição geográfica dos genótipos do HBV, os genótipos A, B, C e D possuem distribuição em todo o mundo, porém variável. O genótipo A é mais encontrado na América do Norte, no norte da Europa, na Índia, na África subsaariana, noroeste da Europa, Hog Kong, Filipinas e Austrália. O genótipo B é prevalente no Japão, Taiwan, Indonésia, Vietnã e China. O genótipo C é encontrado no sudoeste da Ásia, China, Coreia, Japão, Polinésia e Austrália. O genótipo D tem distribuição mundial, apresentando maior prevalência na região do Mediterrâneo, Índia e Estados Unidos. Por outro lado, o genótipo E está restrito no oeste e sul da África. O genótipo F é prevalente nas Américas Central e do Sul, Alaska e Polinésia. O genótipo H é mais encontrado no sul dos Estados Unidos, América do Sul e Central. Finalmente, os genótipos I e J foram identificados na Ásia e no Japão, respectivamente (Figura 11) (TONETTO, 2006, MATOS, 2007, ARAÚJO, 2008, OLINGER, 2008, TATEMATSU, 2009, JAYALAKSHMI, 2013).

Figura 11 - Distribuição Global dos Genótipos e subgenótipos do HBV



Fonte: MICHAILIDIS, 2012.

Na América do Sul, o genótipo F é o mais frequente na Argentina, Venezuela e Colômbia. Na Argentina observa-se ainda a circulação dos genótipos A, D e C. Venezuela e Colômbia, apresentam a circulação dos genótipos A, D e C e em menor frequência o genótipo G (DEVESA, 2008, MACHADO, 2011, MORA, 2011, MOTA, 2011).

Estudos indicam que no Brasil há maior predominância dos genótipos A, D e F, apresentando distribuição heterogênea entre as regiões. O genótipo D é mais frequente que genótipo A no sul do País e não há relato do genótipo F (MATOS, 2007-A, ANDRADE, 2008; HADDAD, 2010; COMPRI, 2012, BECKER, 2010, NOVA, 2010). Na região centro-oeste genótipo A é o mais frequente, seguido pelos genótipos D e F (FERREIRA, 2008). Na região sudeste, Mato Grosso do Sul apresentou maior circulação do genótipo D, seguido pelos genótipos A e F (BERGAMACHI, 2013, FREITAS, 2014) e no estado de São Paulo maior circulação do genótipo A seguido por D e F (TONETTO, 2006, ALCALDE, 2009). Na região nordeste, estudo realizado em Alagoas observou-se maior circulação do genótipo A, seguido pelos genótipos C, D e F (ELOY, 2013). Por fim, estudos realizados na região norte indicam maior circulação dos genótipos A, seguido pelos genótipos D e F (CONDE, 2004, OLIVEIRA, 2008, SANTOS, 2010, DIAS, 2012, CASTILHO, 2012) (Figura 12).

Figura 12 – Distribuição dos genótipos do HBV nas regiões do Brasil



A distribuição dos genótipos do HBV na população brasileira está relacionada à origem de nossos antepassados. A presença do genótipo A está relacionada com a influência Africana. O genótipo D está relacionado com colonização europeia e o genótipo F tem origem nas populações indígenas (ALMEIDA, 2009; BECKER, 2010).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 GERAL**

Descrever o perfil epidemiológico e genotípico da infecção crônica pelo vírus da hepatite B (HBV) no Estado de Roraima.

### **2.2 ESPECÍFICOS**

- Determinar possíveis genótipos e subgenótipos do HBV em amostras de soro de pacientes HBsAg (antígeno de superfície do vírus da hepatite B) positivos através do método de seqüenciamento parcial da região S;
- Correlacionar os genótipos do HBV com as principais variáveis laboratoriais, terapêuticas e histológicas;

### 3. JUSTIFICATIVA

A infecção pelo HBV é um problema de saúde pública no Brasil e no mundo. Estima-se em 450 milhões o número de portadores crônicos do vírus B no mundo e em cerca de 2 milhões no Brasil. Mesmo sendo uma doença passível de prevenção através de vacina eficiente e que está disponível no Sistema Único de Saúde (SUS), a doença ainda apresenta altos índices de infecção, mesmo em uma faixa etária na qual já deveria encontrar-se imunizada.

Para enfrentar esse sério problema de saúde pública torna-se necessário um conjunto de ações de saúde, de caráter individual e coletivo, abrangendo promoção, prevenção, diagnóstico, tratamento, reabilitação e manutenção da saúde.

O HBV é considerado bastante infectivo que proporciona altos índices de contaminação nos indivíduos expostos a este agente viral que circula como *quasispecies* e possui oito genótipos bem descritos nomeados com as letras do alfabeto (A - H) na ordem da descoberta. Recentemente foram identificados mais dois novos genótipos denominados I e J, ainda em estudo.

Há evidências que indicam a existência de associação entre os genótipos do HBV com a história natural da infecção, com surgimento de mutações e na resposta aos tratamentos com antivirais. Os genótipos A, B, C e D foram estudados mais extensivamente, onde os genótipos A e D apresentam maior frequência de evolução para hepatite B crônica; os genótipos C e D apresentam maior frequência de progressão para carcinoma hepato celular (CHC) quando comparados aos genótipos A e B. Em relação ao tratamento os genótipos A e B apresentam maiores taxas de resposta ao interferon em relação aos genótipos C e D. E a mutação pré-core A-1896, que inibe a síntese do marcador de replicação viral HBeAg, apresenta-se rara no genótipo A e mais frequente nos genótipos B, C, D e F. Diferente do que acontece com a hepatite C, o genótipo do HBV não é preconizado pelo SUS na prática clínica. O conhecimento deste seria um importante norteador para identificação de pessoas em risco para progressão de doença grave e na determinação da terapia viral.

A distribuição dos genótipos do HBV na população brasileira é heterogênea, onde os genótipos A, D e F apresentam ampla distribuição em todo o território. Na região Amazônica e na Venezuela observamos alta frequência do genótipo F. No entanto, em Roraima não há estudos que caracterizam a infecção pelo HBV e os genótipos circulantes nesta população que integra a Amazônia Ocidental, considerada de alta prevalência para hepatite B, fato que se agrava em razão de possuir fronteiras com a República Cooperativa da Guiana e República Bolivariana da Venezuela, países onde não há a vacinação contra hepatite B nos sistemas públicos de saúde.

A realização deste estudo, pioneiro no estado de Roraima, justifica-se pelo fato destas informações poderem auxiliar na definição e na implementação de medidas relativas à redução do impacto negativo da infecção no doente, na redução do número de novos casos, no planejamento de ações para o controle da doença de modo a reduzir o impacto mundial desse grave problema de saúde pública e na definição de novas normas terapêuticas baseadas no genótipo.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 DESENHO DO ESTUDO

Para atingir os objetivos propostos, o desenho do estudo foi do tipo primário, observacional, transversal e retrospectivo.

### 4.2 LOCAL DO ESTUDO

Para a realização do estudo utilizou-se a rede de assistência às hepatites virais que em Roraima está dividida em três níveis de atenção, cada um com sua respectiva competência, conforme descrito no quadro 4.

Quadro 4 – Competências nos níveis de atendimento das hepatites virais no SUS.

<b>Nível</b>	<b>Unidades</b>	<b>Competências</b>
<b>Atenção Básica</b>	Atenção Básica – Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA), Unidade Básica de Saúde (UBS), Programa Saúde da Família (PSF).	<ul style="list-style-type: none"><li>- Promoção à saúde</li><li>- Prevenção</li><li>- Triagem sorológica</li><li>- Acompanhamento de pacientes</li></ul>
<b>Serviço de Média Complexidade</b>	Assistência Ambulatorial e Hospitalar de Média Complexidade <b>- Hospital Coronel Mota (HCM)</b> <b>- Hospital Geral de Roraima (HGR)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Exames confirmatórios</li><li>- Biópsia Hepática (local ou referenciada)</li><li>- Definição da necessidade de tratamento</li><li>- Tratamento e manejo clínico de pacientes</li></ul>
<b>Serviço de Alta Complexidade</b>	Assistência ambulatorial e Hospitalar de Alta Complexidade <b>- Hospital Coronel Mota (HCM)</b> <b>- Hospital Geral de Roraima (HGR)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Todas as atividades descritas para o nível II para a população da sua área de abrangência</li><li>- Protocolos de pesquisa</li><li>- Acompanhamento de pacientes em situações especiais, como falha terapêutica.</li></ul>

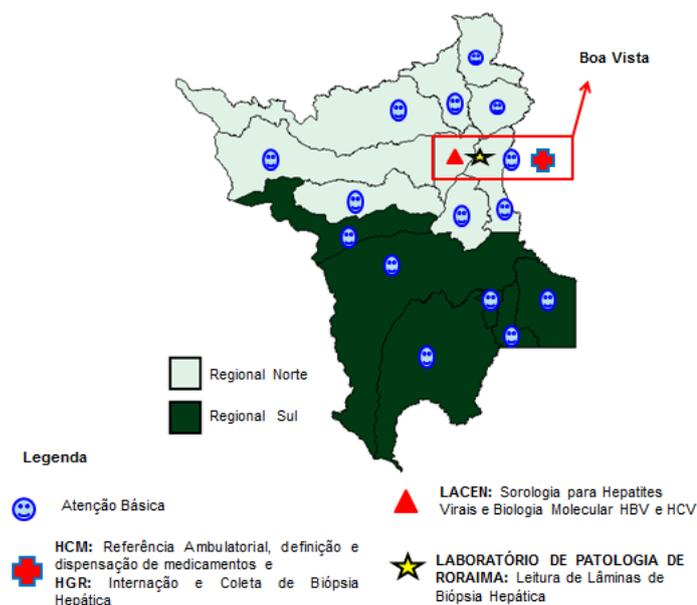
Fonte: BRASIL, 2008-B.

As unidades da atenção básica estão implantadas nos 15 municípios de Roraima. Por outro lado, o Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA); a referência laboratorial; as referências de média complexidade ambulatorial e hospitalar; coleta e leitura de biópsia hepática e dispensação de medicamentos

estão centralizados na capital Boa Vista (Figura 13). A vigilância epidemiológica das hepatites virais está baseada na notificação compulsória de casos suspeitos e as principais fontes notificadoras são as unidades básicas de saúde, hemocentro, hospitais e policlínicas que realizam notificação em ficha específica do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), coletam amostra para sorologia e encaminham para o Laboratório Central de Roraima(LACEN/RR). Este último é a única referência laboratorial do estado para realização de sorologia para as hepatites virais e análise molecular para hepatite B (HBV-DNA quantitativo) e hepatite C (HCV-RNA quantitativo e genotipagem).

O HCM é referência ambulatorial de média complexidade, onde portadores de hepatite viral crônica dos 15 municípios e áreas indígenas são acompanhados por médicos especialistas (hepatologista e infectologista). Além disso, a dispensação dos medicamentos para hepatite crônica ocorre na Farmácia do SAE (Serviço de Assistência Especializada), também localizada no prédio desta unidade de saúde. A coleta de biópsia hepática é realizada no HGR e a leitura da lâmina no Laboratório de Patologia de Roraima.

Figura 13 – Rede de atenção às hepatites virais no estado de Roraima.



De acordo com a resolução 196/96, este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Roraima, protocolo de pesquisa

nº 121005 (Anexo 1). A coleta das amostras foi realizada no LACEN/RR no período de janeiro a novembro de 2013, selecionou-se este local devido à facilidade de acesso aos portadores de hepatite B no momento em que os mesmos estavam sendo punccionados para a coleta de exames de acompanhamento da carga viral. Esta instituição disponibiliza um dia específico para coleta de amostras para análise molecular quantitativa do HBV, exame de rotina para monitoramento e definição do tratamento.

Ao abordar os pacientes informou-se sobre o objetivo do estudo, benefícios da genotipagem do HBV para o participante, assim como para a sociedade e a importância do estudo, principalmente para pacientes que apresentam resistência ao tratamento. Após a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1), autorizando a aplicação do questionário e coleta de amostra para o estudo, procedeu-se com aplicação de questionário específico contendo perguntas relacionadas ao indivíduo (sexo, idade, estado civil, naturalidade), características socioeconômicas (renda, nível de escolaridade do e ocupação), fatores relacionadas à transmissão da hepatite B (procedimento médico e cirúrgico, transfusão sanguínea, hábitos de higiene, tatuagem, piercing, comportamento sexual e uso de drogas) e fatores relacionados à doença (ano do diagnóstico, presença de sintomas) (Apêndice 2). Nenhuma biópsia hepática foi realizada para este estudo específico.

Através da análise dos prontuários dos pacientes, arquivados no Serviço de Arquivo Médico e Estatístico (SAME) do HCM buscou-se resultados sorológicos para hepatite B (HBsAg, Anti-HBc Total, Anti-HBc IgM, HBeAg e Anti-HBe), hepatite C (anti-HCV), hepatite D (anti-HDV) e HIV (anti-HIV), dados clínicos de tratamento e os resultados das biópsias hepáticas. No entanto, não foi possível identificar estas informações na maioria dos prontuários. Desta forma, procedeu-se com a busca dessas informações em outros bancos de dados de serviços que fazem parte da rede de assistência às hepatites virais no estado de Roraima.

Para identificação de dados sobre tratamento verificou-se o Sistema Nacional de Gestão da Assistência Farmacêutica (HÓRUS-Especializado) que está sob a gerência da farmácia do SAE. Identificou-se resultados de biópsia

hepática de alguns participantes do estudo no Laboratório de Patologia de Roraima e os resultados de sorologia e carga viral do HBV foram identificados no Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL), gerenciado pelo LACEN/RR.

Alguns participantes compareceram para coleta em dias diferentes do dia definido pelo LACEN/RR, porém os que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram incluídos no estudo. A princípio tentou-se localizar os participantes por contato telefônico, na impossibilidade de localizar alguns por este meio optou-se pela busca de dados através das fichas de investigação no SINAN, gerenciado pelo Núcleo de Controle das Hepatites Virais.

#### 4.3 SUJEITO DA PESQUISA

Incluiu-se no estudo todos os portadores de hepatite B crônica em tratamento ou não, com idade superior a 18 anos e que assinaram o TCLE. Os critérios de exclusão foram apresentar coinfeção com HIV e HCV, ser menor de 18 anos e não assinar o TCLE.

Os resultados das genotipagens serão disponibilizados para os pacientes nos quais a genotipagem foi positiva e, posteriormente disponibilizados para os profissionais médicos responsáveis pelo monitoramento ambulatorial dos participantes do estudo.

#### 4.4 TRANSPORTE DO MATERIAL

A coleta de sangue para o estudo foi realizada no mesmo momento da coleta de amostra que seria processada pelo LACEN/RR, resultado em dois tubos contendo 5 ml de sangue, um para estudo do genótipo e outro para o exame de rotina HBV-DNA quantitativo.

Os tubos contendo as amostras para o estudo foram enviados ao Laboratório de Biologia Molecular (LaBMol) do Centro de Estudos da Biodiversidade (CBio) da Universidade Federal de Roraima (UFRR), onde realizou-se a extração do DNA, amplificação do gene S por PCR e a

eletroforese. Realizou-se o sequenciamento para genotipagem em parceria com o Laboratório do Centro de Pesquisa Leônidas e Maria Deane, Fiocruz (CPqLMD/FIOCRUZ), localizado na cidade de Manaus/AM.

O transporte das amostras obedeceu às regulamentações internacionais, nacionais, estaduais, locais, relativas ao transporte de agentes etiológicos. No momento do transporte, o material foi acondicionado em caixa de isopor com gelo em quantidade suficiente para manter o material refrigerado. No LaBMol /CBio/UFRR o mesmo foi mantido em freezer a -70°C até o momento de ser processado.

#### 4.5 EXTRAÇÃO DO DNA VIRAL

O DNA viral foi extraído com o Kit Qlamp<sup>®</sup> DNA Blood mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha) seguindo o protocolo do fabricante (Anexo 2). A única modificação em relação ao protocolo original foi o volume utilizado do buffer AE, passo 10 do protocolo, o kit indicava a utilização de 200 µL e utilizou-se 50 µL com o objetivo de concentrar o DNA extraído.

#### 4.6 QUANTIFICAÇÃO DO DNA POR ESPECTROFOTOMETRIA

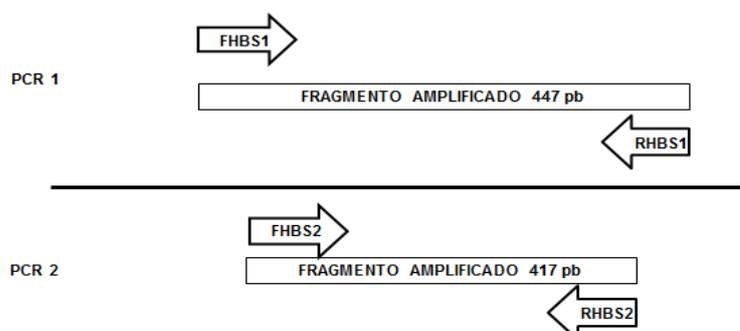
A partir das amostras extraídas realizou-se a quantificação do DNA por espectrofotometria no aparelho CIRRUS 80 MB (FEMTO). Para este procedimento foram retiradas alíquotas de 3 µL de cada amostra para a análise. A leitura das amostras foi realizada a 260 nm e 280 nm e a razão entre esses comprimentos de onda foi utilizada para determinar o grau de pureza. As amostras que não estavam no padrão adequado foram extraídas novamente.

#### 4.7 ESCOLHA DOS INICIADORES

Para amplificação do gene S do HBV, utilizou-se técnica de *nested*-PCR (*Polymerase Chain Reaction*), a qual envolve dois conjuntos de iniciadores utilizados separadamente em duas operações sucessivas definidas PCR1 o primeiro passo e PCR2 o segundo. O conjunto de iniciadores da PCR2 são

iniciadores internos aos utilizados na primeira amplificação, com a intenção de aumentar a especificidade e garantir a amplificação dos fragmentos (Figura 14).

Figura 14 - Técnica de *nested*- PCR



Os iniciadores utilizados foram os descritos por TONETTO (Tabela 1) (2006).

**Tabela 1.** Sequência dos iniciadores usados nas reações de PCR

PCR	Nomes	Sequências	Tamanho do Fragmento Amplificado
PCR1	FHBS1 <sup>a</sup>	5' - GAG TCT AGA CTC GTG GTG GAC TTC - 3'	447 pb
	RHBS1 <sup>b</sup>	5' - GCT AAA TKG CAC TAG TAA ACT GAG CCA - 3'	
PCR 2	FHBS2 <sup>a</sup>	5' - CGT GGT GGA CTT CTC TCA ATT TTC - 3'	417 pb
	RHBS2 <sup>b</sup>	5' - GCC ARG AGA AAC GGR CTG AGG CCC - 3'	

a = Sense b = Anti-sense, \* K= G ou T \*\*R = A ou G

#### 4.8 AMPLIFICAÇÃO DO DNA

Foram incluídos em todas as reações controles positivos para observarmos a eficiência da amplificação e controles negativos, para observarmos possíveis contaminações.

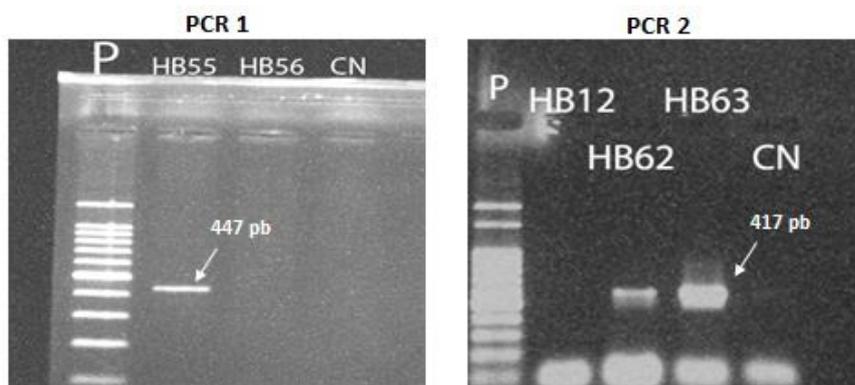
Nas reações de PCR1 (iniciadores FHBS1 e RHBS1) foram usados aproximadamente 20ng de DNA viral, previamente extraído, 0,3µM/µL de cada iniciador (*sense* e *anti-sense*), 0,2 µM/µL de dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), 1x/µL de Tampão, 1,2 µM/µL de MgCl<sub>2</sub> e 0,1 un/µL de Taq DNA Polymerase (Ludwig) para um volume final de 25µl. A amplificação foi realizada

em termociclador modelo 96 HPL Gradient (PEQDTAR) programado para realizar desnaturação inicial de 95°C por 1 minuto, seguida por 35 ciclos. A temperatura de hibridização utilizada para os iniciadores da PCR1 foi 55,1 °C por 30 segundos com extensão de 72 °C por 45 segundos e uma extensão final de 72°C por 1 minuto.

Nas reações de PCR2 (iniciadores FHBS2 e RHBS2) foram usados aproximadamente 20ng de produto da PCR1, 0,2 µM/µL de cada iniciador (*sense* e *anti-sense*), 0,2 µM/µL de dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), 1x/µL de Tampão, 1,2 µM/µL de MgCl<sub>2</sub> e 0,08 un/µL de Taq DNA Polymerase(Ludwig) para um volume final de 25µl. A amplificação foi realizada em termociclador modelo 96 HPL Gradient (PEQDTAR) programado para realizar desnaturação inicial de 95°C por 1 minuto, seguida por 25 ciclos. A temperatura de hibridização utilizada para os iniciadores da PCR 2 foi 56,5°C por 30segundos com extensão de 72 °C por 45 segundos e uma extensão final de 72°C por 1 minuto.

Os produtos obtidos nas reações de amplificação PCR1 e PCR2 foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, e corados com azul de bromofenol e *Bluegreen*(LGC). Posteriormente, visualizados no transiluminador por um sistema de fotodocumentação DNrBio-Imaging Systems/Modelo: MiniBIS Pro. Para a análise do tamanho dos fragmentos, foi utilizado um marcador de peso molecular com 100pb (Ludwig) (Figura 15).

**Figura 15** - Gel de agarose 1,5% da PCR1 e PCR2



**Legenda:** P = Marcador de peso molecular (Ludwig 100pb),

**PCR1:** HB55 = Amostra positiva, HB56 = Amostra negativa e CN = Controle negativo.

**PCR2:** HB12 = Amostra negativa, HB62 = Amostra positiva, HB 63 = Amostra positiva e CN = Controle negativo  
Gel de agarose 1,5%, 5 µL da amostra + 2µL de azul de bromofenol + 0,5 µL de *Bluegreen*

#### 4.9 PRECIPITAÇÃO DE PRODUTO DA PCR COM POLIETILENOGLICOL (PEG)

Os produtos amplificados das PCR foram purificados pela precipitação com Polietilenoglicol (PEG) seguindo as instruções do protocolo do CPqLMD/FIOCRUZ(Anexo 3).

#### 4.10 REAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO

Nas reações de sequenciamento utilizamos os iniciadores da PCR2 (FHBS2 e RHBS2), quantidades de DNA amplificado de acordo com o protocolo do kit de sequenciamento BigDye® Terminator versão 3.1 (AppliedBiosystems™, USA), 0,3 µL de Big Dye (2,5 X), 2 µLTampão5 X, 1µL de primer 3,2 µM e água livre de nucleases para um volume final de 10µL. Para cada amostra foram realizadas duas reações de sequenciamento, uma com o iniciador *sense* e outra com a iniciador *anti-sense*.

#### 4.11 PURIFICAÇÃO DA REAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO

O produto final da reação de sequenciamento foi purificado pela precipitação com EtOH, EDTA e Acetato de Sódio, seguindo as instruções do protocolo do kit BigDye® (Anexo 4) e posteriormente os produtos foram analisados em sequenciador automático modelo ABI 3130 (AppliedBiosystems™, USA).

#### 4.12 DETERMINAÇÃO DO GENÓTIPO DO VÍRUS DA HEPATITE B

As sequências obtidas foram analisadas inicialmente e, combinadas para obter uma sequência consenso utilizando o programa Geneious versão 7.1.5. Analisou-se a qualidade do cromatograma (Figura 16) gerado pelas sequências parciais obtidas no processo de sequenciamento, nos sentidos de leitura *sense* e *anti-sense*. Em algumas sequências, excluiu-se os fragmentos

iniciais e finais que apresentavam baixa qualidade (Figura 16), em seguida alinhou-se estas para a montagem das sequências consenso (Figura 18).

Figura 16 – Exemplo de cromatograma gerado a partir do sequenciamento, utilizado para análise da qualidade das sequências geradas.

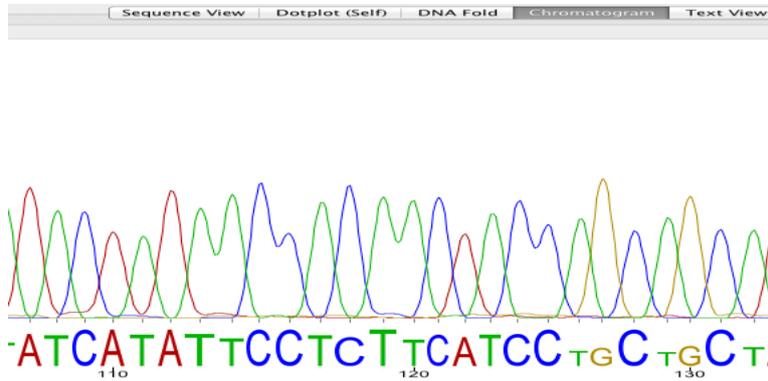


Figura 17 – Exemplo de cromatograma de uma das regiões de início e/ou fim das sequencias os quais foram removidos na construção da sequencia consenso.

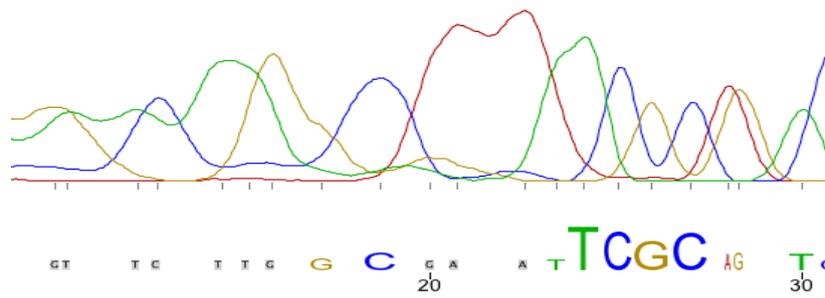
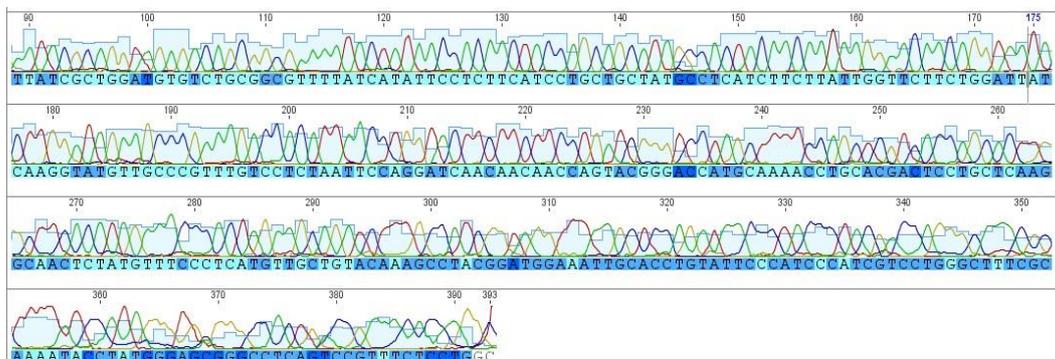


Figura 18 - Eletroferograma da sequência consenso do HBV-DNA



As sequências de nucleotídeos obtidas foram submetidas a uma pesquisa pela ferramenta BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para a confirmação da identidade das mesmas, pela comparação com sequências homólogas dos genótipos do vírus B.

#### 4.13 BIOSSEGURANÇA

Todos os experimentos foram executados em Laboratório de Biologia Molecular com as condições de biossegurança necessárias para a manipulação de todo o material utilizado neste trabalho. O descarte de material biológico e químico seguiu todos os protocolos exigidos para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

#### 4.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se análise descritiva por meio de tabelas de frequência para variáveis categóricas e medidas de posição e dispersão para variáveis contínuas. Para verificarmos associações ou comparar proporções utilizamos o teste Qui-quadrado. Utilizou-se Yates para amostras que os dados apresentaram valores menores que 5. O *odds ratio* (OR) e o coeficiente de intervalo de 95% (*confidence interval* -CI) permitiram estimar a associação entre o tratamento. Todos os testes foram realizados com nível de significância  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

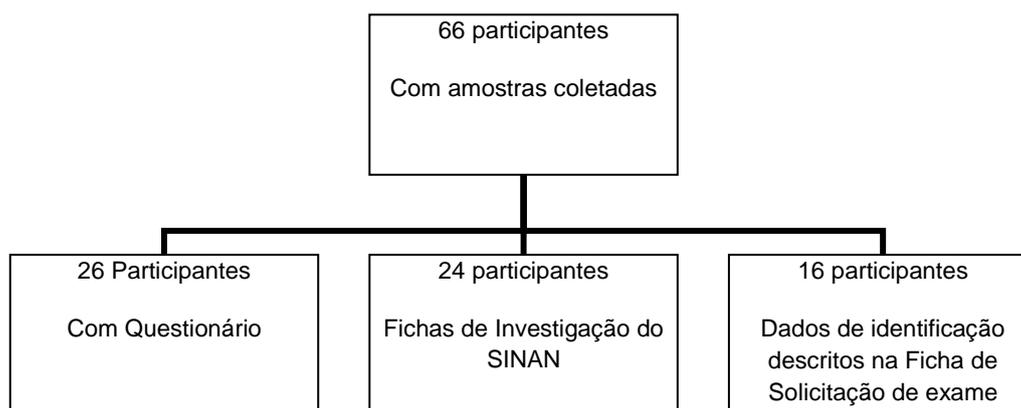
No período de janeiro a novembro de 2013, coletou-se amostras de 71 portadores de hepatite B crônica, destes excluiu-se 05 participantes, 02 por apresentarem Anti-HCV reagente e 03 por possuírem mais de uma amostra coletadas em datas diferentes. Nos casos com duplicidade, selecionou-se para permanecer no estudo a amostra com carga viral mais alta. Diante disso, participaram do estudo 66 portadores de hepatite B crônica, o que representa 11,92% dos 503 casos notificados no banco de dados de Roraima do SINAN.

No estudo há representantes de 11 municípios do estado de Roraima, somente os municípios Bonfim, Normandia, Uiramutã e Pacaraima não tiveram representantes. Os municípios de Alto Alegre, Amajari, Rorainópolis e São Luiz do Anauá tiveram pelo menos 01 representante; os municípios de Cantá, Caracará, Caroebe e Iracema 02 representantes; Mucajaí e São João da Baliza 03 participantes e 48 participantes eram da capital Boa Vista.

Ao analisar a taxa de participantes do estudo de acordo com população verificou-se que o município que apresentou maior taxa foi São João da Baliza (42,72 casos por 100.000 habitantes), seguido por Caroebe (23,58 casos por 100.000 habitantes), Iracema (21,53 casos por 100.000 habitantes), Mucajaí (19,57 casos por 100.000 habitantes), Boa Vista (16,16 casos por 100.000 habitantes), São Luiz (14,35 casos por 100.000 habitantes), Cantá (13,6 casos por 100.000 habitantes), Caracará (10,52 casos por 100.000 habitantes), Amajari (10,06 casos por 100.000 habitantes), Alto Alegre (6,16 casos por 100.000 habitantes) e Rorainópolis (3,95 casos por 100.000 habitantes) (Apêndice 05).

Aplicou-se questionário específico da pesquisa (Apêndice 2) para 26 participantes, identificou-se fichas de investigação no SINAN de 24 e de 16 apenas dados descritos na ficha de solicitação de exame enviada ao LACEN (idade, sexo e município de residência)(Figura 20). ]

Figura 19 – Fluxograma aplicação dos questionários



A estratégia de identificar as fichas de investigação no SINAN (Anexo 5) foi importante para a identificação de dados relacionados ao indivíduo e agravo, principalmente pelo fato de alguns campos do questionário também existirem na ficha. No entanto, encontrou-se uma limitação devido à expressiva quantidade de campos ignorados ou em branco (Ign/branco) nas fichas analisadas. O que pode ser comprovado ao observar a média de campos ignorados/ em branco no período de 2010 a 2013, no banco de dados das hepatites virais do SINAN de Roraima, de alguns campos importantes para o estudo. Onde verificou-se que a campo raça apresentou de 4,76% de ignorado/em branco, tatuagem 19,10%, acidente com material biológico 19,81% e vacina contra hepatite B 38,05% (Apêndice 3). A mesma constatação foi observada no banco de dados nacional, onde segundo dados do Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais, publicado pelo Ministério da Saúde, o campo raça/cor apresentou 10,5% de ignorados/em branco em 2010, apesar da visível melhora, já que em 1999 este mesmo campo 84,8% de ignorados/branco (Ministério da Saúde, 2012).

No ato da notificação o profissional de saúde deve preencher a ficha de investigação das hepatites virais, que muitas vezes é considerada longa, por apresentar 52 campos para preenchimento. No entanto, o profissional de saúde deve ter consciência que cada campo da ficha apresenta informações importantes para acompanhamento da disseminação da doença por categoria de exposição subsidiando ações para prevenção e controle, formulação de

indicadores de saúde e estudos epidemiológicos (CERQUEIRA, 2008, BARBOSA, 2013).

O cenário de falta de completitude dos campos da ficha de investigação do SINAN identificado pelo presente estudo subsidiou o Núcleo de Controle das Hepatites Virais para incluir esta temática no ciclo de capacitações para atenção básica e Unidades de Vigilância Epidemiológica Hospitalar (UVEH). Onde foram apresentadas tabelas mostrando a situação de completitude dos campos da ficha de investigação (Apêndice 3), explicou-se cada campo da ficha de acordo com instrutivo, disponibilizado pelo Ministério da saúde, que orienta sobre o preenchimento destes (Anexo 6). O maior objetivo de problematizar este tema nas capacitações era fazer com que os profissionais de saúde começassem a se identificar como atores importantes, no ato da notificação, para subsidiar as políticas de prevenção e controle no sistema de vigilância das hepatites virais. Salienta-se que antes da conclusão do presente estudo, 130 profissionais foram capacitados nos municípios de Boa Vista e Caracaráí.

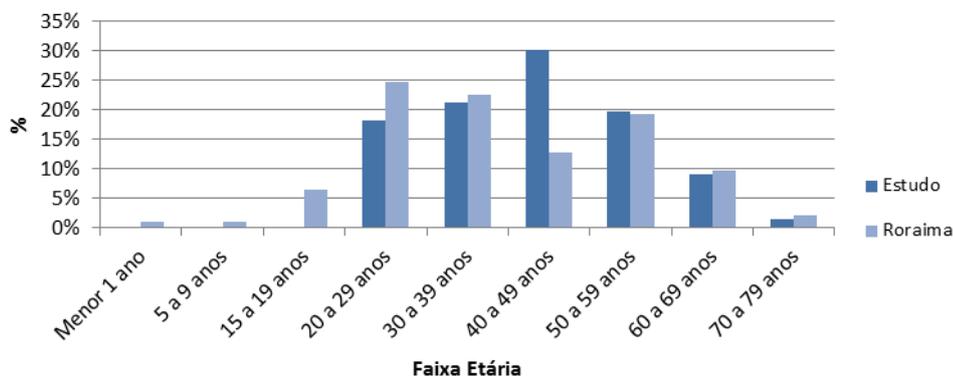
Em relação à forma de diagnóstico, a maioria dos participantes ficou sabendo que estavam infectados através da triagem sorológica 39,54%, seguido por diagnóstico nos serviços de saúde 37,21%, sendo esses os principais modos de entrada no sistema de saúde quando comparados a detecção através de banco de sangue 13,95%, pré-natal 4,65% e por ser comunicante de portador de hepatite B 4,65% ( $X^2 = 20,890$ ;  $p < 0,0005$ ).

Esses dados mostraram a importância da implantação da triagem sorológica, realizada em 2006 no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA). Atualmente, além do CTA, os testes rápidos foram implantados em todas as Unidades Básicas de saúde (UBS) dos 15 municípios do Estado de Roraima e nos Distritos Sanitários Indígenas Leste (DSL) e Yanomami (DSY) (BRASIL, 2005). Em Roraima, antes da implantação da triagem sorológica o diagnóstico das hepatites virais só era possível diante da notificação, ou seja, se apresentasse sinais e sintomas ou se fosse comunicante de portador. Dessa forma, a triagem sorológica representa a facilidade de acesso ao diagnóstico, possibilitando detecção precoce de portadores crônicos da hepatite B para encaminhamento destes para assistência especializada e quebra da cadeia de

transmissão da doença. O que pode ser ratificado pelo fato de 75,76% dos participantes não terem apresentado sintomas no momento do diagnóstico ( $X^2 = 6,016$ ;  $p = 0,014$ ), confirmando a principal característica da hepatite B relatada na literatura, que é não apresentar sinais e sintomas (NUNES 2009, LOPES 2010).

A média de idade entre os participantes do estudo foi de 44,5 anos (variação de 22 a 78 anos), a faixa etária que apresentou maior frequência de casos foi a de 40 a 49 anos de idade com 30,3% dos casos, seguida pela faixa de 30 a 39 anos com 21,21% dos casos. Segundo relatório do Núcleo de Controle das Hepatites Virais de Roraima, a faixa etária que apresentou maior frequência de detecção dos casos no estado foi a faixa de 20 a 29 anos com 24,73% dos casos, seguida pela faixa etária de 30 a 39 anos com 22,58% dos casos ( $X^2 = 39.992$ ;  $p < 0.0005$ ) (Figura 20).

Figura 20 – Comparação da distribuição por faixa etária dos participantes do estudo (n = 66) e dos casos de hepatite B notificados no SINAN por faixa etária, Roraima, Brasil.

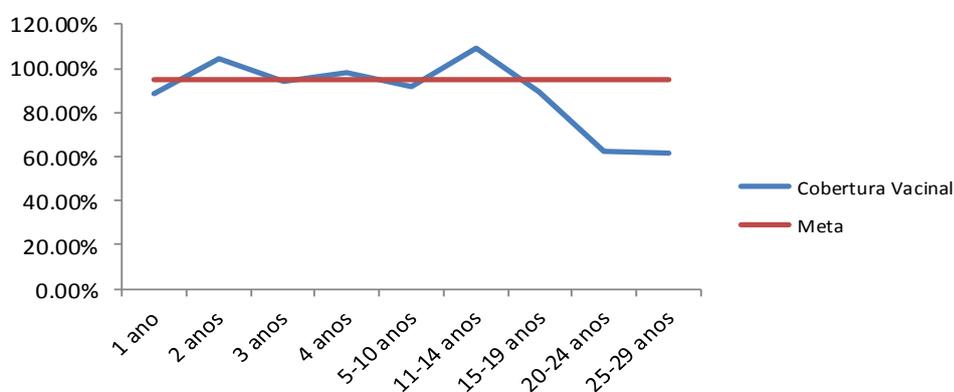


Estudos na Amazônia Ocidental demonstraram que idade maior que 20 anos estava estatisticamente associada à infecção pelo HBV (AQUINO, 2008, KHOURI, 2010). A maior prevalência da hepatite B a partir dos 15 anos, com aumento na 2ª e 3ª décadas de vida pode ser devido ao estilo de vida e a comportamentos que oferecem maior risco, como o uso de drogas injetáveis e relações sexuais sem uso de preservativos (SILVA, 2013).

Além disso, a maior prevalência de hepatite B a partir dos 15 anos pode ser justificada pela forma gradativa como a vacina contra hepatite B foi implantada no Brasil pelo Programa Nacional de Imunização (PNI). Iniciando-se

em 1989 com a implantação na Amazônia Ocidental (Purus, Boca do Acre e Lábrea) devido à alta prevalência nessa região. Prosseguiu-se com a implantação da vacinação no estado do Amazonas em 1991; em menores de 5 anos de idade na Amazônia Legal, Paraná, Espírito Santo, Santa Catarina e Distrito Federal em 1992; para profissionais com maior vulnerabilidade para a infecção como bombeiros, militares, profissionais e estudantes da área da saúde; em menores de 1 ano no Distrito federal e finalmente a ampliação para todo o País da oferta da hepatite B para menores de 1 ano (1998), entrando no calendário vacinal da criança o que permanece até os dias atuais. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). Roraima apresenta cobertura vacinal contra hepatite B abaixo da meta estipulada pelo Ministério da Saúde nas faixas etárias menor de 1 ano (88,87%), 3 anos (94,34%), 15 a 19 anos (88,92%). Caindo drasticamente a partir das faixas etárias de 20 a 24 anos (62,69%) e 25 a 29 anos (61,74%) (SISTEMA DE INFORMAÇÃO DO PNI) (Figura 21).

Figura 21 - Cobertura vacinal contra hepatite B, por faixa etária, série histórica de terceiras doses aplicadas, Roraima, 1994 a 2011.



Fonte: Sistema de Informação do PNI (SIS PNI), 2010.

Ao analisar a situação vacinal dos participantes do estudo, observou-se que 50% apresentaram esquema vacinal completo e 50% esquema incompleto. Estes últimos foram distribuídos da seguinte forma: 20% com esquema incompleto, 23,33% não vacinados e 6,67% desconhecem situação vacinal ( $X^2 = 9,058$ ;  $p = 0.003$ ) (Tabela 2).

Tabela 2. Situação vacinal dos participantes do estudo, Roraima, 2013.

<b>Situação vacinal</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
Completa	15	50%
Incompleta	6	20%
Não vacinado	7	23,33%
Desconhece situação vacinal	2	6,67%

O fato de portadores de hepatite B apresentam esquema vacinal completo, pode ser justificado pelo fato destes terem tomado a vacina após o contato com o vírus Além da proporção de 2,5%-5,0% de pessoas que não respondem a vacina (MORAES, 2010).

A eficácia da vacina também pode ser influenciada por dificuldades logística para conservação de temperatura em ações “extra-muro” em que o vacinador coloca a vacina em um isopor com gelox, saindo para trabalhar de manhã e voltando à noite, situação que dificilmente a temperatura ideal é garantida. Segundo normas no PNI, estas devem ser conservadas entre +2°C e +8°C (Divisão de Imunização, 2006).

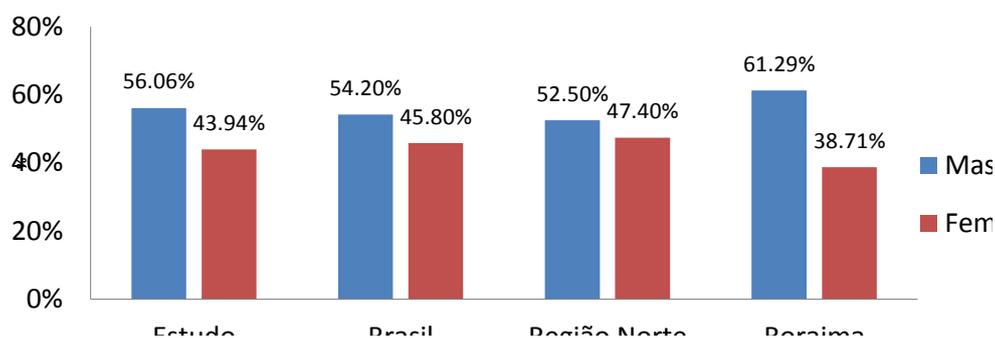
Apesar da eficácia da vacinação e a disponibilidade nos serviços públicos de saúde a cobertura vacinal de 95%, preconizada pelo Ministério da Saúde, ainda não foi alcançada, principalmente nas faixas etárias maiores de 19 anos. Diferentes fatores constituem barreiras para a vacinação: receio quanto aos efeitos colaterais, falta de percepção o risco de infecção, ausência de informação sobre a transmissão, pressão no trabalho e dificuldades de acesso (ASSUNÇÃO, 2012). Estudos revelam que a aceitação da vacina da hepatite B e a completude do esquema vacinal podem estar associadas ao grau de instrução, ao conhecimento sobre as hepatites virais e à percepção do risco (BAARS, 2010, LU, 2011)

Um dos grandes problemas da vacina contra hepatite B é o esquema vacinal complexo, com um longo intervalo entre a primeira e terceira dose (06 meses), corroborando para esquecimento e não completude do esquema. Uma campanha multidose para hepatite B é inviável para o sistema de saúde. Desta forma, a estratégias para ampliar a cobertura vacinal nessas faixas etárias como forma de reduzir o surgimento de casos novos de da hepatite B, seria utilizar Estratégia Saúde da Família (ESF) para vacinação em escolas,

universidades e associações de bairros. Além de capacitar os Agentes Comunitários de Saúde (ACS) para identificação, na sua área de trabalho, de pessoas vulneráveis a hepatite B, com esquema vacinal incompleto ou não vacinados e encaminhá-los para serviço de saúde com a finalidade de tomar a vacina.

Em relação à distribuição de casos segundo o sexo, observou-se que 43,94% dos participantes eram mulheres e 56,6% homens, mas esta diferença não foi significativa estatisticamente ( $X^2 = 0648$ ;  $p = 0.421$ ), indicando que entre os participantes do estudo homens e mulheres têm o mesmo risco de exposição ao HBV. Segundo dados do SINAN, no período de 1999 a 2011, foram notificados no Brasil 65.209 casos (54,2%) de hepatite B entre homens e 55.110 casos (45,8%) entre mulheres. No mesmo período a Região Norte notificou 8.276 (52,5%) casos no sexo masculino e 7.471 (47,4%) no sexo feminino. Dessa forma, não observa-se também diferença expressiva de casos entre homens e mulheres. (Ministério da Saúde, 2012). No ano de 2013, foram detectados 57 casos (61,29%) em homens e 36 casos (38,71%) em mulheres no estado de Roraima (Figura 22).

Figura 22 – Comparação da distribuição de casos de hepatite segundo sexo entre os participantes do estudo (n = 66), casos de hepatite B notificados no Brasil, na região norte e Roraima.



Apesar de não ter sido estatisticamente significativo, torna-se importante falar sobre a importância de estratégias de prevenção da hepatite B na Política de Saúde do Homem. Pois estes foram representativos no presente estudo e historicamente não buscam, como as mulheres, os serviços de atenção básica. A triagem sorológica e vacinação contra hepatite B estão recomendados no

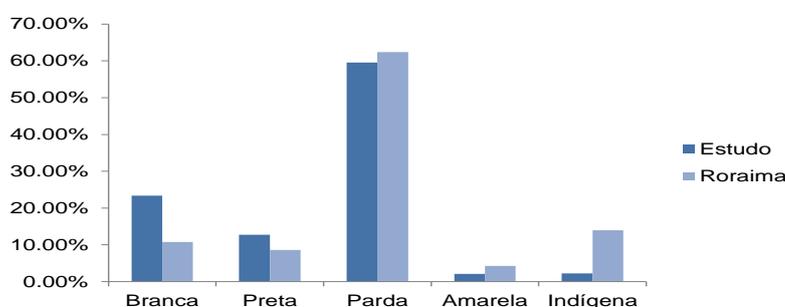
pré-natal, assim, uma estratégia importante seria ofertar estes serviços para os homens que acompanham suas companheiras nas consultas de pré-natal.

O nível de escolaridade apresentado pelos participantes do estudo foi de 41,3% com ensino médio incompleto, 51,28% com ensino médio e 7,69% completaram o ensino superior, sendo estatisticamente significativo ( $\chi^2 = 10,003$ ;  $p = 0,007$ ) mostrando que quanto menor o grau de instrução maior a chance de infecção.

A raça parda apresentou-se significativamente mais frequente no estudo ( $\chi^2 = 68,445$ ;  $p < 0,0005$ ). No entanto, não se pode dizer que a raça parda apresenta maior risco de infecção pelo HBV, pois o destaque da raça no estudo reflete a característica da população do estado de Roraima, representada em 61,5% pela raça parda, seguida por 24,8% representantes da raça branca (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2014).

No Brasil, em 2010, houve 6.612 (56%) casos entre brancos, 3.970 (33,6%) em pardos, 963 (8,2%) em negros e 64 (0,5%) em indígena. A Região norte apresentou um cenário de raça semelhante ao do presente estudo, com 73,8% dos casos notificados em pardos, 17% brancos, 6,1% pretos, 2,2% indígenas, 0,9% amarelos e 4,5% ignorados (Ministério da Saúde, 2012). No Estado de Roraima, em 2013, foram detectados 58 casos (62,37%) na raça parda, 13 casos (13,98%) na raça indígena, 10 casos (10,75%) na raça branca, 08 casos (8,6%) na raça negra e 04 casos (4,3%) ignorados e nenhum caso na raça amarela (Figura 23).

Figura 23- Comparação da distribuição casos de hepatite segundo raça entre os participantes do estudo (n = 66), casos de hepatite B notificados em Roraima.



Dentre a totalidade dos participantes, 81,48% eram casados e 18,52% solteiros e essa diferença foi significativa estatisticamente ( $X^2 = 0,013$ ;  $p = 0,006$ ). Estudos indicam que o uso de preservativo diminuiu drasticamente em pessoas casadas devido à diminuição do hábito de usar preservativos com parceiros regulares em relação aos parceiros novos ou eventuais. Campanhas educativas sobre o uso de preservativo devem ser realizadas com esse público no sentido de reduzir a incidência de doenças sexualmente transmissíveis (DST). Deve fazer parte da estratégia de prevenção a realização de aconselhamento para casais esclarecendo que o uso não está associado à infidelidade (GALATO, 2011).

Ao avaliar os possíveis fatores de risco associados à infecção da hepatite B, observou-se que 9% dos entrevistados relataram serem usuários de drogas ilícitas, o que foi significativo estatisticamente ( $X^2 = 7,5$ ;  $p = 0,006$ ). O risco de transmissão da hepatite B aumenta com o passar dos anos, indivíduos que fazem uso de drogas ilícitas por mais de 10 anos mostram 1,6 (IC 95%: 1,0-2,6) vezes mais chances de positividade para hepatite B que aqueles com tempo menor (FERREIRA, 2008). Nesse sentido, torna-se importante pensar na implantação de programas de redução de danos nos serviços de saúde de modo a acessar e vincular usuários de drogas a estes serviços para que haja promoção da diminuição da vulnerabilidade pela reinserção social. Além disso, os agentes redutores de danos podem realizar busca ativa em locais onde o usuário vive e faz uso de drogas, realizar abordagem sigilosa, não estigmatizante ou excludente de modo que possa realizar ações de educação em saúde que oportunizem novos modos possíveis de relação com as drogas (PACHECO, 2013). Nesta estratégia a infecção pelo HBV pode ser realizada através da distribuição de kits contendo instrumentos para uso de drogas de modo a evitar o compartilhamento destes, além de ofertar teste rápido e vacina contra hepatite B.

Em relação à atividade sexual de risco, observou-se que 20% relataram relação sexual com parceiro sabidamente portador de hepatite B ( $X^2 = 5,062$ ;  $p = 0,024$ ) e 9% relataram alguma doença venérea (gonorreia ou sífilis) ( $X^2 = 7,5$ ;  $p = 0,006$ ), ambos estatisticamente significativos para transmissão da doença. A via sexual é considerada a principal forma de transmissão do HBV em

regiões de baixa e intermediária endemicidade. O relato de antecedentes com DST tem sido utilizado para identificação de grupos com comportamentos de risco para estas doenças (MATOS, 2007-B).

Trabalho realizado em ribeirinhos da Amazônia Brasileira destacou relação sexual de risco, compartilhamento de instrumentos de uso pessoal e relato de hepatite na família como fatores de risco para hepatite B (OLIVEIRA, 2011). No presente estudo observou-se que 23% dos casos possuíam contato familiar com portadores de hepatite B, sendo estatisticamente significativo ( $X^2 = 7,789$ ;  $p < 0,005$ ), demonstrando que a transmissão intrafamiliar é uma importante forma de disseminação da hepatite B na Região Amazônica, onde os familiares podem ser considerados reservatórios do vírus e possivelmente os irmãos são os responsáveis pela perpetuação do vírus da família (BRASIL, 2003). Em ambiente familiar, principalmente os de condições socioeconômicas precárias, encontramos a prática comum de compartilhamento de objetos de higiene pessoal (como escovas de dente, toalhas, alicates de unha, lâminas de barbear).

Além disso, na região Amazônica, observa-se insetos da família Simuliidae (Diptera), conhecidos no Brasil como “piuns” ou “borrachudos”. As fêmeas realizam atividade hematofágica, suas picadas são indolores no início, devido às propriedades anestésicas da saliva, causando um pequeno sangramento e que pode piorar devido ao processo alérgico que causa muita coceira induzindo a formações de lesões na pele (CASTELLÓN, 2011). Esta condição pode facilitar a disseminação de sangue contaminado com HBV e contato de pele não íntegra com superfície contaminada o que possivelmente facilita a transmissão do vírus em ambiente domiciliar.

Acidente com material biológico foi estatisticamente identificado como fator de risco para hepatite B entre os participantes do estudo ( $X^2 = 16,461$ ;  $p < 0,0005$ ). Foram citadas 18 ocupações entre os participantes (Apêndice 04), entre estas as que relataram acidente com material Biológico foram doméstica (1), eletricitista (1) e técnica em enfermagem (2). Nesse sentido, chama atenção a presença de profissionais de saúde, pois os acidentes por material perfuro-cortante têm importância especial nessa classe profissional, pela potencial contaminação biológica. Entre boa parte dos profissionais que atuam nos

serviços de saúde, trata-se de um acidente cujos possíveis efeitos negativos, frequentemente, parecem ser desconsiderados. As normas básicas de biossegurança não são valorizadas, tampouco a busca de atendimento adequado após a exposição (ROSSATO, 2008). E quando se fala em profilaxia pós-exposição da hepatite B, essa situação é mais grave. Pois geralmente após acidente perfuro-cortante os profissionais se preocupam com o risco de contaminação pelo HIV e raramente preocupam-se em fazer testagem do Anti-HBs para ter comprovação da imunidade contra hepatite B e na procurar o Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais para tomar Imunoglobulina contra hepatite B.

Observou-se que 38% dos participantes relataram compartilhamento de material de higiene pessoal ( $X^2 = 1,101$ ;  $p = 0,294$ ) e 64,86% relataram relação sexual sem preservativo ( $X^2 = 2,202$ ;  $p = 0,138$ ). Embora não tenham apresentado associação estatística com a infecção pelo HBV, esses dados são alarmantes para os serviços que trabalham com prevenção e controle da hepatite B. Pois todos os participantes do estudo são sabidamente portadores de hepatite B e continuam praticando atividades que contribuem para a transmissão da doença. Assim, pode-se ressaltar que está ocorrendo falha no momento do acolhimento nos serviços de saúde, quando indivíduo se descobre portador do vírus e neste momento deve ser orientado sobre a doença e as mudanças de comportamento para quebrar a cadeia de transmissão.

Em relação ao uso de álcool 92,31% dos participantes relataram não beber ou ter parado de beber quando descobriram que tinham hepatite, esta observação foi positiva na medida que o uso do álcool pode acelerar a evolução para cirrose ou CHC (FATTOCH, 2008).

Foi possível identificar informações terapêuticas e sobre HBV-DNA quantitativo de todos os participantes do estudo nos sistemas HÓRUS-Especializado/Farmácia-SAE e GAL/LACEN-RR, respectivamente. Observou-se que os valores oscilaram de indetectável ( $<10\text{UI/ml}$ ) até 269.305.861. Desta forma, 22 participantes (33,33%) apresentaram carga viral indetectável, destes 7 (31,82%) estavam em tratamento com entecavir; 9 com tenofovir (40,91%) e 6 (27,27%) sem tratamento. Por outro lado, 44 participantes (66,67%)

apresentaram carga viral detectável, onde 7 (15,91%) estavam em tratamento com entecavir, 9 (20,45%) com tenofovir e 28 (63,64%) sem tratamento (Tabela 3).

Tabela 3: Carga viral e situação de tratamento dos participantes do estudo.

Tratamento	HBV-DNA QUANTITATIVO			
	Indetectável		Detectável	
	nº	%	nº	%
Entecavir	7	31.82%	7	15.91%
Tenofovir	9	40.91%	9	20.45%
Sem Tratamento	6	27.27%	28	63.64%
<b>Total</b>	<b>22</b>	<b>100%</b>	<b>44</b>	<b>100.00%</b>

De acordo com o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da hepatite Viral Crônica B e Coinfecções (Ministério da saúde, 2009), a carga viral > 2.000 UI/ml é considerada o valor preditivo para manejo desses pacientes para indicação de biópsia hepática e/ou tratamento antiviral. Avaliou-se situação de tratamento em relação a carga viral dos participantes, no entanto não foi observada significância ( Tabela 4)

Tabela 4: Relação carga viral e situação de tratamento dos participantes do estudo.

Carga Viral	Com Tratamento	Sem Tratamento
< 2.000 UI/ml	28	32
> 2.000 UI/ml	4	2

OR=2.286 (95% CI 0.389-13.440), p= 0.360

Das 44 amostras que possuíam carga viral detectável, conseguiu-se amplificação por PCR de 12 amostras, 10 amostras na PCR1 e 02 amostras somente na PCR2, conseguindo-se sequenciamento de todas o que representa 27,2% das amostras que possuíam carga viral detectável e 18,1% do total das amostras coletadas. O quadro 5 apresenta os genótipos e subgenótipos identificados no presente estudo e a relação das sequências junto com a similaridade das amostras do *GenBank*.

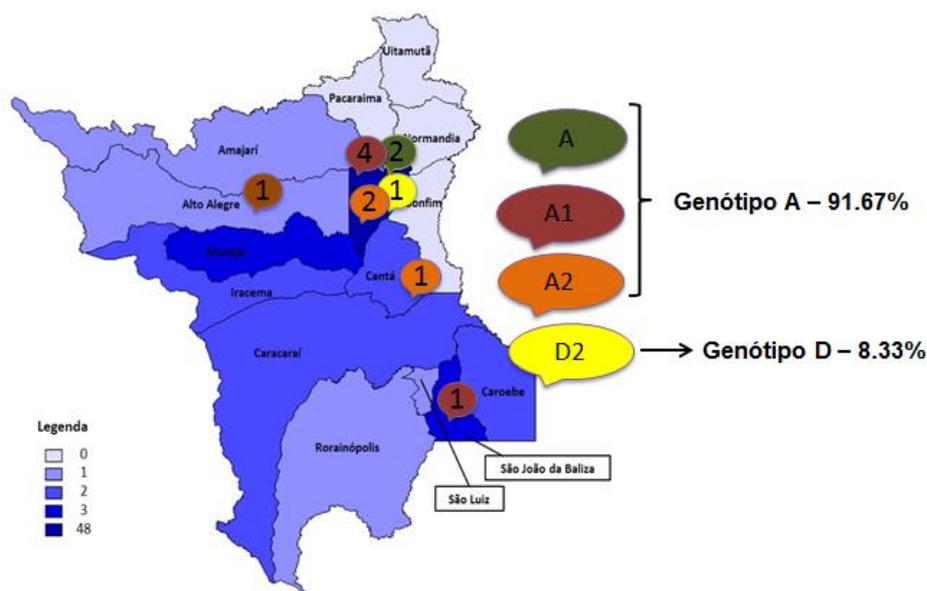
Quadro 5: Relação de identidade entre as amostras obtidas no estudo e as amostras no *GenBank*

Identificação da Sequência	Tamanho da sequência consenso	Genótipo	Identidade	Número de acesso- <i>GenBank</i>	País
HBV01	332pb	A1	100%	KC752176.1	Índia
HBV02	325pb	A1	99%	KC752176.1	Índia
HBV14	214pb	A	99%	KJ434165.1	Brasil (Goiás)
				KF862528.1	Itália
HBV16	324pb	D/D2	100%	JX096957.1	Látvia
				JX090696.1	Rússia
HBV20	351pb	A/A1	99%	KJ533387.1	Índia
HBV28	336pb	A/A1	99%	KC752176.1	Índia
HBV34	345pb	A/A2	99%	JX310730.1	Holanda
HBV37	349pb	A/A2	99%	JX310721.1	Holanda
HBV43	344pb	A/A1	99%	KC752176.1	Índia
HBV45	302pb	A/A1	99%	KC752176.1	Índia
HBV62	332pb	A/A2	100%	KF862528.1	Itália
				KC752149.1	Índia
HBV63	336pb	A/A2	99%	KF862534.1	Itália
				KC752149.1	Índia
HBV68	332pb	A	99%	EU264143.1	Brasil (Manaus)
				GU248587.1	Brasil (Rio de Janeiro)

Assim, o genótipo mais frequente, entre as amostras sequenciadas no presente estudo, foi genótipo A 91,67%, seguido pelo genótipo D 8,33%. Foi possível identificar subgenótipo A1 em 45,45% das amostras com genótipo A e subgenótipo A2 em 36,36%. Identificou-se ainda o subgenótipo D2 na única amostra identificada como genótipo D. Esse perfil de genótipos do VHB encontrado no presente estudo reflete o padrão que foi encontrado em outros estudos realizados na região Norte que detectaram o genótipo A como mais frequente, seguido pelo genótipo D. Diferentes desses, o genótipo F não foi identificado apesar de ser relatado em outros estudos realizados na região Norte (CONDE, 2004, OLIVEIRA, 2008, SANTOS, 2010, DIAS, 2012, CASTILHO, 2012) e ser o genótipo mais frequente na Venezuela, que faz fronteira com Roraima (DEVESA, 2008, FORTES, 2011, MELLO, 2013).

Em relação aos genótipos, os dois casos de genótipo A foram identificados em indivíduos residentes do município de Boa Vista. O subgenótipo A1 foi identificado no município de Alto Alegre (1 caso), Boa Vista (04 casos) e em São João da Baliza (1 caso). O subgenótipo A2 foi identificado no município de Boa Vista (2 casos) e Cantá (1 caso). Por fim, o subgenótipo D2 foi identificado no município de Boa Vista (Figura 24).

Figura 24 – Distribuição dos participantes do estudo (n = 66) e dos genótipos e subgenótipos do HBV por município de residência, Roraima, Brasil



66

Não foi possível relacionar dados laboratoriais, terapêuticas e histológicas do pacientes com o genótipo do HBV (Tabela 5). Identificou-se situação sorológica do HBeAg e Anti-HBe de apenas três amostras com genótipo do HBV definido, onde uma amostra com subgenótipo D2 apresentou HBeAg reagentes e Anti-HBe não reagentes, uma amostra com subgenótipo A1 apresentou HBeAg não reagentes e Anti-HBe reagentes e uma amostra com subgenótipo A1 apresentou sorologia inconclusiva para ambos os marcadores.

Identificou-se resultado de biópsia hepática de 05 amostras genotipadas. Assim, resultados de três amostras com subgenótipo A1 apresentaram-se respectivamente com grau de fibrose A2F2, hepatite crônica com escore A0F0 e com parênquima sem particularidades. Uma amostra com genótipo A e outra com subgenótipo D2, apresentaram resultado de biópsia indicava fígado não cirrótico.

Por raramente apresentar mutação no pré-core o genótipo A dificilmente causa hepatite com HBeAg negativo. Existe diferença em relação à origem dos subgenótipos A1 e A2, o primeiro tem origem africana e o segundo europeia. Apresentam ainda diferenças clínicas, o subgenótipo A1 soroconverte de HBeAg para Anti-HBe mais rapidamente que subgenótipo A2. Além disso, subgenótipo A1 tem sido associado à evolução mais rápida para CHC, sendo encontrado tumores em idades significativamente em indivíduos mais jovens. Diferente deste, o subgenótipo A2 parece estar associado a menores taxas de evolução para CHC do que outros genótipos, incluindo D e F1. Por outro lado a mutação pré-core é frequente no genótipo D, incluindo os subgenótipos D1, D2, e D3, neste caso há maiores chances de hepatite B crônica com HBeAg negativo, mas que pode evoluir para fibrose hepática progressiva e CHC (TANWAR, 2012, TONG, 2013).

Em relação ao genótipo e tratamento não se pode fazer correlações, pois das 07 amostras genotipadas não estavam em tratamento, dessas 6 eram do genótipo A e uma com o genótipo D. Dos 5 indivíduos que estavam em tratamento 2 com entecavir, ambos com genótipo A1 e 3 com tenofovir sendo um do Genótipo A e dois do subgenótipo A1. Foi possível identificar carga viral de todas as amostras genotipadas, sendo que 7 apresentavam carga viral abaixo de 2.000 UI/ml e 05 apresentavam carga viral acima de 2.000 UI/ml (Tabela 5).

**Tabela 5 – Variáveis Clínicas relacionadas aos Genótipos e Subgenótipos do HBV**

Variáveis Clínicas	Genótipos e Subgenótipos do HBV				Total
	A	A1	A2	D2	
<b>HBeAg/Anti-HBe</b>					
Reagente/Não Reagente	0	0	0	1	1
Não reagente/Reagente	0	1	0	0	1
Inconclusivo	0	1	0	0	1
Não encontrado	2	4	3	0	9
<b>Resultado Biópsia Hepática</b>					
A2F2	0	1	0	0	1
Crônica com escore A0F0	0	1	0	0	1
Parênquima sem Particularidades	0	1	0	0	1

Não cirrótico	1	0	0	1	2
Não encontrado	1	3	3	0	7
<b>Tratamento</b>					
Entecavir	0	2	0	0	2
Tenofovir	1	2	0	0	3
Sem tratamento	1	2	3	1	7
<b>Carga Viral</b>					
< 2.000 UI/mL	1	4	1	1	7
> 2.000 UI/mL	1	2	2	1	5

---

Ao relacionar carga viral, genótipo do HBV e tratamento, observou-se que dos sete pacientes com carga viral abaixo de 2.000 UI/mL, 05 estavam sem tratamento, destes quatro eram subgenótipo A1 e um subgenótipo A2, e dois estavam em tratamento, ambos com subgenótipo A 1, um em tratamento com tenofovir e outro com entecavir. Por outro lado, cinco pacientes apresentaram carga viral acima de 2.000 UI/mL, destas três estavam sem tratamento, uma pertencendo ao subgenótipo A1 e duas ao subgenótipo A2. E duas estavam em tratamento uma com entecavir pertencendo ao subgenótipo A1 e uma com tenofovir pertencendo ao genótipo A. Esta última chama atenção por apresentar carga viral muito alta (269.305.861 UI/mL) e está em tratamento. No entanto, não foi possível identificar a data do início do tratamento para verificar possível resistência.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Pode-se definir o perfil epidemiológico dos portadores de hepatite B do estudo como apresentando idade média de 44,5 anos, com maior frequência na faixa etária de 40 a 49 anos de idade; 59, 57% pertencem a raça parda; 81,48% são casados e 51,28% completaram o ensino médio. Em relação ao sexo, homens e mulheres estão expostos aos mesmos riscos de serem infectados pela doença.
- Dos fatores de risco analisados, apresentaram-se estatisticamente significativos como relacionados à transmissão do HBV o uso de drogas ilícitas; comportamento sexual de risco; contato familiar com portadores de hepatite B e acidente com material perfuro-cortante. A identificação destes fatores direciona para a importância da implementação de ações de redução de danos; de incentivo do uso do preservativo nas relações sexuais entre jovens e pessoas casadas; investigação sorológica de comunicantes de portadores da doença e incentivo de vacinação contra hepatite B entre os profissionais de saúde, além do incentivo de normas de biossegurança e procedimentos pós-exposição com material perfuro-cortante.
- O compartilhamento de material de higiene pessoal e relação sexual sem preservativo, apesar de não terem sido estatisticamente significativos como fatores de transmissão da hepatite B, estas informações alertam para o fato de portadores dessa doença desconhecerem sobre as formas de transmissão. Este fato indica que está ocorrendo falha no aconselhamento ao paciente assim que ele se descobre portador, neste momento além de informações clínicas da doença, torna-se importante informar sobre as formas de transmissão para que os mesmos identifiquem comportamentos de risco e os modifiquem.

- Através do método de amplificação do gene S do HBV, pela técnica de *nested-PCR* e posterior sequenciamento, determinou-se que o genótipo A é o mais prevalente entre as amostras sequenciadas no Estado de Roraima representando 91,67%, seguido pelo Genótipo D 8,33%. Identificou-se ainda subgenótipos A1, A2 e D2.
- Não foi possível correlacionar os genótipos do HBV com as variáveis laboratoriais, terapêuticas e histológicas devido a impossibilidade de obter estas informações nos prontuários médicos e nos serviços que fazem parte da rede de serviço das Hepatites Virais no estado de Roraima. Sugere-se a implantação, nos serviços de referência das hepatites virais, de protocolo que possibilite anotações dessas variáveis para que seja possível realização de outros estudos que tenham como objetivo avaliar a interferência do genótipo na história natural da hepatite B.
- Este estudo, pioneiro no estado de Roraima, possibilitou articulação entre meio acadêmico e a rede de serviços das hepatites virais do Estado de Roraima. Possibilitando o amadurecimento de ambos e a identificação de algumas facilidades e limitações da rede de serviços para a pesquisa.
- A maior facilidade encontrada foi o acesso rápido e prático aos resultados de sorologia e carga viral do HBV no Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL), seria um grande avanço para o monitoramento clínico do agravo a inclusão dos resultados de Biópsia Hepática nesse sistema. A inclusão do tratamento das hepatites crônicas no Sistema Nacional de Gestão da Assistência Farmacêutica (HÓRUS-Especializado) também facilitou o acesso aos dados de tratamento, a única limitação foi a identificação da data do início do tratamento.

- Em relação à vigilância epidemiológica das hepatites virais no estado de Roraima o presente trabalho contribuiu nas capacitações realizadas para profissionais da atenção básica dos municípios e NUVEH, maiores fontes de notificação de casos suspeitos da doença. Nessas ocasiões aproveitou-se para sensibilizá-los sobre o quanto a falta de informações na ficha de investigação limita a identificação de fatores condicionantes e conseqüentemente a ações de prevenção e controle deste agravo no estado.
- A constatação do contato domiciliar com portador de hepatite B ser estatisticamente significativa para a transmissão da hepatite B, evidencia a importância do trabalho articulado entre Vigilância Epidemiológica e Atenção Básica, no sentido de realizar a investigação dos comunicantes de hepatite B com o objetivo de detectar precocemente portadores, encaminhá-los aos serviços especializados e quebrar a cadeia de transmissão.
- Pretende-se continuar com outros estudos com novas abordagens moleculares em diferentes fragmentos do genoma do HBV e até no genoma completo com o objetivo de avaliar a ocorrência de mutações específicas e resistência ao tratamento, além de propor implantação, nos serviços de referência das hepatites virais, de protocolo que possibilite anotações de variáveis clínicas do paciente para que seja possível avaliar a interferência do genótipo na história natural da hepatite B.

## REFERÊNCIAS

ALCALDE, R. et. al. Distribution of hepatitis B virus genotypes and viral load levels in Brazilian chronically infected patients in São Paulo city. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, n. 51, v. 5, p. 269-272, 2009.

ALVARYZ, R. C. Hepatite Crônica Pelo Vírus B (HBV). **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, Rio de Janeiro, 2006. p. 16-34. Disponível em: <[http://revista.hupe.uerj.br/detalhe\\_artigo.asp?id=243](http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=243)>. Acesso em: 16 de abril de 2013.

ALMEIDA, D. Importância Clínica dos Genótipos do Vírus B, **Gazeta Médica da Bahia**, Supl. 2, n. 79, p. 39 a 40, 2009.

ANDRADE, A. B. **Caracterização e análise filogenética dos genótipos do vírus da Hepatite B circulantes em Território Brasileiro**, 2008, 114 p. Tese (Doutorado Acadêmico em Biologia Celular e Molecular) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.

AQUINO, J. A., Soroprevalência de infecções por vírus da hepatite B e vírus da hepatite C em indivíduos do Estado do Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, n. 41, v. 4, p. 334-337, 2008.

ARAÚJO, N. M. **Estudos da Expressão do HBsAg: Hepatite B Oculta, Genótipo do VHB e Quimeras de HBV e HCV**, 2008, 82 p. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.

ASSUNÇÃO, A. A. Vacinação contra hepatite B e exposição ocupacional no setor saúde em Belo Horizonte. **Rev Saúde Pública**, v. 46, n. 4, p. 665-673, 2012.

BAARS, J.E. The reach of a Hepatitis B Vaccination Programme among Men who Have Sex with Men. **European J Public Health**, n. 3. V. 21. P.333-337, 2010.

BARBOSA, D. A., BARBOSA, A. M. F. Avaliação da completude e consistência do banco de dados das hepatites virais no estado de Pernambuco, Brasil, no período de 2007 a 2010. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, n. 22, v. 1, p. 49-58, 2013.

BARONE, A. A.; VISO, A. T. R. Patogenia da hepatite B e Delta. **Braz. J. infect. Dis.**, Salvador, v. 10, n. 1, p. 11-14, ago. 2006.

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

BECKER, C. E. et. al. Genotyping of hepatitis B virus in a cohort of patients evaluated in a hospital of Porto Alegre, South of Brazil. **Arq Gastroenterol**, v. 47, n. 1, jan./mar. 2010.

BENHENDA, S.; COUGOT, D.; BUENDIA, M.A.; NEUVEUT, C. Hepatitis B Virus X Protein: Molecular Functions and Its Role in Virus Life Cycle and Pathogenesis, **Advances in Cancer Research**, v. 1, n. 4, p. 75-109. 2009.

BERGAMASCHI, F. P. R. **Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite B em assentamento rural em Mato Grosso do Sul, Brasil Central.** 2013. 96 p. Tese (Doutorado em Enfermagem) - Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

BRASIL, L. M. Prevalência de marcadores para o vírus da hepatite B em contatos domiciliares no Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** n. 5. v. 35. p. 565-570, 2003.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Material Instrucional para capacitação em vigilância epidemiológica das hepatites virais.** Brasília, 116 p., 2008-A

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Hepatites Virais: O Brasil está atento**, 3ª Ed., 60 p. Brasília, 2008-B.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **ABCDE do diagnóstico das Hepatites Virais**, 24 p., Brasília, 2009.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e diretrizes terapêuticas para o tratamento da hepatite viral B e Coinfecções**– Brasília, 2010-A.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico das Hepatites Virais**, Ano I – nº 1, 2010-B.

BONINO, F., BRUNETTO, M. R., Chronic hepatitis B e antigen (HBeAg) negative, anti-HBe positive hepatitis B: an overview. **Journal of Hepatology**. v.39, Suppl 1, p. 160, 2003.

CASTELLÓN, E. **Cartilha de entomologia médica: doença transmitida por insetos na Amazônia**. 51 p, Manaus, 2011.

CASTILHO, M. C. et al. Epidemiology and Molecular Characterization of Hepatitis B Virus Infection in Isolated Villages in the Western Brazilian Amazon. **J. Trop. Med. Hyg.** v. 87, n. 4, p. 767-773, 2012.

CERQUEIRA, A. C. B. Completude do sistema de informação de agravos de notificação compulsória de gestante HIV positivo entre 2001 e 2006, no Espírito Santo, Brasil. **Rev Odont**, n. 10. v. 1. p. 33 – 37. 2008.

COMPRI, A. P. 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, 2012

CONDE, S. R. S. S. Prevalência de genótipos e de mutantes pré-core A-1896 do vírus da hepatite B e suas implicações na hepatite crônica, em uma população da Amazônia oriental. **Revista da Sociedade Brasileira de medicina Tropical**. n.37. supl. II, p. 33 – 39. 2004.

DEVESA, M. Subgenotype Diversity of hepatitis B virus american genotype F in amerindians from Venezuela and the general population of Colombia. **Journal of Medical Virology**, n. 80, p 20 – 26, 2008.

DIAS, A. L. B. Molecular characterization of the hepatitis B virus in autochthonous and endogenous populations in the Western Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, n. 45, v. 1, p. 9-12, 2012

DIVISÃO DE IMUNIZAÇÃO. **Vacina contra hepatite B**. Rev Saúde v. 40. P. 1137-1140., 2006.

ELOY, A. M. X., Hepatitis B virus in the State of Alagoas, Brazil: genotypes characterization and mutations of the pre-core and basal core promoter regions. **Braz J. Infect. Diz.** n. 17, v. 6, p. 704 – 706, 2013.

FALLAHIAN, F., ZAMANI, F., HASHEMIAN, S.M.R. **Hepatitis B Virus Genetic Diversity**, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4172/scientificreports.209>>. Acesso em: 12 dez. 2013.

FERREIRA, 2008. **Infecção pelo Vírus da Hepatite B em usuários de drogas Ilícitas Na Região Centro-Oeste do Brasil: Aspectos Epidemiológicos e Moleculares**. 2008. 112 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical/Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

FONSECA, JCF. 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. **Hepatite B: Aspectos epidemiológicos**. In: ARAÚJO. E.S.A. ABC das hepatites: manual clínico para o manuseio, terapia e prevenção da hepatite B, ed. – São Paulo: Bristol-Myers Squibb, 139 p., 2008.

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

FREITAS J. **Hepatites Víricas: Perspectiva histórica**. 2003. Disponível em: <http://www.aidsportugal.com/hepatite>>. Acesso em: 09 dez. 2013.

FRIAS, F. R., JARDI, R. Virologia molecular do vírus da hepatite B. **Enferm. Infec. Microbiol. Clin.** v. 26, supl 7, p. 2-10, 2008.

GALATO, D., CORREIA, T. S. Vulnerabilidade das doenças sexualmente transmissíveis de pessoas vivendo em relacionamentos estáveis em uma cidade do sul do Brasil. **Arquivos Catarinenses de Medicina**. v. 40, nº 2, 2011.

GLEBE, D., URBAN, S., Viral and cellular determinants involved in hepatitis B virus entry. **World J Gastroenterol**, v. 13, n. 1, p. 22-38, 2007

HADDAD, R. Hepatitis B virus genotyping among chronic hepatitis B patients with resistance to treatment with lamivudine in the city of Ribeirão Preto, State of São Paulo, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n.3, p. 224-228, mai./jun. 2010

JAYALAKSHMI, M. K., NARAYANA, N. K. RAMASAMY, P. **Hepatitis B Virus Genetic Diversity: Disease Pathogenesis**. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5772/53818>>. Acesso em: 09 mar 2013.

KAY, A., ZOULIM, F. Hepatitis B virus genetic variability and evolution. **Virus Research**, v. 127, n. 2, p. 164-176, 2007.

LOPES, T.G.S.; SCHINONI, M.I. Aspectos gerais da hepatite B. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. Salvador, v.10, n.3, p.337-344, set./dez. 2010.

LU, P.J., et. al. Hepatitis B Vaccination Coverage among High-risk Adults 18-49 Years, **Vaccine**. n. 29. p. 1049-1057, 2011.

MACHADO, I. et. al. Elevada circulación del genotipo F del virus de la hepatitis B en población infectada urbana no migratoria y migratoria de Venezuela. **Revista Gen**, n. 65, v. 2. P 105 – 107. 2011.

MARINHO, C.; AGOSTINHO, C., **Hepatite B**, 2003. Disponível em: <[http://www.aidsportugal.com/Modules/WebC\\_Docs/GetDocument.aspx?DocumentId=258&Version=2](http://www.aidsportugal.com/Modules/WebC_Docs/GetDocument.aspx?DocumentId=258&Version=2)>. Acesso em: 16 abr. 2013.

MATOS, M.A.D. **Estudo Epidemiológico e Molecular da Infecção pelo vírus da hepatite B em afro-descendentes de comunidade isolada no Estado de Goiás (Kalungas)**. 2007. 54 p. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2007-A.

MATOS, M. A. **Estudo da Infecção pelo Vírus da Hepatite B (HBV) em caminhoneiros de Rota Longa do Brasil: Soroepidemiologia e Genótipos**. 2007. 90 p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem), Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007-B.

MELLO, C.E.B. **História Natural da Infecção pelo Vírus da Hepatite B (HBV) em indivíduos imunocompetentes e imunodeficientes**. In: ARAÚJO. E.S.A.

**aBc das hepatites: manual clínico para o manuseio, terapia e prevenção da hepatite B**, ed. – São Paulo: Bristol-Myers Squibb, 139 p., 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. INFORME TÉCNICO DA INTRODUÇÃO DA VACINA PENTAVALENTE - **Vacina adsorvida difteria, tétano, pertussis, hepatite B (recombinante) e *Haemophilus influenzae* tipo b (conjugada)**. Brasília, 2012. 16p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais**, Ano III - nº 1, Brasília, 2012. 176p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Nota Técnica Conjunta Nº 02/2013/CGPNI/DEVEP e CGDHRV/DST/SVS/MS – **Ampliação da Oferta da vacina hepatite B para faixa etária de 30 a 49 anos em 2013**. Brasília, 2013. 2p.

MICHAILIDIS, E. et. Al. Antiviral therapies: Focus on hepatitis B reverse transcriptase. **The Journal of Biochemistry & Cell Biology**, n 44, p. 1060 a 2071. 2012.

MORA, M. et. al. Molecular characterization of the hepatitis B virus genotypes in Colombia: A Bayesian inference on the genotype F. **Infections, Genetics and Evolution**, n. 11, p. 103 – 108, 2011.

MORAES, J. C., LUNA, E. J. A., GRIMALD, R. A. Imunogenicidade da vacinabrasileira contra hepatite B em adultos. **Rev.SaúdePública**, n.2, v. 44. p. 353-359, 2010.

MOTA, A. et al, Aexpressãogenotípica do Vírus da Hepatite B em Portugal e no mundo, **Acta Med Port**.n.24, v. 4, p. 587-594, 2011.

NASSAL M. Hepatitis B viruses: reverse transcription a different way. **Virus Res**, v. 134, n. 1-2, p. 235-249, 2008.

NOVA, M. L. **Estudo Epidemiológico, Clínico e Molecular do Vírus da Hepatite B na cidade de Chapecó**, Oeste de Santa Catarina, 2010. 148 p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Programa de Gastroenterologia Clínica), São Paulo, 2010.

NUNES, TSO., LACET, C. História natural da hepatite B crônica. **Revista Brasileira de Clínica Médica**. v. 7, p. 124-131, 2009.

OLINGER, C. M. Possible New Hepatitis B Virus Genotype Southeast Asia, **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 11, 2008.

OLIVEIRA, C. M. et. al. Phylogeny and molecular genetic parameters of different stages of hepatitis B virus infection in patients from the Brazilian Amazon. *Arch Virol*. n. 153, p. 823 – 830, 2008.

OLIVEIRA, C. S. F. et. al. Hepatitis B and C virus infection among Brazilian Amazon riparians. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, n.5, v. 44.p. 546-550, 2011.

ONO-NITA, S. K., CARRILHO, F. J. **Virologia do VHB**. ARAÚJO. E.S.A. In: aBc das hepatites: manual clínico para o manuseio, terapia e prevenção da hepatite B, ed. – São Paulo: Bristol-Myers Squibb, 139 p., 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE GASTROENTEROLOGIA, **Hepatite B**, 2008. Disponível em:  
<[http://www.worldgastroenterology.org/assets/downloads/pt/pdf/guidelines/12\\_hepatitis\\_b\\_pt.pdf](http://www.worldgastroenterology.org/assets/downloads/pt/pdf/guidelines/12_hepatitis_b_pt.pdf)>. Acesso em: 09 dez. 2013.

OTT, J.J., et. al. Global Epidemiology of Hepatitis B Virus Infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. **Vaccine**. n. 30., p. 212-2219, 2012.

PARANA, R.; SCHINONI, M.I.; OLIVEIRA, A.P. **Diagnóstico e Monitorização da Hepatite B**. IN: ARAÚJO. E.S.A. In: aBc das hepatites: manual clínico para o manuseio, terapia e prevenção da hepatite B, ed. – São Paulo: Bristol-Myers Squibb, 139 p., 2008.

PACHECO, M. E.A. G. **Política de redução de danos a usuários de substâncias psicoativas: práticas terapêuticas no projeto consultório de rua em Fortaleza, Ceará**. 2013. 126 p. Dissertação de Mestrado em Políticas Públicas e Sociedade, Universidade Estadual do Ceará – UECE, 2013.

ROSSATO, E. M., FERREIRA, J. Acidentes com pérfuro-cortantes e cobertura vacinal contra hepatite B entre trabalhadores da Saúde no Município de Santa

Rosa, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 2008. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, n. 3. v. 21. p. 487- 496, 2012.

SANTOS, A. O. et. al. **Characterization of Hepatitis B virus (HBV) genotypes in patients from Rondônia, Brazil. Virology Journal**, n. 7, v. 315, 2010, Disponível em: <<http://www.virologyj.com/content/7/1/315>>, Acesso em: 10 dez 2013.

SILVA, A. L., et. al. Hepatites virais: B, C e D: atualização. **Rev. Bras. Clin. Med.** São Paulo, v. 10, n. 3, p. 206-218, 2012.

SILVA, A. C. L. G. Incidência e mortalidade por hepatite B, de 2001 a 2009: uma comparação entre o Brasil, Santa Catarina e Florianópolis. **Cad. Saúde Colet.**, Rio de Janeiro, n. 1, v. 21, p. 34-934, 2013.

SISTEMA NACIONAL DO PNI, **Cobertura vacinal contra hepatite B, por faixa etária, na série histórica de terceiras doses aplicadas, Estados, Região e Brasil, 1994 a 2011.** Disponível em: <<http://pni.datasus.gov.br/>>. Disponível em: 10 mai 2014.

TANG H. et. al., Molecular functions and biological roles of hepatitis B virus x protein. **Cancer Sci.** v. 97, n. 10, p. 977-983, 2006.

TANWAR, S., GEOFFREY, D. Is There Any Value to Hepatitis B Virus Genotype Analysis?. **Curr Gastroenterol Rep.** n. 14, p. 37-46, 2012.

TATEMATSU, K, 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, 2009.

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

THE HEPATITIS B VIRUS DATABASE. **Genome.** Disponível em: <<http://hbvdb.ibcp.fr/HBVdb/HBVdbGenome>>. Acesso em: 10 dezembro 2013 – A.

THE HEPATITIS B VIRUS DATABASE. **Surfaceprotein**. Disponível em: <<http://hbvdb.ibcp.fr/HBVdb/HBVdbProteins?protein=Surface>>. Acesso em: 10 dezembro 2013 – B.

TONETTO, P. A. **Análise Molecular dos Genótipos do Vírus da Hepatite B em Pacientes do Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil**. 2006. 91p. Dissertação. (Mestrado em Clínica Médica). Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2006.

TONG, S., et. al. Hepatitis B virus genetic variants: biological properties and clinical implications. **Emerging Microbes and Infections**, 2013. Disponível em: <[www.nature.com/emi](http://www.nature.com/emi)>. Acesso em: 20 mai 2014.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Carta nº 116/CoEP-UFRR

Boa Vista, 12 de novembro de 2012.

A Sua Senhoria  
Pesquisador (a) Fabiana Granja

Assunto: Parecer projeto de pesquisa

Senhor(a) Pesquisador(a),

Informamos a Vossa Senhoria que o CoEP/UFRR constituído nos termos da Resolução 196/06 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre documentação referente ao projeto de pesquisa: "Caracterização fenotípica do vírus da hepatite B no Estado de Roraima", conforme abaixo discriminado.

Protocolo de pesquisa: 121005  
Pesquisador responsável: Fabiana Granja  
Data da reunião: 26/10/12.

Parecer: "APROVADO"

Outrossim, informamos que V. Senhoria deverá enviar relatório anual ou final, para que este comitê possa acompanhar o desenvolvimento do projeto conforme item VII. 13. d. Resolução 196/06 – CNS/MS.

Atenciosamente,

Calvino Camargo  
Presidente do Comitê

## ANEXO 2

### PROTOCOLO KIT QIAGEN – SANGUE E FLUIDOS CORPORAIS

1. Pipetar 20 ul de protease da QIAGEN (ou proteinase K) em um Microtubo de 1,5 ml.
2. Adicionar 200 ul de amostra no mesmo Microtubo de 1,5 ml. Utilize até 200 mL de sangue total, plasma, soro, buffycoat ou fluidos corporais, ou superior a 5 x 10<sup>6</sup> linfócitos em 200 ul de PBS .
3. Adicionar 200 ul de Tampão AL à amostra. Misture por pulso - vórtex por 15 s.
4. Incubar a 56°C durante 10 min. Rendimento de DNA atinge um máximo ao fim de lise durante 10 min a 56°C. O alongamento do período de incubação, muitas vezes, não tem nenhum efeito sobre a produtividade ou a qualidade do DNA purificado.
5. Resumidamente centrifugue omicrotubo de 1,5 ml.
6. Adicionar 200 ul de etanol (96-100 % à amostra), e misturar novamente por pulso - vórtex para 15s. Depois de misturar e centrifugar brevemente o microtubo de 1,5 ml.
7. Cuidadosamente transferir a mistura do passo 6 para coluna de centrifugação QIAamp (dentro de um tubo de 2 ml tubo) sem molhar a borda , feche a tampa, e centrifugue a 6000 xg (8000 rpm) durante 1 min. Coloque a coluna QIAamp em um tubo de 2 ml limpo (fornecido) , e rejeitar o tubo contendo o filtrado.
8. Abrir cuidadosamente a coluna QIAamp e adicionar 500 mL de buffer AW1 sem molhar o aro . Feche o tampão e centrifuga-se a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min . Coloque a coluna QIAampem um tubo de coleta de 2 ml limpo (fornecido), e descarte o tubo de coleta contendo o filtrado.
9. Abrir cuidadosamente a coluna QIAamp e adicionar 500 mL de buffer AW2 sem molhar o aro . Feche a tampa e centrifugar a velocidade máxima (20.000 xg ; 14.000 rpm) durante 3 min. Continue diretamente com o passo 10, ou para eliminar qualquer chance de possível buffer AW2 transição, execute o passo 9, e, em seguida, continue com o passo 10.  
9a . (Opcional): Coloque a Coluna Giro QIAamp em um novo tubo de 2 ml de coleta (não fornecidos) e descarte o tubo de coleta com o filtrado . Centrifugar a 20.000 x g (14.000 rpm) durante 1 min.
10. Coloque a coluna QIAamp em um microtubode 1,5 ml limpo (não fornecido), e rejeitar o tubo de recolha, contendo o filtrado . Abra cuidadosamente a QIAamp Gire Coluna e adicionar 200 mL (alterado para 50 microlitros) de buffer AE ou água destilada. Incube a sala temperatura (15-25 ° C) durante 1 min, e, em seguida, centrifugue a 6000 x g ( 8000 rpm) durante 1 min .

## ANEXO 3

### PRECIPITAÇÃO DE PRODUTO DA PCR COM POLIETILENOGLICOL (PEG)

A precipitação com Polietilenoglicol (PEG) atua como método de purificação da PCR com objetivo de remoção de oligos e nucleotídeos não incorporados na PCR que poderiam interferir na reação de sequenciamento. Apresenta um bom rendimento, podendo utilizar somente 0,5-1 $\mu$ L da amostra na reação de sequenciamento. O método não é recomendado para PCR com bandas inespecíficas ou com primer dimers.

Antes de iniciar o procedimento:

- A- Armazene o etanol 80% a -20°C;
- B - Programe o banho-maria ou banho seco a 37°C.

Procedimento:

- 1- Transfira o volume da PCR para tubo de 1,5mL e adicione PEG (20%); **Obs: o volume de PEG a ser adicionado deve ser igual ao volume da PCR.**
- 2- Agite suavemente em vórtex por 10 segundos e incube a 37°C por 15 minutos;
- 3- Após incubação, centrifugue a 6000 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente;
- 4- Descarte o sobrenadante e adicione 125 $\mu$ L de etanol 80% gelado e em seguida centrifugue a 4500 rpm por 2 minutos;
- 5- Descarte o sobrenadante e deixe secando a 37°C por 15 minutos para remoção de resíduos de etanol;
- 6- Certifique a ausência de resíduos de etanol e adicione água livre de nuclease, sendo adicionado o mesmo volume inicial da PCR.
- 7- Agite em vórtex por 10 segundos e armazene amostra a -20°C  
**Obs: antes de armazenamento da amostra a -20°C armazene a 4-5°C por algumas horas para uma melhor eluição do DNA.**

Solução PEG (20% w/v PEG, 2,5M NaCl)

10g de Polietilenoglicol 8000

7,3g de NaCl

Adicione 35 mL de ddH<sub>2</sub>O

Agite para solubilizar o PEG durante 20 minutos, ou até o mesmo encontre-se solúvel.

Após, complete o volume para 50 mL com ddH<sub>2</sub>O

## ANEXO 4

### PROTOCOLO EtOH/EDTA/ACETATO DE SÓDIO. – BULA BIGDYE V3.1 APPLIED BIOSYSTEM

*Para precipitar reações de 10uL em placas com 96 poços:*

1. Remova a placa do termociclador/congelador e centrifugue 1 min 2000 RCF;
2. Adicione quantidades iguais de EDTA 125mM e acetato de sódio 3M (pH 5,2) necessárias para a quantidade de poços utilizados na placa e pipete 2µL dessa solução em cada poço;

*Nota: tenha certeza que esta solução foi adicionada no fundo dos poços.*

3. Adicionar 25µL de EtOH 100% gelado, a cada um dos poços;
4. Sele a placa com *strips* e misture por inversão (4x);
5. Incube por 15 minutos à temperatura ambiente, ao abrigo da luz;
6. Centrifugue a 2.000 RCF por 45 minutos;

*Importante: o próximo passo deve ser feito imediatamente. Se isto não for possível, então faça um spin na placa por mais 2 minutos antes de recomeçar.*

7. Inverta a placa e faça um *spin* até 180 RCF por 1 minuto, removendo em seguida a placa da centrífuga;

*Obs: Antes de inverter a placa, desprezei o conteúdo da mesma na pia junto com uma leve batida na mesa. Após esta centrifugação, programá-la para a temperatura de 4°C*

8. Adicione 35µL de EtOH a 70% em cada um dos poços;
9. Centrifugue por 15 minutos, à 4°C e 1.650 RCF;

*Obs: Caso tenha esquecido a programação para 4°C, acione o FAST temperatura.*

10. Inverta a placa e faça um *spin* até 180 RCF por 1 minuto, removendo em seguida a placa da centrífuga;

*Nota: comece a contar o tempo assim que o rotor começar a se mover.*

11. Incube a placa à 52°C por 15 minutos, cobrir com papel alumínio (termociclador)
12. Se não for colocar no sequenciador imediatamente, congelar a placa seca ao abrigo da luz;
13. No momento de sequenciar ressuspender com 10 uL de formamidaHi-Di, levando a placa ao agitador de placa seguido de um spin;
14. Aqueça a placa 95°C por 1 minuto, monte e coloque no sequenciador.

## ANEXO 5

República Federativa do Brasil  
Ministério da Saúde

**SINAN**  
SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO  
FICHA DE INVESTIGAÇÃO **HEPATITES VIRAIS**

Nº

<b>Suspeita clínica/bioquímica:</b> - Sintomático lotérico: * Indivíduo que desenvolveu hepatite subitamente com ou sem: febre, mal estar, náuseas, vômitos, mialgia, icterícia e hipocósmia fecal. * Indivíduo que desenvolveu hepatite subitamente e evoluiu para óbito, sem outro diagnóstico etiológico confirmado. - Sintomático anolérico: * Indivíduo sem icterícia, com um ou mais sintomas (febre, mal estar, náuseas, vômitos, mialgia) e valor aumentado das aminotransferases. - Assintomático: * Indivíduo exposto a uma fonte de infecção bem documentada (hemodilise, acidente ocupacional, transfusão de sangue ou hemoderivados, procedimentos cirúrgicos/odontológicos/colocação de "piercing"/tatuagem com material contaminado, uso de drogas com compartilhamento de instrumentos). * Comunicante de caso confirmado de hepatite, independente da forma clínica e evolutiva do caso índice. * Indivíduo com alteração de aminotransferases igual ou superior a três vezes o valor máximo normal destas enzimas.	
<b>Suspeito com marcador sorológico reagente:</b> - Doador de sangue: * Indivíduo assintomático doador de sangue, com um ou mais marcadores reagentes de hepatite B e C. - Indivíduo assintomático com marcador reagente para hepatite viral A, B, C, D ou E.	
<b>Dados Gerais</b>	1 Tipo de Notificação <span style="float: right;">2 - Individual</span> 2 Agravado/ença <span style="font-size: 1.2em; font-weight: bold;">HEPATITES VIRAIS</span> <span style="float: right;">3 Data de Notificação</span> <span style="float: right;">Código (CID10)</span> <span style="float: right;">B 19</span> 4 UF <span style="float: right;">5 Município de Notificação</span> <span style="float: right;">Código (IBGE)</span> 6 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora) <span style="float: right;">Código</span> <span style="float: right;">7 Data dos Primeiros Sintomas</span>
<b>Notificação Individual</b>	8 Nome do Paciente <span style="float: right;">9 Data de Nascimento</span> 10 (ou) Idade <span style="float: right;">11 Sexo M - Masculino <input type="checkbox"/> F - Feminino <input type="checkbox"/> 12 Gestante <input type="checkbox"/> 13 Raça/Cor <input type="checkbox"/></span> <span style="float: right;">1 - Não</span> <span style="float: right;">2 - Sim</span> <span style="float: right;">3 - Não se aplica</span> 14 Escolaridade <span style="float: right;">15 Número do Cartão SUS</span> <span style="float: right;">16 Nome da mãe</span> <span style="float: right;">1 - Analfabeto</span> <span style="float: right;">2 - 1ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau)</span> <span style="float: right;">3 - 2ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau)</span> <span style="float: right;">4 - 3ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau)</span> <span style="float: right;">5 - Ensino fundamental completo (antigo primário ou 1º grau)</span> <span style="float: right;">6 - Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau)</span> <span style="float: right;">7 - Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau)</span> <span style="float: right;">8 - Educação superior incompleta</span> <span style="float: right;">9 - Educação superior completa</span> <span style="float: right;">10 - Não se aplica</span>
<b>Dados de Residência</b>	17 UF <span style="float: right;">18 Município de Residência</span> <span style="float: right;">Código (IBGE)</span> <span style="float: right;">19 Distrito</span> 20 Bairro <span style="float: right;">21 Logradouro (rua, avenida,...)</span> <span style="float: right;">Código</span> 22 Número <span style="float: right;">23 Complemento (apto., casa,...)</span> <span style="float: right;">24 Geo campo 1</span> 25 Geo campo 2 <span style="float: right;">26 Ponto de Referência</span> <span style="float: right;">27 CEP</span> 28 (DDD) Telefone <span style="float: right;">29 Zona</span> <span style="float: right;">30 País (se residente fora do Brasil)</span> <span style="float: right;">1 - Urbana</span> <span style="float: right;">2 - Rural</span> <span style="float: right;">3 - Periurbana</span> <span style="float: right;">4 - Ignorado</span>
<b>Dados Complementares do Caso</b>	
<b>Antecedentes Epidemiológicos</b>	31 Data da Investigação <span style="float: right;">32 Ocupação</span> 33 Suspeita de: <input type="checkbox"/> 34 Tomou vacina para: <input type="checkbox"/> Hepatite A <input type="checkbox"/> Hepatite B <span style="float: right;">1 - Hepatite A</span> <span style="float: right;">2 - Hepatite B/C</span> <span style="float: right;">3 - Não especificada</span> <span style="float: right;">4 - Completa</span> <span style="float: right;">5 - Incompleta</span> <span style="float: right;">6 - Não vacinado</span> <span style="float: right;">7 - Ignorado</span> 35 Institucionalizado em <input type="checkbox"/> <span style="float: right;">1 - Creche</span> <span style="float: right;">2 - Escola</span> <span style="float: right;">3 - Asilo</span> <span style="float: right;">4 - Empresa</span> <span style="float: right;">5 - Penitenciária</span> <span style="float: right;">6 - Hospital/Clínica</span> <span style="float: right;">7 - Outras</span> <span style="float: right;">8 - Não institucionalizado</span> <span style="float: right;">9 - Ignorado</span> 36 Agravos associados <input type="checkbox"/> HIV/AIDS <input type="checkbox"/> Sexual <input type="checkbox"/> Domiciliar (não sexual) <input type="checkbox"/> Ocupacional <span style="float: right;">1 - Sim</span> <span style="float: right;">2 - Não</span> <span style="float: right;">3 - Ignorado</span> <span style="float: right;">4 - Sim, há menos de seis meses</span> <span style="float: right;">5 - Não</span> <span style="float: right;">6 - Sim, há mais de seis meses</span> <span style="float: right;">7 - Ignorado</span>
Hepatites Virais <span style="float: right;">Sinan NET</span> <span style="float: right;">SVB 29/05/2006</span>	

Antecedentes Epidemiológicos

38 O paciente foi submetido ou exposto a

1 - Sim, há menos de seis meses 2 - Sim, há mais de seis meses 3 - Não 9 - Ignorado

Medicamentos injetáveis  Tatuagem/Piercing  Acidente com Material Biológico

Drogas inaláveis ou Crack  Acupuntura  Transfusão de sangue /derivados

Drogas injetáveis  Tratamento Cirúrgico

Água/Alimento contaminado  Tratamento Dentário

Três ou mais parceiros sexuais  Hemodiálise  38 Data do acidente ou transfusão ou transplante

Transplante  Outras

39 Local/ Município de Exposição (para suspeita de Hepatite A - local referenciado no campo 35)  
(para suspeita de Hepatite B/C - local de hemodiálise, transfusão de sangue e derivados, transplante, etc.)

UF	Município de exposição	Local de exposição	Fone

41 Dados dos comunicantes

Nome	Idade D-Dias M-Meses A-Anos	Tipo de contato 1-Não sexual/domiciliar 2-Sexual/domiciliar 3-Sexual/não domiciliar 4-Uso de drogas 5-Outro 9-Ignorado	HBsAg 1-Reagente 2-Não reagente 3-Inconclusivo 4-Não realizado 9-Ignorado	Anti-HBc total 1-Reagente 2-Não reagente 3-Inconclusivo 4-Não realizado 9-Ignorado	Anti-HCV 1-Reagente 2-Não reagente 3-Inconclusivo 4-Não realizado 9-Ignorado	Indicado vacina contra Hepatite B 1-Sim 2-Não 3-Indivíduo já imune 9-Ignorado	Indicado imunoglobulina humana anti hepatite B 1-Sim 2-Não 9-Ignorado

42 Paciente encaminhado de

1- Banco de sangue

2- Centro de Testagem e aconselhamento (CTA)

3- Não se aplica

43 Data da Coleta da Amostra Realizada em Banco de Sangue ou CTA

44 Resultado da Sorologia do Banco de Sangue ou CTA

1-Reagente  HBsAg

2-Não reagente  Anti HBc (Total)

3-Inconclusivo  Anti-HCV

4-Não realizado

9-Ignorado

45 Data da Coleta da Sorologia

46 Resultados Sorológicos/Viroológicos

1 - Reagente/Positivo  Anti-HAV - IgM  Anti-HBs  Anti-HDV - IgM

2 - Não Reagente/Negativo  HBsAg  HBeAg  Anti-HDV - IgM

3 - Inconclusivo  Anti-HBc IgM  Anti-HBe  Anti-HCV

4 - Não Realizado  Anti-HBc (Total)  Anti-HDV Total  HCV-RNA

47 Genótipo para HCV

1-Genótipo 1 4-Genótipo 4 7-Não se aplica

2-Genótipo 2 5-Genótipo 5 9-Ignorado

3-Genótipo 3 6-Genótipo 6

48 Classificação final

1 - Confirmação laboratorial

2 - Confirmação clínico-epidemiológica

3 - Descartado

4 - Causa Sorológica

8 - Inconclusivo

49 Forma Clínica

1 - Hepatite Aguda

2 - Hepatite Crônica/Portador assintomático

3 - Hepatite Fulminante

4 - Inconclusivo

50 Classificação Etiológica

01- Virus A 05- Virus B e C

02- Virus B 07- Virus A e B

03- Virus C 08- Virus A e C

04- Virus B e D 09- Não se aplica

05- Virus E 99- Ignorado

51 Provável Fonte / Mecanismo de Infecção

01-Sexual 05-Acidente de trabalho 08-Tratamento cirúrgico 11-Alimento/água contaminada

02-Transfusional 06-Hemodiálise 09-Tratamento dentário 12-Outros \_\_\_\_\_

03-Uso de drogas 07-Domiciliar 10-Pessoa/pessoa 99- Ignorado

04-Vertical

62 Data do Encerramento

Observações:

Investigador Município/Unidade de Saúde Código da Unid. de Saúde

Nome Função Assinatura

Hepatitis Virais Sinan NET SVS 29/09/2006

## ANEXO 6

### HEPATITES VIRAIS INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO FICHA DE INVESTIGAÇÃO – Sinan NET

**CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO** é aquele cuja ausência de dado impossibilita a inclusão da notificação ou da investigação no Sinan.

**CAMPO ESSENCIAL** é aquele que, apesar de não ser obrigatório, registra dado necessário à investigação do caso ou ao cálculo de indicador epidemiológico ou operacional.

N.º - Anotar o número da notificação atribuído pela unidade de saúde para identificação do caso. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

1. Este campo identifica o tipo de notificação, informação necessária à digitação. Não é necessário preenchê-lo.

2. Nome do agravo/doença ou código correspondente estabelecido pelo SINAN (CID 10) que está sendo notificado. **CAMPO CHAVE.**

3. Anotar a data da notificação: data de preenchimento da ficha de notificação. **CAMPO CHAVE.**

4. Preencher com a sigla da Unidade Federada (UF) que realizou a notificação. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

5. Preencher com o nome completo do município (ou código correspondente segundo cadastro do IBGE) onde está localizada a unidade de saúde (ou outra fonte notificadora) que realizou a notificação. **CAMPO CHAVE.**

6. Preencher com o nome completo (ou código correspondente ao Cadastro Nacional dos Estabelecimentos de Saúde – CNES) da unidade de saúde (ou outra fonte notificadora) que realizou a notificação. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

7. Anotar a data do diagnóstico ou da evidência laboratorial e/ou clínica da doença de acordo com a definição de caso vigente no momento da notificação. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

8. Preencher com o nome completo do paciente (sem abreviações). **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

9. Preencher com a data de nascimento do paciente (dia/mês/ano) de forma completa. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

10. Anotar a idade do paciente somente se a data de nascimento for desconhecida (Ex. 20 dias = 20 D; 3 meses = 3 M; 26 anos = 26 A). Se o paciente não souber informar sua idade, anotar a idade aparente. OBS: Se a data de nascimento não for preenchida, a idade será **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

11. Informar o sexo do paciente (M= masculino, F= feminino e I= ignorado). **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

12. Preencher com a idade gestacional da paciente, quando gestante. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO** quando sexo F = feminino (1= 1º Trimestre, 2= 2º Trimestre, 3= 3º Trimestre, 4= Idade gestacional ignorada, 5= Não, 6= Não se aplica, 9= Ignorado).

13. Preencher com o código correspondente à cor ou raça declarada pela pessoa: (1= Branca, 2= Preta, 3= Amarela (compreendo-se nesta categoria a pessoa que se declarou de raça amarela), 4= Parda (incluindo-se nesta categoria a pessoa que se declarou mulata, cabocla, cafuza, mameluca ou mestiça de preto com pessoa de outra cor ou raça), 5= indígena (considerando-se nesta categoria a pessoa que se declarou indígena ou índia). **CAMPO ESSENCIAL.**

14. Preencher com a série e grau que a pessoa está freqüentando ou freqüentou considerando a última série concluída com aprovação ou grau de instrução do

paciente por ocasião da notificação. (0=Analfabeto; 1= 1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau), 2= 4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau), 3= 5ª a 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau), 4= Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau), 5= Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau), 6= Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau), 7= Educação superior incompleta, 8= Educação superior completa, 9=Ignorado ou 10= Não se aplica).

**CAMPO ESSENCIAL.**

15. Preencher com o número do **CARTÃO ÚNICO** do Sistema Único de Saúde – SUS. Hepatites Virais.

16. Preencher com o nome completo da mãe do paciente (sem abreviações). **CAMPO ESSENCIAL.**

17. Preencher com a sigla da Unidade Federada (UF) de residência do paciente. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO** quando residente no Brasil.

18. Anotar o nome do município (ou código correspondente segundo cadastro do IBGE) da residência do paciente ou do local de ocorrência do surto, se notificação de surto. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO** quando UF for digitada.

19. Anotar o nome do distrito de residência do paciente. **CAMPO ESSENCIAL.**

20. Anotar o nome do bairro (ou código correspondente segundo cadastro do SINAN) de residência do paciente ou do local de ocorrência do surto, se notificação de surto. **CAMPO ESSENCIAL.**

21. Anotar o tipo (avenida, rua, travessa, etc) e nome completo ou código correspondente do logradouro da residência do paciente, se notificação individual ou do local de ocorrência do surto, se notificação de surto. Se o paciente for indígena anotar o nome da aldeia. **CAMPO ESSENCIAL.**

22. Anotar o número do logradouro da residência do paciente, se notificação individual ou do local de ocorrência do surto, se notificação de surto. **CAMPO ESSENCIAL.**

23. Anotar o complemento do logradouro (ex. Bloco B, apto 402, lote 25, casa 14, etc). **CAMPO ESSENCIAL.**

24. Caso esteja sendo utilizado o georreferenciamento, informar o local que foi adotado para o campo Geocampo1 (ex. Se o município esteja usando o Geocampo1 para informar a quadra ou número, nele deve ser informado o número da quadra ou número).

25. Caso esteja usando georreferenciamento, informar o local que foi adotado para o campo Geocampo2.

26. Anotar o ponto de referência para localização da residência do paciente, se notificação individual ou do local de ocorrência do surto, se notificação de surto (perto da padaria do João) **CAMPO ESSENCIAL.**

27. Anotar o código de endereçamento postal do logradouro (avenida, rua, travessa, etc) da residência do paciente, se notificação individual ou do local de ocorrência do surto, se notificação de surto. **CAMPO ESSENCIAL.**

28. Anotar DDD e telefone do paciente, se notificação individual ou do local de ocorrência do surto, se notificação de surto. **CAMPO ESSENCIAL.**

29. Zona de residência do paciente, se notificação individual ou do local de ocorrência do surto, se notificação de surto por ocasião da notificação (Ex. 1= área com características estritamente urbana, 2= área com características estritamente rural, 3= área rural com aglomeração populacional que se assemelha à uma área urbana). **CAMPO ESSENCIAL.**

30. Anotar o nome do país de residência quando o paciente notificado residir em outro país. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

31. Informar a data do início da investigação do caso. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

32. Informar a atividade exercida pelo paciente no setor formal, informal ou autônomo ou sua última atividade exercida quando paciente for desempregado ou aposentado. O ramo de atividade econômica do paciente refere-se às atividades econômicas

desenvolvidas nos processos de produção do setor primário (agricultura e extrativismo); secundário (indústria) ou terciário (serviços e comércio).

33. Informar de qual tipo de hepatite o paciente é suspeito. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

34. Informar se o paciente tem vacinação contra hepatite A e/ou hepatite B com esquema completo, incompleto ou não vacinado. Necessária comprovação no cartão de vacinação. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

35. Informar se paciente é institucionalizado e em que tipo de instituição. Havendo mais de um tipo de instituição considerar o de maior tempo de permanência. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

36. Informar a presença de outros agravos já diagnosticados no paciente em qualquer momento da vida. (1= sim, 2= não ou 9= ignorado). **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

37. Informar se houve contato com paciente portador de HBV ou HBC. Em caso afirmativo assinalar o tipo de contato segundo as opções: sexual, domiciliar (não sexual) ou ocupacional. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

38. Informar se o paciente foi submetido ou exposto a algumas das situações descritas. Inclui-se no item Medicamentos Injetáveis quando o paciente usa ou tenha utilizado medicamentos injetáveis receitado por profissional ou não como energéticos (ex. gluconergan), anabolizantes, anfetaminas, etc. Inclui-se no item Drogas Inaláveis: cocaína inalável. Inclui-se no item Drogas Injetáveis: silicone industrial, cocaína injetável, etc. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO**

39. Se houve acidente com material biológico ou transfusão ou transplante, informar a data de ocorrência. Caso só saiba, com exatidão, o ano de exposição, preencher com 01 de janeiro do ano referido. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

40. Informar o Local/ Município de exposição. Atentar para a observação, caso seja suspeita de hepatite A anotar a UF, município, local /nome e telefone da instituição referenciada no campo 35. Caso seja suspeita de hepatite B/C, anotar a UF, município, local /nome e telefone do local onde paciente faz hemodiálise, recebeu transfusão de sangue/hemoderivados ou recebeu transplante.

41. Informar os dados dos comunicantes: nome, idade, tipo de contato, resultado da sorologia HBsAg (hepatite B), resultado da sorologia Anti-HBc(hepatite B), resultado da sorologia Anti-HCV (hepatite C), indicação da vacina contra hepatite B e indicação de Imunoglobulina humana anti-hepatite B. Este campo orienta as medidas de controle a serem adotadas, portanto, é de preenchimento somente em papel, não sendo digitado no sistema de informação.

42. Informar de onde o paciente foi encaminhado de banco de sangue ou Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA). **CAMPO ESSENCIAL.**

43. Informar a data da coleta da amostra realizada em banco de sangue ou CTA. **CAMPO ESSENCIAL.**

44. Informar o resultado da sorologia do banco de sangue ou CTA. **CAMPO ESSENCIAL.**

45. Informar a data da coleta da sorologia realizada na ocasião da investigação. **CAMPO ESSENCIAL.**

46. Informar os resultados sorológicos/ virológicos para cada exame. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO.**

47. Informar o resultado do exame de genotipagem do vírus da Hepatite C. Preenchimento somente para os casos confirmados de hepatite C.

48. Informar a classificação final do caso:1. Confirmação Laboratorial: caso suspeito de hepatites virais que apresentou resultado sorológico ou virológico positivo ou reagente para hepatite viral. 2. Confirmação clínico-epidemiológica: aplica-se **APENAS PARA CASOS SUSPEITOS DE HEPATITE A** que possuam vínculo epidemiológico com caso confirmado de hepatite A por testes laboratoriais específicos (sorologia Anti-HAVIgM reagente). 3. Descartado: Caso notificado como hepatite viral

que não cumpre os critérios de caso suspeito ou Caso suspeito com diagnóstico confirmado para outra doença ou Caso suspeito com diagnóstico laboratorial negativo (desde que amostras sejam coletadas e transportadas oportuna e adequadamente). 4. Cicatriz Sorológica: Indivíduos com marcadores sorológicos de infecção passada, porém curados no momento da investigação. Hepatite A: Anti-HAVIgG reagente, Hepatite B: Anti-HBc reagente e Anti-HBs reagente, Hepatite C: Anti-HCV reagente e HCV-RNA não detectável e Hepatite D: Anti- HBc reagente, Anti-HBs reagente e Anti-delta reagente. 8. Inconclusivo: casos que atendem aos critérios de suspeito, dos quais não foram coletadas e/ou transportadas amostras oportunas ou adequadas, ou não foi possível a realização dos testes para os marcadores sorológicos específicos. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO**, quando o campo 52 estiver preenchido.

49. Informar a forma clínica segundo as opções de 1 a 4: 1- Hepatite Aguda: Casos suspeito de hepatite A que apresente Anti-HAVIgM positivo; Caso suspeito de hepatite B que apresente HBsAg positivo, Anti-HBc (total) positivo e Anti-HBc IgM positivo; Caso de Hepatite C que tenha sido comprovada soroconversão recente (menos de 6 meses) de Anti-HCV negativo para Anti-HCV positivo (ex. Acidente Perfuro cortante com material biológico contaminado, Doador regular de sangue com soroconversão recente, Pacientes de Hemodiálise com soroconversão recente, etc. Hepatite D: HBsAg positivo, Anti- HBc positivo, Anti-HBc IgM positivo e Anti-delta reagente. 2- Hepatite Crônica/Portador Assintomático usar **APENAS PARA HEPATITE B, C ou D**. Hepatite B: HBsAg positivo e Anti-HBc (total) positivo e Anti-HBc IgM negativo; Hepatite C: Anti- HCV reagente e HCV-RNA detectável/positivo; Hepatite D: HBsAg positivo, Anti-HBc positivo, Anti-HBc IgM negativo e Anti-delta reagente. 3- Hepatite Fulminante: todos os quadros de encefalopatas hepáticas que surgem dentro das primeiras oito semanas desde o início da icterícia. 4- Inconclusivo: preencher somente para casos nos quais não se conseguiu concluir nenhuma das formas clínicas citadas nos itens anteriores. Preenchido automaticamente nos casos com classificação final 4- Cicatriz Sorológica. **CAMPO ESSENCIAL**.

50. Informar a classificação etiológica de acordo com o campo 46. **CAMPO ESSENCIAL**.

51. Informar a provável fonte/ mecanismo da infecção. **CAMPO ESSENCIAL** A opção 10-Pessoa/Pessoa e a 11-Alimento/água contaminada aplica-se somente para casos de hepatite A confirmado. Esse campo não deverá ser preenchido se o campo 48- Classificação final for Descartado ou Inconclusivo (pular para campo 52).

52. Informar a data de encerramento da investigação do caso. **CAMPO DE PREENCHIMENTO OBRIGATÓRIO**, quando o campo 48 estiver preenchido.

Informações complementares e observações adicionais.

Informar o nome do município/unidade de saúde responsável por esta investigação

Informar o código da unidade de saúde responsável por esta investigação.

Informar o nome completo do responsável por esta investigação. ex: Mário José da silva Informar a função do responsável por esta investigação. ex: enfermeiro Registrar a assinatura do responsável por esta investigação.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE 1

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

#### **Pesquisa: Caracterização genotípica do vírus da hepatite B no Estado de Roraima.**

Declaro que fui satisfatoriamente esclarecido pelas pesquisadoras Fabiana Granja e Jacqueline Barros, em relação a minha participação no projeto de pesquisa intitulado “Caracterização genotípica do vírus da hepatite B no Estado de Roraima”, estou ciente que o estudo deverá esclarecer questões sobre a doença, tais como: (1) quem são as pessoas que estão adoecendo, quando adoeceram e em que local; (2) Como as pessoas estão se contaminando, ou seja, pegando a doença; (3) Determinar qual o tipo de vírus da hepatite B está causando a doença no Estado de Roraima; (4) Correlacionar o tipo de vírus da hepatite B com as principais variáveis clínicas e laboratoriais da doença, assim como a resposta dos indivíduos ao tratamento. Permito à pesquisadora fazer perguntas sobre as condições que vivo e sobre alguns hábitos e comportamentos. Permito que seja coletado sangue da veia, usando agulha e tudo de coleta (material descartável), perfurando-se a pele até alcançar a veia do braço, a fim de colher 5 ml de sangue. Este procedimento pode causar um leve desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada, causada pelo extravasamento de pequena quantidade de sangue (hematoma). Permito que a pesquisadora pesquise em meu prontuário médico dados relativos a resultados de exames clínicos, sorológicos, laboratoriais, de biópsia hepática e tratamento. Estou ciente que o resultado da Genotipagem (tipo de vírus B) será disponibilizado para o médico que me acompanha. O resultado não será passado para outras pessoas e meu nome também não será revelado. Estou ciente e autorizo a realização dos procedimentos acima citados e a utilização dos dados originados destes procedimentos para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras contanto que seja mantidas em sigilo informações relacionadas à minha privacidade, bem como garantido meu direito de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de dúvidas acerca dos procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, além de que se cumpra a legislação em caso de dano. É possível retirar o meu consentimento a qualquer hora e deixar de participar do estudo sem que isso traga qualquer prejuízo à minha pessoa. Desta forma, concordo voluntariamente e dou meu consentimento, sem ter sido submetido a qualquer tipo de pressão ou coação. Caso eu não queira participar ou se quiser desistir em qualquer momento, isso não vai implicar em nenhum prejuízo de qualquer natureza para minha pessoa ou de meus familiares. Eu concordo em participar deste estudo, assinando esse termo em duas vias, ficando uma cópia comigo.

Eu, \_\_\_\_\_, após ter lido e entendido as informações e esclarecido todas as minhas dúvidas referentes a este estudo com Jacqueline Barros e a Profa. Dr<sup>a</sup> Fabiana Granja, CONCORDO VOLUNTARIAMENTE, participar do mesmo.

Boa Vista/RR, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Nome e assinatura (do pesquisado ou responsável) ou impressão datiloscópica

Eu, **Jacqueline Barros**, declaro que forneci todas as informações referentes ao estudo ao paciente.

Para maiores esclarecimentos, entrar em contato com os pesquisadores nos endereços abaixo relacionados:

Nome: Jacqueline Barros

Endereço: Av. Brigadeiro Eduardo Gomes, nº 521

Bairro: Mecejana

Cidade: Boa Vista

UF:

RR

Fones: (95) 3623-2757/ (95) 8113-8023

e-mail: barros.jacqueline@gmail.com

## APÊNDICE 2

<b>CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DO VÍRUS DA HEPATITE B NO ESTADO DE RORAIMA QUESTIONÁRIO</b>	
<b>DADOS DO INDIVÍDUO</b>	
1. Data da entrevista  ____/____/____	2. Número do indivíduo para a coleta de sangue (Colar etiqueta)  <div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 20px;"></div>
3. Nome do Indivíduo  _____	4. Sexo 1. Masculino <input type="checkbox"/> 2. Feminino <input type="checkbox"/>
5. Qual a sua idade?  <div style="display: flex; align-items: center;"> <input style="width: 30px; height: 20px; margin-right: 10px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <span style="margin-left: 10px;">Anos</span> </div>	6. Qual a data do seu nascimento?  ____/____/____
7. Qual seu estado civil? 1. Solteiro 2. Casado 3. Amigado 4. Divorciado 5. Viúvo	8. Escolaridade 0. Analfabeto 1. 1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) 2. 4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau) 3. 5ª à 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau) <input style="width: 40px; height: 20px; margin-left: 10px;" type="checkbox"/> 4. Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) 5. Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau ) 6. Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau ) 7. Educação superior incompleta 8. Educação superior completa 9. Pos graduação 9. Ignorado 10. Não se aplica
9. Raça/cor 1. Branca 2. Preta 3. Amarela 4. Parda <input style="width: 40px; height: 20px; margin-left: 10px;" type="checkbox"/> 5. Indígena 6. outros _____	10. Qual sua Profissão?  _____  Área da saúde? _____ onde? _____
11. Qual cidade de Nascimento? _____ 12. Qual cidade onde reside? Quanto tempo? _____ 13. Qual cidade nasceu seu pai? _____ 14. Qual cidade nasceu sua mãe? _____	<b>DADOS DE RESIDÊNCIA</b>
19. Rua: _____ 20. Nº: _____ 21. Bairro: _____ 22. Cidade: _____ 23. CEP: _____ 24. Telefone _____	25. Zona 1. Urbana <input type="checkbox"/> 2. Rural 3. Periurbana
<b>HISTÓRICO DE CONTATO</b>	
26. O indivíduo foi submetido ou exposto a 1. Sim 2. Não 3. Não sei ou ignorado Obs: Se sim, informar o ano.	
<input type="checkbox"/> Medicamentos Injetáveis Ano: _____ <input type="checkbox"/> Drogas inaláveis ou Crack Ano: _____ <input type="checkbox"/> Drogas injetáveis Ano: _____ <input type="checkbox"/> Relação Sexual sem camisinha Ano: _____ <input type="checkbox"/> Transplante Ano: _____ <input type="checkbox"/> Tatuagem/Piercing Ano: _____ <input type="checkbox"/> Acupuntura Ano: _____	<input type="checkbox"/> Hemodiálise Ano: _____ <input type="checkbox"/> Acidente com Material Biológico Ano: _____ <input type="checkbox"/> Transfusão de sangue /derivados Ano: _____ <input type="checkbox"/> Tratamento Cirúrgico Ano: _____ <input type="checkbox"/> Tratamento Dentário Ano: _____ <input type="checkbox"/> Compartilhamento de escova de dente/Lâmina de Barbear/Material de Manicure/Pedicur Ano: _____
<b>HISTORICO DE CONTATO</b>	

<p>27. Quantos parceiros(as) sexuais você teve nos últimos 12 meses?</p> <p>_____</p>	<p>28. Você sabe se algum de seus (suas) parceiros (as) teve alguma doença venérea?</p> <p>1. Sim 2. Não 8. Não informou <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica <input type="checkbox"/></p>	<p>29. Você já manteve relações sexuais com parceiro (a) sabidamente portador de Hepatite ?</p> <p>1. Sim 2. Não <input type="checkbox"/> 8. Não informou <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica <input type="checkbox"/></p>	<p>30. Você já teve alguma doença venérea (sífilis, gonorréia) ?</p> <p>1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 8. Não informou <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica <input type="checkbox"/></p>
<p>31. Na sua vida inteira, você já tomou pelo menos 8 drinks (Por drink, eu quero dizer meia cerveja, um copo de vinho ou uma dose de destilado (pinga, whisky, etc.) de qualquer tipo de bebida alcoólica)?</p> <p>1. Sim 2. Não (Siga para a questão 34) <input type="checkbox"/></p>		<p>32. Já houve algum período na sua vida em que em um ano você tomou pelo menos 8 drinks contendo álcool ?</p> <p>1. Sim 2. Não (Siga para a questão 34) <input type="checkbox"/></p>	
<p>33. Durante os últimos 30 dias, você bebeu pelo menos uma dose de alguma bebida alcoólica?</p> <p>1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não (Siga para a questão 34) <input type="checkbox"/></p>		<p>35. Nos dias em que você bebeu nos últimos 3 meses quantos drinks você geralmente tomou num único dia ? Por drink, eu quero dizer meia cerveja, um copo de vinho ou uma dose de destilado (pinga, whisky, etc.) ?</p> <p>99. Não se aplica _____</p>	
<p>34. Durante os últimos 3 meses, com que frequência você geralmente tomou cerveja, vinho, pinga ou qualquer outro tipo de bebida alcoólica?</p> <p>1. Todos os dias 2. Quase todos os dias 3. 3 a 4 dias por semana 4. 1 a 2 dias por semana <input type="checkbox"/> 5. 2 a 3 dias por mês 6. uma vez por mês 7. Menos de uma vez por mês</p>		<p>36. Você está atualmente em tratamento para um problema com o álcool (e droga)?</p> <p>1. Sim 2. Não <input type="checkbox"/></p>	
<p>37. Tem hábito de fumar</p> <p>1. Sim (Siga para questão 38) 2. Não (Siga para questão 39)</p> <p><input type="checkbox"/></p>	<p>38. Quantos Cigarros por dia? _____ Fuma há Quantos anos? _____</p>	<p>39. Já fumou alguma vez na vida?</p> <p>1. Sim . Quando tempo parou de fumar? _____ 2. Não</p>	
<p>40. A classificação quanto ao uso de bebida alcoólica (Preenchido pelo Pesquisador Responsável)</p> <p>1. Abstinência 2. Bebedor leve (Para homens, o produto da questão 34 pela 35, menor que 21 e mulher menor de 14) 3. Bebedor pesado (Para homens, o produto da questão 34 pela 35, maior ou igual a 21 e mulher maior ou igual a 14) 4. Dependente do álcool (Caso tenha respondido sim na questão 36). Dependente <input type="checkbox"/></p>			
<p><b>DADOS DA DOENÇA (HEPATITE B)</b></p>			
<p>41. Como e quando ficou sabendo que estava infectado pelo vírus B?</p> <p>1. Apresentou sintomas e procurou o serviço de saúde <input type="checkbox"/> 2. Banco de Sangue <input type="checkbox"/> 3. Triagem Sorológica <input type="checkbox"/> 4. Campanha <input type="checkbox"/> 5. Outro _____</p> <p>Ano: _____</p>	<p>42. Que sintomas apresentou?</p> <p>1. Sim 2. Não</p> <p><input type="checkbox"/> Assintomático <input type="checkbox"/> Astenia <input type="checkbox"/> Icterícia <input type="checkbox"/> Hemorragia digestiva <input type="checkbox"/> Ascite <input type="checkbox"/> Dor no Hipocôndrio <input type="checkbox"/> Encefalopatia</p>	<p>43. Possui contato com portadores de Hepatite B ? 1. Sim 2. Não Obs: Se sim, informar quantos</p> <p>SexualNº _____ <input type="checkbox"/> Não Sexual (Domiciliar)Nº _____ <input type="checkbox"/> NacionalNº _____</p>	
<p>44. Trata ou já tratou de Hepatite B?</p> <p>1. Sim 2. Não <input type="checkbox"/></p>	<p>46. Uso de Medicamentos 1. Sim 2. Não (Dados do Prontuário)</p> <p><input type="checkbox"/> Interferon-alfa. Período: ___/___/___ a ___/___/___ Interferon-alfa peguilado. Período: ___/___/___ a ___/___/___ <input type="checkbox"/> Lamivudina. Período: ___/___/___ a ___/___/___ <input type="checkbox"/> Tenofovir. Período: ___/___/___ a ___/___/___ <input type="checkbox"/> Entecavir. Período: ___/___/___ a ___/___/___ <input type="checkbox"/> Adefovir. Período: ___/___/___ a ___/___/___</p>		
<p>45. Exame Físico (Dados do Prontuário)</p> <p>Peso: _____</p> <p>Altura: _____</p>			

<p>47. Presença de? 1. Sim 2. Não (Dados do Prontuário)</p> <p><input type="checkbox"/> Ascite Varizes esôfago na endoscopia</p> <p><input type="checkbox"/> Aranhas vasculares <input type="checkbox"/> Encefalopatia hepática</p>	<p>48. Realizou Biópsia Hepática?</p> <p>1. Sim 2. Não <input type="checkbox"/></p> <p>Data: ____/____/____</p>	<p>49. Resultado da Biópsia Hepática (Anexar Cópia)</p> <p>Grau Alteração estrutura: _____          Grau Infiltrado inflamatório portal-septal: _____          Grau Atividade periportal: _____          Grau atividade parenquimatosa: _____</p>
---	---	---

**EXAMES LABORATORIAIS (DADOS DO PRONTUÁRIO)**

Data					
Hb					
VCM					
Leucócitos					
Plaquetas					
RNI					
AST (TGO)					
ALT (TGP)					
BT/BD					
FA					
GGT					
Creatinina					
Albumina					
Alfa-feto					
Data					
Hb					
VCM					
Leucócitos					
Plaquetas					
RNI					
AST (TGO)					
ALT (TGP)					
BT/BD					
FA					
GGT					
Creatinina					
Albumina					
Alfa-feto					

**EXAMES LABORATORIAIS (DADOS DO PRONTUÁRIO)**

Data					
HBsAg					
Anti-HBs					
Anti-HBcIgM					
Anti-HBcIgG					
AgHBe					
Anti-HCV					
RNA VHC					
Anti-HIV					
Genótipo HBV					
PCR quanti VHB					

### APÊNDICE 3

Preenchimento de campos do SINAN, Roraima, 2011 a 2013.

Raça	2011		2012		2013		Total
	n	%	n	%	n	%	n
Ign/Branco	184	6,06	163	5,15	79	3,09	426
Branca	657	21,63	645	20,39	335	13,09	1637
Preta	169	5,56	194	6,13	99	3,87	462
Amarela	24	0,79	18	0,57	3	0,12	45
Parda	1817	59,81	2023	63,96	1872	73,13	5712
Indígena	187	6,16	120	3,79	172	6,72	479
Total	3038	100	3163	100	2560	100	8761

Contato Domiciliar (não sexual)	2011		2012		2013		Total
	n	%	n	%	n	%	n
Ign/Branco	1138	37,46	1365	43,16	1070	41,8	3573
Sim, há menos de 6 meses	71	2,34	68	2,15	62	2,42	201
Sim, há mais de seis meses	83	2,73	110	3,48	87	3,4	280
Não	1746	57,47	1620	51,22	1341	52,38	4707
Total	3038	100	3163	100	2560	100	8761
Sexual	2011		2012		2013		Total
	n	%	n	%	n	%	n
Ign/Branco	1233	40,59	1420	44,89	1112	43,44	3765
Sim, há menos de 6 meses	30	0,99	33	1,04	23	0,9	86
Sim, há mais de seis meses	47	1,55	52	1,64	58	2,27	157
Não	1728	56,88	1658	52,42	1367	53,4	4753
Total	3038	100	3163	100	2560	100	8761

Tatuagem	2011		2012		2013		Total
	n	%	n	%	n	%	n
Ign/Branco	441	14,52	620	19,6	594	23,2	1655
Sim, há menos de 6 meses	46	1,51	64	2,02	42	1,64	152
Sim, há mais de seis meses	145	4,77	126	3,98	107	4,18	378
Não	2406	79,2	2353	74,39	1817	70,98	6576
Total	3038	100	3163	100	2560	100	8761

Acid.Mat.Biológico	2011		2012		2013		Total
	n	%	n	%	n	%	n
Ign/Branco	460	15,14	654	20,68	605	23,63	1719
Sim, há menos de 6 meses	24	0,79	21	0,66	9	0,35	54
Sim, há mais de seis meses	14	0,46	12	0,38	13	0,51	39
Não	2540	83,61	2476	78,28	1933	75,51	6949
Total	3038	100	3163	100	2560	100	8761

Vacina Hep B	2011		2012		2013		Total
	n	%	n	%	n	%	n
Ign/Branco	1234	40,62	1215	38,41	899	35,12	3348
Completa	941	30,97	1184	37,43	883	34,49	3008
Incompleta	343	11,29	297	9,39	261	10,2	901
Não Vacinado	520	17,12	467	14,76	517	20,2	1504
Total	3038	100	3163	100	2560	100	8761

Fonte: SESAU, CGVE, DVS, NCVH, SINAN-NET, 03/06/2013.

### APÊNDICE 4

### Ocupações relatadas pelos participantes do Estudo

Profissão	N <sup>a</sup>	%	X <sup>2</sup>	P
Agente de Portaria	1/31	1.52%	8.134	0.945
Aposentado	2/31	3.03%		
Atendente de Farmácia	1/31	1.52%		
Autônomo	4/31	6.06%		
Auxiliar de Cozinha	1/31	1.52%		
Auxiliar de Enfermagem	1/31	1.52%		
Desempregado	2/31	3.03%		
Doméstica	1/31	1.52%		
Dona de casa	1/31	1.52%		
Eletricista	1/31	1.52%		
Estudante	2/31	3.03%		
Funcionário Público	3/31	4.55%		
Merendeira	1/31	1.52%		
Motorista	1/31	1.52%		
Pescador	3/31	4.55%		
Professora	2/31	3.03%		
Técnica em enfermagem	2/31	3.03%		
Técnico em Agropecuária	1/31	1.52%		
Vigia	1/31	1.52%		
Ignorado	35	53.03%		
<b>Total</b>	<b>66</b>	<b>100.00%</b>		

<sup>a</sup>O denominador reflete o número de respostas válidas

## APÊNDICE 5

Cálculo da Taxa de participantes por população residente nos municípios.

<b>Município de Residência</b>	<b>Número de Participantes</b>	<b>População<sup>a</sup></b>	<b>Taxa</b>
Bonfim	0	11188	0
Normandia	0	9364	0
Pacaraima	0	10953	0
Uiramutã	0	8764	0
Rorainópolis	1	25319	3,95
Alto Alegre	1	16228	6,16
Amajari	1	9936	10,06
Caracarái	2	19019	10,52
Cantá	2	14707	13,6
São Luiz	1	6968	14,35
Boa Vista	48	296959	16,16
Mucajaí	3	15328	19,57
Iracema	2	9288	21,53
Caroebe	2	8480	23,58
São João da Baliza	3	7023	42,72
<b>Total</b>	<b>66</b>	<b>469524</b>	<b>14,06</b>

<sup>a</sup>IBGE - Estimativas populacionais enviadas para o TCU, estratificadas por idade e sexo pelo MS/SGEP/Datasus.