

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

RENATA DULTRA TORRES MOURA

**QUANTIFICAÇÃO DO HBsAg: UMA NOVA ALTERNATIVA
PARA O MONITORAMENTO DA HEPATITE B CRÔNICA?**

**ARACAJU
2014**

RENATA DULTRA TORRES MOURA

**QUANTIFICAÇÃO DO HBsAg: UMA NOVA ALTERNATIVA
PARA O MONITORAMENTO DA HEPATITE B CRÔNICA?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Alex Vianey Callado França

**ARACAJU
2014**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

M929q Moura, Renata Dultra Torres
Quantificação do HBsAg : uma nova alternativa para o
monitoramento da hepatite B crônica? / Renata Dultra Torres
Moura, orientador, Alex Vianey Callado França. -- Aracaju, 2014.
000 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Núcleo de
pós-Graduação em Medicina, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e
Pesquisa, Universidade Federal de Sergipe, 2014.

1. Hepatite B. 2. Antígenos de superfície da hepatite B. 3.
Fígado - Doenças. 4. Hepatologia. I. França, Alex Vianey Callado,
orient., II. Título.

CDU 616.36-002

RENATA DULTRA TORRES MOURA

**QUANTIFICAÇÃO DO HBsAg: UMA NOVA ALTERNATIVA
PARA O MONITORAMENTO DA HEPATITE B CRÔNICA?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação
em Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Sergipe como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

Orientador: Prof. Dr. Alex Vianey Callado França

1º Examinador:

2º Examinador:

PARECER

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Leônia e Francisco, primeiros mestres da minha formação humana, pelo apoio e incentivo incondicional em todas as fases da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida, pela família, pelos amigos, pela saúde e por ser tão generoso comigo;

Aos meus pais, Leônia e Francisco, pela torcida e apoio incondicional em todas as fases da minha vida;

À minha avó Ogga (in memorian), uma luz muito presente em minha vida;

Aos meus avós queridos, Ana (in memorian) e Arlindo (in memorian) que perdi durante esta jornada do mestrado;

Ao Prof. Dr. Alex Vianey, pelos ensinamentos, paciência, por ter acreditado, incentivado e fornecido a base necessária para o desenvolvimento deste trabalho. Muito obrigada por tudo!

Ao meu marido Caio Moura, pelo apoio, carinho e compreensão nos momentos de ausência. Obrigada por ter respeitado a minha vontade de realizar mais esta conquista e por entender as dificuldades desta etapa que lhes roubava tempo de convívio. Com você os obstáculos da minha vida são mais fáceis de serem superados!

Aos meus filhos Lucas e Davi, fontes de alegria e amor que fazem de mim uma pessoa muito mais feliz e me inspiram a fazer esforços na direção de um futuro melhor;

Aos meus irmãos Rogério e Mariana, cunhada Iris, tios, primos, sobrinhos, D. Zorilda e amigos que hoje se alegram com mais esta conquista;

As secretárias do Núcleo de Hepatites Virais do HU, Eliana e Fabiana, pela disponibilidade e colaboração;

Ao Dr. Maurício Pacheco, pelas dicas, disponibilidade da ajuda e colaboração na minha qualificação;

A Dra Ângela e ao Dr Hugo Leite pela grande contribuição que deram na minha qualificação;

A minha chefe e amiga Sandra Cavalcante (LACEN-SE) e a minha chefe Isabel (COVISA) pela torcida, ajuda, compreensão e incentivo constante;

A toda equipe do Laboratório de Biologia Molecular do LACEN-SE pelo apoio incondicional no momento que mais precisei. Principalmente a Célia, com sua ajuda e dicas valiosas e a Lili e Cliomar, pelo apoio e incentivo;

A Rachel, minha companheira de mestrado, sempre disponível p/ ajudar;

A Danuza, superintendente do LACEN-SE, pelo grande apoio;

Aos pacientes, sem os quais este trabalho seria impossível;

A toda a minha família e amigos que hoje se alegram com mais esta conquista.

RESUMO

QUANTIFICAÇÃO DO HBSAG: UMA NOVA ALTERNATIVA PARA O MONITORAMENTO DA HEPATITE B CRÔNICA?

Embora o nível de HBsAg seja determinado apenas qualitativamente na prática clínica rotineira, dados recentes sugerem que a sua quantificação pode auxiliar ou substituir a carga viral do VHB DNA no monitoramento da replicação do VHB, o que seria uma alternativa mais fácil e econômica. Desta forma, objetivou-se com este estudo, correlacionar os níveis de HBsAg com a carga viral do VHB DNA e com outros achados laboratoriais (HBeAg, ALT e AST) e histológicos (atividade e fibrose) em pacientes com hepatite B Crônica. Foi realizado um estudo observacional, prospectivo, transversal, com 128 pacientes portadores de hepatite B crônica, com idade igual ou superior a 18 anos, oriundos do Serviço de Hepatologia do Hospital Universitário de Sergipe. As variáveis categóricas foram apresentadas através de frequências e percentuais com intervalo de 95% quando pertinente. Para a análise das correlações utilizou-se o teste de Spearman. Considerou-se que as correlações possuíam significância estatística quando $p \leq 0,05$. A correlação global entre a carga viral do VHB e o HBsAg quantitativo foi fraca ($\rho=0,197$; $p=0,026$); esta mesma correlação também foi fraca e sem significância estatística nos pacientes HBeAg positivos ($\rho=0,233$; $p=0,263$). Porém, foi encontrada uma forte correlação entre o HBsAg e o VHB DNA > 20.000 , nos pacientes HBeAg positivos. Foi observada uma correlação regular entre o HBsAg e o VHB DNA nos pacientes que não estavam em tratamento ($\rho=0,394$; $p<0,001$) e não existiu correlação significativa nos pacientes em tratamento ($\rho=-0,061$; $p=0,673$). Não se observou associação estatisticamente significativa entre os níveis de HBsAg e HBeAg, nem quando se considerou apenas os HBeAg positivos ($\rho=0,121$; $p=0,565$) e nem apenas os HBeAg negativos ($\rho=-0,067$; $p=0,501$). A correlação entre o VHB DNA e o HBeAg positivo foi regular ($\rho=0,444$; $p=0,026$). Não foi verificada correlação estatística entre os níveis de HBsAg e as aminotransferases (ALT e AST). A distribuição dos valores de HBsAg não diferiu entre os graus de atividade ($p=0,17$) e fibrose ($p=0,20$). Conclusão: Os nossos resultados mostram que, de uma forma geral, a correlação entre os níveis de HBsAg e VHB DNA existe, mas é fraca. E sugerem que o HBsAg reflete melhor o VHB DNA na fase replicativa inicial da hepatite B crônica, quando os pacientes possuem HBeAg reagente e altos títulos de carga viral do VHB. Demonstram também que não existe associação do HBsAg com aminotransferases nem com o grau de atividade e fibrose hepática.

Descritores: Hepatite B crônica, HBsAg quantitativo, VHB DNA.

ABSTRACT

QUANTIFICATION OF HBSAG: A NEW ALTERNATIVE FOR MONITORING OF CHRONIC HEPATITIS B?

Although the level of HBsAg is determined only qualitatively in routine clinical practice, recent data suggest that its quantification can assist or replace the viral load of HBV DNA in monitoring of HBV replication, which would be an easier and more economical alternative. Thus, the aim of this study was to correlate the levels of HBsAg with viral load of HBV DNA and other laboratory (HBeAg, ALT and AST) and histological (activity and fibrosis) findings in patients with chronic hepatitis B. A *prospective, observational, cross-sectional study* was performed on 128 patients with chronic hepatitis B, aged over 18 years, from the Hepatology Service of the University Hospital of Sergipe. Categorical variables were presented as frequencies and percentages with range of 95% where applicable. For the correlation analysis we used the Spearman test. It was considered that the correlations had statistical significance when $\rho \leq 0.05$. The overall correlation between HBV viral load and quantitative HBsAg was weak ($\rho = 0.197$, $\rho = 0.026$), and this same correlation was also weak and not statistically significant in HBeAg-positive patients ($\rho = 0.233$, $\rho = 0.263$). However, a strong correlation between HBsAg and HBV DNA $>20,000$ in HBeAg-positive patients was found. A regular correlation between HBsAg and HBV DNA in patients who were not on treatment ($\rho = 0.394$; $\rho < 0.001$) was found and there was no significant correlation in patients receiving treatment ($\rho = -0.061$; $\rho = 0.673$). No statistically significant association was observed between the levels of HBsAg and HBeAg, even when considering only the positive HBeAg ($\rho = 0.121$; $\rho = 0.565$) and even not only the negative HBeAg ($\rho = -0.067$; $\rho = 0.501$). The correlation between HBV DNA and HBeAg positive was fair ($\rho = 0.444$; $\rho = 0.026$). There was no statistical correlation between the levels of HBsAg and aminotransferases (ALT and AST). The distribution of HBsAg values did not differ between the degree of activity ($\rho = 0.17$) and fibrosis ($\rho = 0.20$). Conclusion: Our results show that, in general, the correlation between levels of HBsAg and HBV DNA exists, but it proved to be weak. Also, they suggest that HBsAg better reflects HBV DNA in the initial replicative phase of chronic hepatitis B, when patients present HBV reagent and high titers of HBeAg viral load. They also show that there is no association of HBsAg with aminotransferases or with the degree of activity and liver fibrosis.

Keywords: Chronic hepatitis B, quantitative HBsAg, HBV DNA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática da estrutura do VHB.....	17
Figura 2	Microscopia eletrônica dos três tipos de partículas do VHB no soro.....	18
Figura 3	Representação esquemática do genoma do VHB com as quatro cadeias de leituras abertas (ORF) ou genes pré S/S, pré C/C, gene P e gene X	18
Figura 4	Ciclo de vida do vírus da hepatite B (VHB).....	23
Figura 5	Vias de produção do HBsAg durante a infecção pelo VHB.....	24
Figura 6	Curso sorológico típico de recuperação da infecção aguda pelo VHB.....	28
Figura 7	Curso sorológico típico da progressão da infecção crônica pelo VHB.....	28
Figura 8	Representação esquemática da história natural da infecção crônica pelo VHB.....	31
Figura 9	Equipamento Architect Abbott.....	36
Figura 10	Cobas® AmpliPrep Roche Diagnostics e Cobas® TaqMan 48.....	37

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Regiões ou genes do VHB com seus respectivos antígenos e anticorpos.....	19
Quadro 2	Principais padrões sorológicos encontrados na infecção pelo VHB.....	27
Quadro 3	Distribuição das causas de exclusão entre os primeiros 136 prováveis pacientes do estudo.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características demográficas, epidemiológicas, clínicas e virológicas dos 128 pacientes portadores de hepatite B crônica acompanhados no Serviço de Hepatologia do HU/SE – Aracaju 2012.....	41
Tabela 2	Comparação da idade e perfil laboratorial dos pacientes portadores de hepatite B crônica de acordo com o status do HBeAg. Aracaju-2012.....	43
Tabela 3	Comparação entre os exames laboratoriais dos pacientes portadores de hepatite B crônica de acordo com o status do HBeAg em pacientes com hepatite B. Valores expressos em mediana. Aracaju-2012.....	44
Tabela 4	Relação entre os níveis de HBsAg e grau de atividade e fibrose.....	47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Correlação global entre os níveis de HBsAg e VHB DNA.....	45
Gráfico 2	Correlação entre os níveis de HBsAg e VHB DNA >20.000UI/ml nos pacientes HBeAg positivos.....	45
Gráfico 3	Correlação entre os níveis de HBsAg e VHB DNA nos pacientes que não estavam em tratamento.....	46
Gráfico 4	Correlação entre VHB DNA e HBeAg positivos.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

Anti HBc	Anticorpo contra o antígeno core do Vírus da Hepatite B
Anti-HBe	Anticorpo contra o antígeno “e” do Vírus da Hepatite B
Anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno de superfície do Vírus da Hepatite B
Anti-HCV	Anticorpo contra o Vírus da Hepatite C
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
cccDNA	Covalently closed circular DNA
CDC	Centers for Disease Control
CHC	Carcinoma Hepatocelular
cols.	Colaboradores
dNTPs	desoxinucleotídeos trifosfatos
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
et al.	e outros
HBcAg	Antígeno core do Vírus da Hepatite B
HBeAg	Antígeno “e” do Vírus da Hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície do Vírus da Hepatite B
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IC	Intervalo de Confiança
LACEN-SE	Laboratório Central de Saúde Pública de Sergipe
log	logaritmo
LSN	Limite Superior da Normalidade
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Polymerase Chain Reaction
PQ	Padrão de quantificação
RNA	Ácido Ribonucléico
RLUs	Unidades relativas de luz
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
VHB	Vírus da Hepatite B
VHC	Vírus da Hepatite C

LISTA DE SÍMBOLOS

$<$	menor que
$>$	maior que
$\leq$	menor ou igual
$\geq$	maior ou igual
ml	mililitro
μl	microlitro
$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
S/CO	Sample Net Counts / Cutoff Value
UI	Unidades Internacionais
UI/ml	Unidades Internacionais por mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3 REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 A Hepatite B	15
3.2 Estrutura e Virologia Molecular do VHB	17
3.3 Genótipos e Sorotipos	20
3.4 Variantes e Mutantes do VHB	21
3.5 Ciclo de Replicação do VHB, cccDNA e Vias de produção do HBsAg	22
3.6 Diagnóstico Laboratorial da Hepatite B	25
3.6.1 Marcadores Sorológicos	26
3.6.2 Exames de Biologia molecular	29
3.7 Evolução da Hepatite B crônica	30
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	32
4.1 Delineamento do Estudo	32
4.2 Aspectos Éticos	32
4.3 Local do Estudo	32
4.4 População Alvo	32
4.4.1 Critérios de Inclusão	33
4.4.2 Critérios de Exclusão	33
4.5 Coleta de Amostras de Sangue e Estocagem	34
4.6 Análise Laboratorial	34
4.6.1 HBsAg Quantitativo	35
4.6.2 HBeAg Quantitativo	35
4.6.3 Quantificação do VHB DNA – PCR Real Time	36
4.6.3.1 Extração do VHB DNA	37
4.6.3.2 Amplificação e Detecção do VHB DNA	38
4.7 Análise dos Prontuários	39
4.7.1 Aminotransferases – ALT/AST	39
4.7.2 Biópsia Hepática	39
4.8 Biossegurança	40

4.9 Análise Estatística.....	40
5 RESULTADOS.....	41
6 DISCUSSÃO.....	48
7 CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	55
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	65
APÊNDICE B – Banco de Dados da Pesquisa.....	66
ANEXO A – Declaração CEP/UFS.....	71

1 INTRODUÇÃO

A Hepatite B é uma doença infecto-contagiosa, causada por vírus DNA e apesar dos significantes progressos no desenvolvimento de vacinas, esta infecção continua sendo um grave problema de saúde pública global (CLARKE; BLOOR, 2002; KAO, 2002). Segundo a Organização Mundial de Saúde – OMS, a infecção crônica causada pelo vírus da Hepatite B (VHB) atinge aproximadamente 350 milhões de pessoas em todo o mundo, sendo a principal causa de cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) (BONINO et al., 2009; BRASIL, 2010).

Nos últimos anos tem-se observado um avanço considerável no diagnóstico e tratamento desta enfermidade (FERREIRA; BORGES, 2007; PERRILO, 2009; TERIAKY; AL-JUDAIBI, 2013). Entretanto, a infecção pelo VHB não pode ser completamente erradicada devido à persistência do DNA circular covalentemente fechado (cccDNA) no núcleo dos hepatócitos infectados, constituindo-se num reservatório perene de infecção do VHB (EASL, 2009).

A detecção no soro do “antígeno Austrália”, ou seja, do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), foi a descoberta que identificou o vírus da hepatite B (VHB) e o seu descobridor ganhou o prêmio Nobel há cerca de 40 anos (BRUNETTO, 2010; MOUCARI; MARCELLIN, 2011). Desde então, o HBsAg tem sido utilizado como um marcador qualitativo de diagnóstico de infecção pelo VHB (CHAN et al., 2011; LEE; AHN, 2011; LIAW, 2011; MARTINOT-PEIGNOUX et al., 2013).

Após a infecção, o HBsAg é o primeiro marcador sorológico detectável no soro e sua persistência por mais de seis meses caracteriza hepatite B crônica (BRASIL, 2010; NGUYEN; DESMOND; LOCARNINI, 2009).

A perda do HBsAg e o desenvolvimento de anticorpos anti HBs é o objetivo final da terapia anti VHB e, portanto, o HBsAg quantitativo pode ser um marcador de prognóstico promissor durante a história natural do VHB e durante a terapia antiviral (JAROSZEWICZ et al., 2010; MOUCARI; MARCELLIN, 2011).

De acordo com Brunetto (2010), a quantificação do HBsAg foi introduzida há mais de 20 anos mas só recentemente é que estes ensaios foram significativamente melhorados. Atualmente existem dois ensaios comercialmente disponíveis: O Architect HBsAg (Abbott Diagnostics) e o Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics) (JANSSEN et al., 2012; LEE; AHN, 2011, LEE et al., 2012). O Architect HBsAg da Abbott é um imunoensaio quimioluminescente, sendo na atualidade, o método mais amplamente utilizado em estudos clínicos (DEGUCHI et al., 2004; LEE; AHN, 2011).

Sabe-se que atualmente a mensuração do VHB DNA é o padrão ouro para o monitoramento da carga viral, porém, este é um método de alto custo, ainda não disponível em algumas regiões e a necessidade de avaliar a dinâmica viral várias vezes durante o tratamento, torna o seu custo um desafio (ALGHAMDI et al., 2013; LEE et al., 2010; OZARAS et al., 2008).

Embora o nível de HBsAg seja determinado apenas qualitativamente na prática clínica rotineira, dados recentes sugerem que a sua quantificação pode ser útil na determinação da fase da hepatite B crônica e como um auxílio, se não uma alternativa, para a carga viral do VHB DNA no monitoramento do tratamento (BEN SLAMA; AHMED; ZOULIM, 2010; LEE et al., 2010; LEE; AHN, 2011; MOUCARI et al., 2009; OZARAS et al., 2008).

Acredita-se que a avaliação quantitativa dos títulos de HBsAg pode ser uma referência fácil e econômica para a replicação do VHB em portadores de hepatite B crônica (GANJI et al., 2011; LEE; AHN, 2011). Um marcador de baixo custo e de fácil execução substituto ou auxiliar para a detecção molecular do DNA do HBV pode contribuir para o tratamento da enfermidade de uma forma mais prática (OZARAS et al., 2008).

Considerando que os estudos de correlação entre a quantificação do HBsAg com a carga viral do VHB apresentam, ainda, resultados conflitantes e que não existem publicações sobre esta temática em Sergipe, nem no Brasil, acredita-se que esta pesquisa possa contribuir com novos dados para que a utilidade do HBsAg seja melhor elucidada na prática clínica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Avaliar a correlação entre os níveis de HBsAg e a carga viral do VHB DNA em pacientes com hepatite B Crônica.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a correlação entre os níveis de HBsAg e a carga viral do VHB DNA em pacientes HBeAg positivos e HBeAg negativos;
- Correlacionar os níveis de HBsAg e a carga viral do VHB DNA de acordo com o uso ou não de antivirais;
- Determinar a relação entre a quantificação do HBsAg e HBeAg;
- Correlacionar os níveis de HBsAg com as aminotransferases (AST, ALT);
- Associar os níveis de HBsAg com exames histológicos (biópsia hepática).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A Hepatite B

A hepatite B é causada por vírus DNA pertencente à família dos *Hepadnaviridae*, gênero *Orthohepadnavirus* que possui como características, o tropismo pelas células hepáticas, e um genoma constituído de uma molécula de DNA de fita parcialmente dupla e frouxamente circular, o qual se replica por transcrição reversa, a partir de um RNA pré genômico (SEEGER; MASON, 2000). É uma doença de acompanhamento difícil, com peculiaridades na relação vírus-hospedeiro, surgimento de mutantes, heterogeneidade viral, com diferentes formas clínicas (LOK, 2005).

O passo principal para a descoberta do vírus da hepatite B (VHB) foi dado por Blumberg (1965), ao detectar um novo antígeno presente no soro de um aborígine australiano, então denominado antígeno Austrália, que reagia ao entrar em contato com o soro de hemofílicos transfundidos e de pacientes leucêmicos. Posteriormente, foi confirmada a associação deste com o vírus da hepatite B e o mesmo passou a ser denominado antígeno de superfície do vírus da hepatite B ou HBsAg, surgindo como primeiro marcador sorológico de infecção viral, que estimulou a produção de uma vacina para a prevenção da doença (BLUMBERG, 1977; DANE et al., 1970).

A imunização ativa utilizando as modernas vacinas recombinantes constitui, na atualidade, a arma mais importante no combate a essa virose (FERREIRA, 2000; LIAW; CHU, 2009; LOPES; SCHINONI, 2011).

O vírus circula primariamente no sangue e replica-se nos hepatócitos em torno de 10^{11} (100.000.000.000 cópias/ml) por dia; é altamente infectivo e consegue sobreviver por até uma semana fora do corpo humano (FONSECA, 2007; LOCARNINI, 2003).

O sangue é o fluido corpóreo que contém a concentração mais alta de VHB e é o veículo de transmissão mais importante. Além do sangue, mostram-se contagiosos também o sêmen, as secreções vaginal e cervical, o exudato de feridas e saliva (CDC, 2006).

A transmissão ocorre, fundamentalmente, por via sexual, parenteral, vertical e por meio de solução de continuidade (pele e mucosa) (BRASIL 2008; BRASIL 2010) e o período de incubação varia entre 45 e 180 dias, com duração média em torno de 75 dias (CHANG, 2007; MENDONÇA; VIGANI, 2006).

Uma vez infectado pelo VHB, o indivíduo pode apresentar três principais formas da infecção: hepatite fulminante, forma de elevada gravidade e letalidade; hepatite aguda auto-limitada ou estado de portador crônico, com diversas formas de acometimento clínico (KIFFER; VIANA; CHEINQUER, 2003; YALÇIN et al., 2003).

O risco de se tornar um portador crônico é inversamente proporcional à idade na qual o indivíduo foi infectado, embora fatores como distúrbio renal, diabetes, imunodeficiência, uso abusivo de álcool e infecções com outros vírus possam aumentar o risco de evolução para a cronicidade (GJØRUP; SKINHØJ, 2003; MAHONEY, 1999). Cerca de 5 a 10% dos adultos infectados desenvolvem a doença crônica, contra aproximadamente 90% dos recém-nascidos contaminados (PARANÁ et al., 2006).

Essa virose mostra-se amplamente distribuída em todos os continentes, predominando no sudeste Asiático, África subsaariana e no Oriente Médio (FERREIRA; BORGES, 2007). O Brasil tem sido considerado uma região de prevalência intermediária para o VHB, embora diferentes índices sejam verificados nas diversas regiões do país e, até mesmo, dentro de uma mesma região (CLEMENS et al., 2000; TANAKA, 2000). Áreas de alta prevalência estão localizadas no sul do Espírito Santo, na Amazônia, no nordeste de Minas Gerais e no Oeste do Paraná (NUNES; LACET, 2009).

De acordo com dados do Ministério da Saúde (2012), a incidência do VHB no Nordeste brasileiro, de 1999 a 2011, foi de 11.017 casos novos, correspondendo a 9,15% dos casos nacionais.

Em Sergipe, segundo dados do SINAN/DATASUS/MS, a incidência da doença passou de 1 caso/ano em 1999 para 100 casos/ano em 2013 refletindo, provavelmente, a subnotificação da doença no Estado neste período. Os casos confirmados de hepatite B em Sergipe totalizam 1093 no período de 1999 a 2013 e atualmente existem aproximadamente 814 pessoas cronicamente infectadas pelo VHB. A cidade com o maior número de notificações é Aracaju, seguida de Nossa Senhora do Socorro e Itabaiana.

É importante destacar que na maioria das vezes, o diagnóstico da hepatite só é possível na fase crônica por ter passado despercebido o quadro agudo (VILELA et al., 1996).

No estado de Sergipe há uma estrutura voltada para atender as diversas necessidades dos portadores da Hepatite B. O diagnóstico pode ser feito nas Unidades Básicas de Saúde, nos Centros de Triagem e Aconselhamento (CTAs) e no Laboratório Central de Saúde Pública de Sergipe (LACEN-SE), que também é o responsável por realizar os exames de monitoramento da carga viral destes pacientes. O Serviço de Hepatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe é a referência para os portadores de hepatites virais assim como para as

hepatopatias de outras etiologias e lá é oferecido o tratamento integral e acompanhamento da evolução do quadro da hepatite.

3.2. Estrutura e Virologia Molecular do VHB

O VHB completo, também chamado de partícula DANE, apresenta-se na forma esférica e possui aproximadamente 42nm de diâmetro sendo constituído de um envelope lipoproteico, composto pelo antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e um nucleocapsídeo estrutura central, o *core*, que contém a proteína HBcAg, o DNA viral e a proteína DNA polimerase, que tem atividade de transcriptase reversa (SEEGER; MASON, 2000), como se pode observar na **Figura 1**.

Outro antígeno associado ao invólucro interno do vírus é o antígeno “e” (HBeAg), embora algumas estirpes, designadas por mutantes, consigam reproduzir-se sem produzi-lo (SEEGER; MASON, 2000). Tiollais et al. (1985) explica que diferentemente do HBcAg, ele é secretado e detectado no sangue.

A proteína “e” é derivada da proteólise de um precursor com regiões comuns ao HBcAg. Sua função não é totalmente conhecida, admitindo-se participar da cobertura do DNA viral pelo nucleocapsídeo, contudo sabe-se que a mesma não é essencial para a replicação viral (GANEM; PRINCE, 2004).

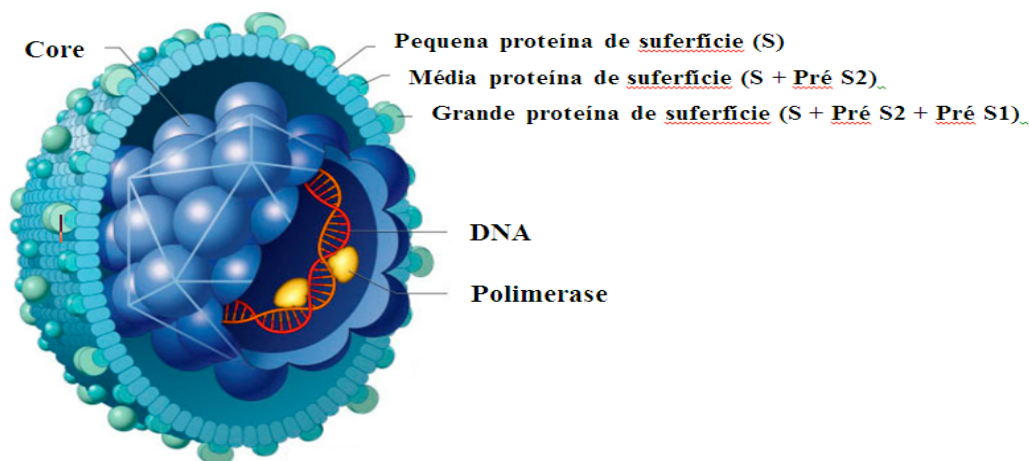


Figura1: Representação esquemática da estrutura do VHB

Fonte: Adaptado de <http://people.rit.edu/japfaa/index.html>

Além do vírion completo, outras partículas menores, não infecciosas circulam no sangue das pessoas infectadas (GANEM; PRINCE, 2004; LEE; AHN, 2011). Entre estas, estão duas

proteínas do antígeno de superfície (HBsAg) que foram produzidas em excesso pelo hepatócito infectado, mesmo na ausência do core do vírion. Uma tem a forma de esferas e a outra, o aspecto de filamentos longos (GOMES, 2003). Todas as três formas podem ser detectadas no soro com ensaios comerciais e são referidas coletivamente como HBsAg (LEE; AHN, 2011) (**Figura 2**).

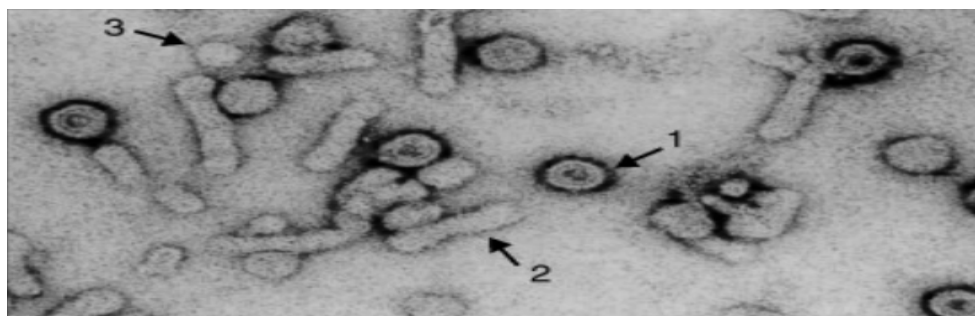


Figura 2 - Microscopia eletrônica dos três tipos de partículas do VHB no soro (1- Vírus completo, 2- Partícula filamentosa, 3- Partícula esférica).

Fonte: BUTI et al, 2012.

O genoma do VHB é o menor dos genomas de ácido desoxirribonucleico (DNA) conhecido entre os vírus animais (SEEGER; MASON, 2000). Ele é composto por uma molécula de DNA circular de fita parcialmente dupla, com aproximadamente 3200 pares de base (GOMES, 2003). A fita longa (negativa), contém toda a informação genética do vírus (ALVARIZ, 2006) e possui quatro regiões de leitura aberta (ORF, do inglês *open reading frames*) que se sobrepõem parcialmente: os genes S, C, P e X (LEE et al., 2012; MALIK; LEE, 2000), como ilustrado na **Figura 3**.

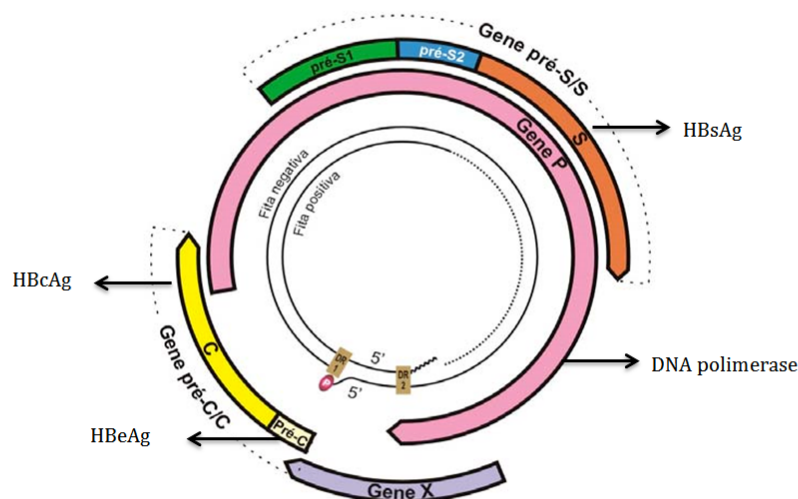


Figura 3 - Representação esquemática do genoma do VHB com as quatro cadeias de leitura abertas (ORF) ou genes pré S/S, pré C/C, gene P e gene X.

Fonte: Adaptado de SEEGER; MASON, 2000.

Cada uma destas regiões codifica antígenos que são identificados pelo sistema imune, levando a formação de anticorpos específicos que têm aplicabilidade clínica no diagnóstico, acompanhamento e prognóstico da hepatite B, como se pode observar na **Quadro 1**.

Região	Proteína	Antígeno	Anticorpo
Pré S-S	S	HBsAg	anti-HBs
Pré C-C	C e pré-C	HBcAg	anti-HBc total/ anti HBc IgM
		HBeAg	anti-HBe
P	Polimerase	-	-
X	Proteína X	-	-

Quadro 1 - Regiões ou genes do VHB com seus respectivos antígenos e anticorpos
Fonte: ALVARIZ, 2006.

A região S, dividida em pré-S1, pré-S2 e S, codifica as três proteínas estruturais do envelope viral de acordo com a região onde se inicia a transcrição (BRUSS; GANEM, 1991; GANEM; PRINCE, 2004). A transcrição simultânea das regiões pré-S1, pré-S2 e S produz a proteína grande ou *large* S, composta de 389 a 400 aminoácidos. A proteína média ou *middle* S, é formada pela transcrição das regiões pré-S2 e S, consistindo em 281 aminoácidos. A proteína pequena ou *small* S, principal proteína do HBsAg, surge pela transcrição apenas da região S e é a mais abundante e a menor entre elas, possuindo 226 aminoácidos (BRUSS, 2007; GANEM; PRINCE, 2004).

Estas três proteínas codificadas pela região pré-S/S são imunogênicas, estruturais, glicosiladas e inseridas no envelope viral em proporções variadas nos diferentes tipos de partículas (FRANÇOIS et al., 2001; TIOLLAIS et al., 1985). Segundo Seeger e Mason (2000), elas exercem as funções de ligação do vírus aos receptores presentes nas células do hospedeiro e participam da liberação das partículas virais pela célula infectada.

O gene C formado pela região C/pré C, codifica o antígeno do core (HBcAg) e o antígeno e (HBeAg) (LEE, 1997). O gene P codifica a polimerase viral, enzima importante para a replicação e alvo de antivirais, que também apresenta função de transcriptase reversa, uma vez que a replicação viral requer intermediário RNA. O gene X codifica o antígeno X (HBxAg), que tem função ainda pouco conhecida, embora tenha sido admitido que possa influenciar na persistência da infecção e no desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (FRANÇOIS et al., 2001; SEEGER; MASON, 2000).

3.3 Genótipos e Sorotipos

Apresentando uma estrutura viral complexa, o VHB possui diferentes genótipos e subtipos. Com base na sequência total de nucleotídeos são descritas atualmente oito variações genotípicas, nomeadas de A a H (BRASIL, 2010; FONSECA, 2007; LOCARNINI, 2004). Enquanto a relevância clínica e a terapêutica dos genótipos do VHB continuam a ser investigadas, evidências se acumulam, sugerindo que os mesmos possuem um papel determinante na evolução clínica da hepatite e na resposta terapêutica (FONSECA, 2007; GONÇALES; GONÇALES JR, 2006; LOK; MCMAHON, 2007).

O VHB foi inicialmente classificado por sorotipos (GONÇALES; GONÇALES JR, 2006). Com base na heterogeneidade antigênica do HBsAg, foi possível definir nove subtipos, sendo adw, adr, ayw e ayr os principais (KURBANOV; TANAKA; MIZOKAMI, 2010).

A relação entre os genótipos do VHB e os sorotipos tem sido estabelecida, porém, como a genotipagem é baseada na sequência inteira do genoma, ela traduz melhor a diferença que o sorotipo, uma vez que existem os mesmos sorotipos em distintos genótipos (GONÇALES; GONÇALES JR, 2006).

Estudos apontam que os genótipos exibem distribuição geográfica distinta e, dessa forma, podem refletir os padrões de migração de uma região (SCHAEFER, 2005). Os genótipos A e D são frequentemente observados na Europa, África e América do Norte enquanto B e C são mais frequentes na Ásia; o genótipo E predomina no oeste da África e o genótipos F e G já foram encontrados na América Central e do Sul. O Genótipo H foi descrito no México e na América Central (ARAUZ-RUIZ et al., 2002).

No Brasil, os genótipos isolados com maior frequência são o A, D e F (MORAES et al., 1996; SITNIK et al., 2004). De acordo com Sena (2010), em Sergipe, o genótipo mais prevalente é o A.

Há evidências de que a resposta ao tratamento e a evolução para a hepatite B crônica variam em função desses genótipos, uma vez que alguns deles apresentam melhor resposta ao interferon, como o A e o B. Por outro lado, os genótipos C e F estão relacionados a maiores riscos de carcinogênese (BRASIL, 2010). A mutação pré-core é mais relacionada aos genótipos B, C, D e E (GONÇALES; GONÇALES JR, 2006). Todavia, no momento, os genótipos do VHB ainda não são utilizados para a tomada de decisão terapêutica (BRASIL, 2010; PAPATHEODORIDIS, 2002).

3.4 Variantes e Mutantes do VHB

A complexa organização do genoma viral e o processo de transcrição reversa propiciam a ocorrência de mutações durante o processo de replicação viral, tendo sido estimado que a proporção de mutações do VHB seja dez vezes maior do que para outros vírus DNA (LOCARNINI, 2004). Apesar do diagnóstico sorológico convencional, ser, normalmente, bastante sensível e específico, este não detecta casos de hepatite B mutantes, cada vez mais frequentes, e atualmente descritos decorrentes do escape e resistência de vacinação, terapias anti-virais, imunossupressão dentre outras (KREUTZ, 2002).

Considera-se que tais mutações determinam o surgimento de vírus com vantagens para a sobrevivência no organismo do hospedeiro (TORRESI, 2002) e que tenham também implicações para o diagnóstico, prevenção, tratamento e acompanhamento clínico dos pacientes infectados (FRANÇOIS et al., 2001).

Para Gonçalves e Gonçalves Jr (2006), entre as principais mutações do VHB, de interesse clínico, estão as do gene core/pré-core, do gene da polimerase e da região do envelope.

A mutação na região pré-Core/Core que leva a uma falha na expressão do HBeAg, é uma das mais importantes. Por gerar vírus capaz de escapar da resposta imune do hospedeiro, já que o sinal de encapsidação é afetado, essa alteração prolonga a infecção, mantendo a doença ativa no fígado (CHIN; LOCARNINI, 2003; GONÇALES; GONÇALES JR, 2006; LOCARNINI, 2004, TONG et al., 2005).

Ela está associada a quadros de hepatites fulminantes e às exacerbações severas da doença crônica, produzindo maiores graus de morbidade e mortalidade que os observados nas infecções pelos VHB selvagens (GONÇALES; GONÇALES JR, 2006; OMATA, 1991).

As mutações no gene pré-S/S, codificador das proteínas do envelope, resultam na produção de vírus que não são detectados pelos testes sorológicos utilizados no diagnóstico da hepatite B, o que proporciona o aparecimento de situações clínicas com quadro sorológico atípico (FRANÇOIS et al., 2001; WEBER, 2005). Segundo Torresi (2002), esses vírus mutantes também não são neutralizados pelos anticorpos induzidos pela vacina e podem causar infecção em indivíduos vacinados.

Mutações no gene da polimerase podem ocorrer após o tratamento prolongado com o antiviral lamivudina, um análogo de nucleosídeo que inibe a síntese do DNA viral (CHEN; OON, 1999). De acordo com Chin e Locarnini (2003), mutantes com alterações no gene da

polimerase são resistentes ao tratamento com esse tipo de droga antiviral e estão associados com a persistência da infecção.

Recentemente, mutações no gene X têm sido evidenciadas e associadas a alterações nos elementos que controlam o processo de replicação viral. Essas alterações podem reduzir a síntese de proteínas virais e, conseqüentemente, dificultar a detecção de antígenos pelos testes diagnósticos rotineiramente utilizados (FRANÇOIS et al., 2001; LOCARNINI, 2004).

Assim, de acordo com Kramvis e Kew (2005), deve-se suspeitar de mutação viral nos casos em que a sorologia para a hepatite B indica imunidade ou parada da replicação com o quadro clínico evoluindo mal, excluído outras causas de hepatites.

3.5 Ciclo de Replicação do VHB, cccDNA e Vias de Produção do HBsAg

A principal característica da replicação do VHB-DNA é que ela ocorre por transcrição reversa, a partir de um RNA pré genômico (SUMMERS; MASON, 1982).

A etapa inicial da infecção celular pode ser dividida em três estágios: ligação, fusão e entrada viral (LOCARNINI, 2003). Sabe-se que a aderência do VHB aos hepatócitos é mediada pelas glicoproteínas do HBsAg, mas o receptor no hepatócito e o mecanismo de entrada do vírus da célula ainda são desconhecidos (MURRAY et al., 2005).

Após a fusão do envelope com a membrana e o desnudamento viral, as partículas do core alcançam o citoplasma e migram para o núcleo, onde o genoma viral é concluído (GANEM; PRINCE, 2004). Ocorre a complementação da fita positiva de DNA, pela polimerase viral, gerando a fita dupla de DNA circular covalentemente fechada, “covalently closed circular” DNA (cccDNA), que constitui o molde original para a transcrição do genoma (LOCARNINI, 2004; SEEGER; MASON, 2000) (**Figura 4**).

O cccDNA funciona como um modelo para a produção de RNA mensageiro, que será encaminhado para o citoplasma da célula hospedeira e servirá a dois propósitos. Algumas moléculas são traduzidas em proteínas necessárias pelo vírus, tais como HBcAg, HBsAg, HBeAg e a enzima DNA polimerase. Outras moléculas de RNA mensageiro, denominadas de RNA pré-genômico servem como modelo para a transcrição reversa em novas moléculas de DNA-VHB. (BOWDEN; THOMPSON, 2008; GANEM, PRINCE, 2004). No citoplasma, as proteínas do capsídeo, recém sintetizadas, organizam-se em torno do RNA pré-genômico para a montagem do nucleocapsídeo viral. Em seguida, ocorre a transcrição reversa do RNA viral, pela ação da polimerase viral. A síntese dos dois filamentos do DNA é sequencial. Inicialmente, a

enzima transcriptase reversa sintetiza a fita de polaridade negativa do DNA a partir do RNA pré-genômico que, em seguida, é degradado pela atividade RNase H da polimerase viral. Após, a enzima inicia a síntese da fita de polaridade positiva do DNA, que é parcialmente complementar à fita negativa (BRUSS, 2004; SEEGER; MASON, 2000).

A maioria dos capsídeos, migram para o retículo endoplasmático, onde são revestidos por um envelope viral (HBsAg) e são exportados da célula, prontos para infectar outros hepatócitos (GANEM; PRINCE, 2004).

Além de vírions, a célula infectada libera também as pequenas partículas não infecciosas incompletas (esféricas e filamentosas) que são também constituídas de HBsAg (CHAN et al., 2011). Outros capsídeos retornam para o núcleo da célula onde se completa a síntese da cadeia positiva e se forma novamente o cccDNA, mantendo estável o ciclo replicativo (GANEM; PRINCE, 2004; SEEGER; MASON, 2000).

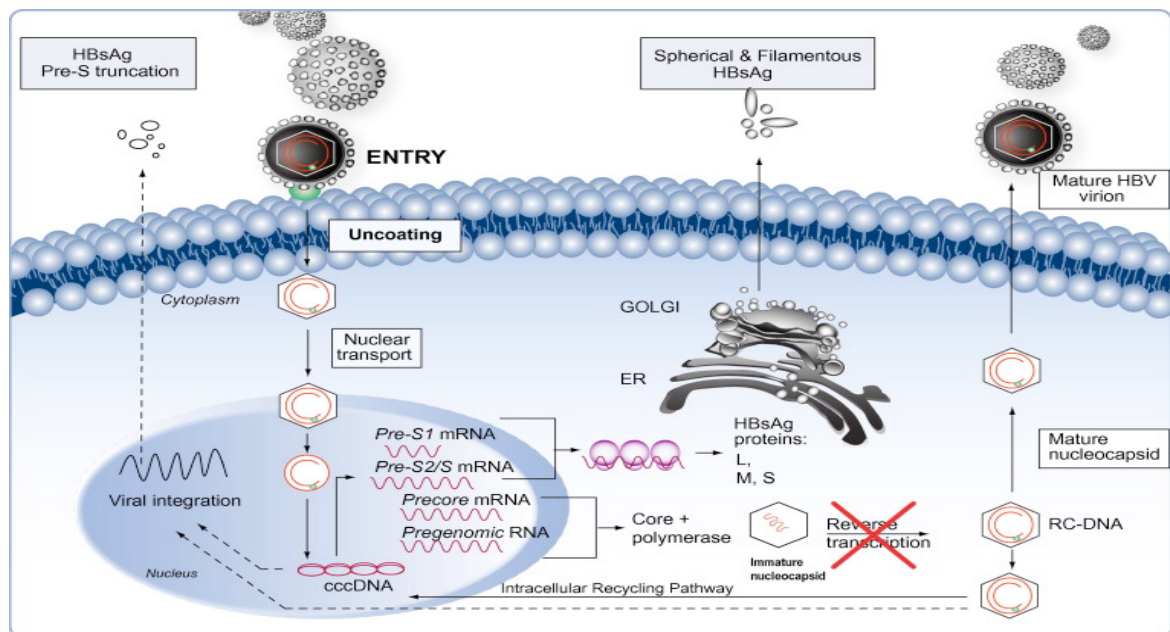


Figura 4- Ciclo de vida do vírus da hepatite B (VHB). Destacando o reservatório nuclear covalentemente fechado circular (cccDNA), que é o modelo para a produção do vírus. A terapia com análogo nucleotídeo elimina a transcriptase reversa, inibindo a produção do vírus, mas não reduz os níveis de HBsAg pois os níveis de cccDNA são preservados.

Fonte: CHAN et al., 2011.

O cccDNA é o modelo para a transcrição do gene viral e é responsável pela persistência do vírus (LEE et al., 2012). O grande reservatório de cccDNA leva à cronicidade da infecção (GANEM; PRINCE, 2004) e o grande desafio da terapia antiviral para a hepatite B crônica é eliminar o cccDNA do hepatócito (CHAN et al., 2011).

O HBsAg é produzido por transcrição e tradução dos genes de superfície do VHB. A produção do HBsAg pelo cccDNA é independente da replicação do vírus e portanto a maioria dos antivirais podem suprimir a atividade da polimerase, reduzindo o VHB DNA, mas pode não afetar diretamente a produção de HBsAg que é produzido por mais de uma via (CHAN et al., 2007; CHAN et al. 2011; NGUYEN, 2009) (**Figura 5**). O HBsAg faz parte do envelope das partículas infecciosas do VHB, é também encontrado sobre a forma de esferas não infecciosas ou filamentos que foram produzidos em excesso e excedem os viriões infecciosos em número de 10^2 a 10^5 . Além disso, o mesmo também é produzido a partir do VHB DNA integrado no genoma do hospedeiro (LIAW, 2011).

Os kits comerciais de HBsAg, disponíveis no mercado, detectam, no soro, todos os três tipos de partículas virais que são produzidas: a partícula viral completa, infecciosa (partículas de Dane) e as partículas incompletas menores (esféricas e filamentosas), que não possuem o core do vírion e não são infecciosas (GOMES, 2003; JASSEN et al., 2012; LEE; AHN, 2011).

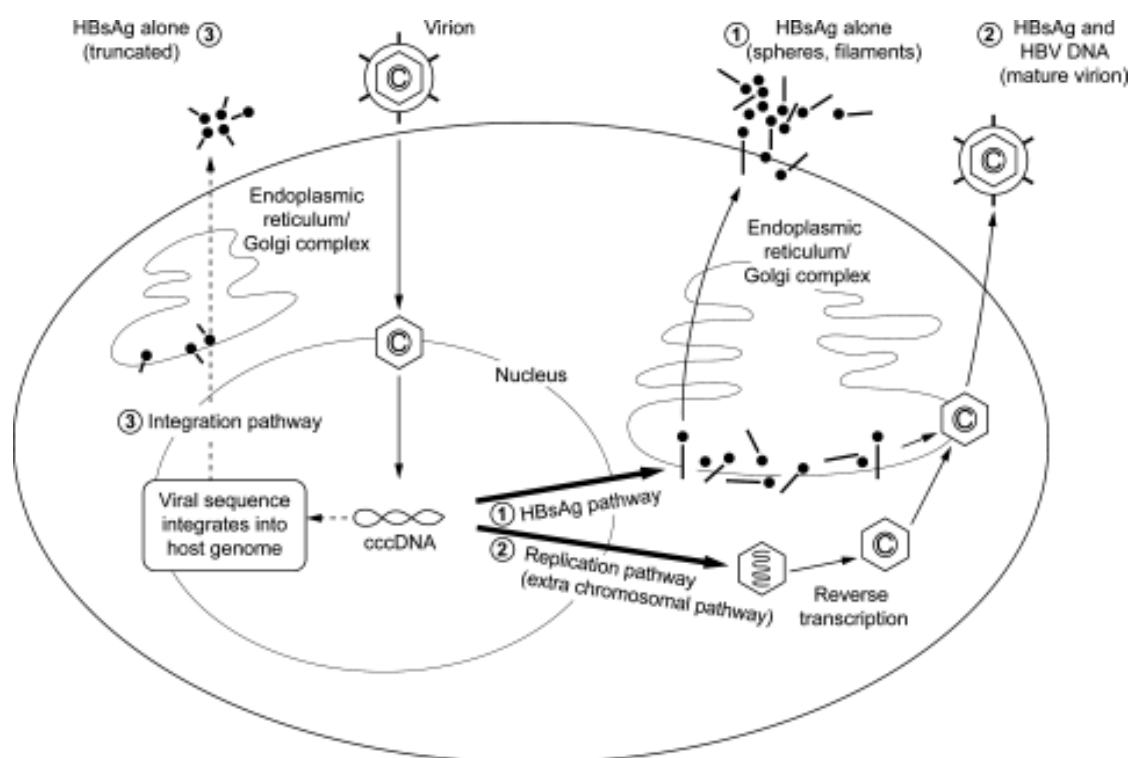


Figura 5 – Vias de produção do HBsAg durante a infecção pelo VHB.

Fonte: LIAW, 2011.

Teoricamente, o clearance viral poderia ser alcançado se os medicamentos fossem utilizados por tempo prolongado, até que se esgotasse o cccDNA, cuja meia vida revela-se muito

longa e seu desaparecimento parece ser dependente da eliminação progressiva dos hepatócitos infectados. Mas o maior problema resultante do tratamento prolongado com estes antivirais é o desenvolvimento de resistência por mutação na polimerase (FERREIRA, 2000).

Kew (2006) acredita que o processo de carcinogênese relacionado à infecção pelo VHB seja explicado pelas alterações genômicas celulares ocorridas no hepatócito, resultantes da integração do genoma do vírus ao do hepatócito.

Apesar do papel crucial do cccDNA na persistência da infecção pelo VHB e da importância do conhecimento dos mecanismos de seu clearance, a maior parte do conhecimento atual sobre o cccDNA foi obtida utilizando-se modelos animais, existindo poucos estudos em seres humanos. Obstáculos históricos ao estudo do cccDNA foram a necessidade de realização de biópsias hepáticas e a escassez de métodos quantitativos sensíveis e específicos para a sua detecção (ZOULIN, 2005).

Chan et al. (2007), concluíram que o HBsAg se correlaciona bem com o cccDNA e com o VHB DNA intra hepático. Para eles, o HBsAg quantitativo pode ser um marcador substituto do cccDNA, na hepatite B crônica, sendo útil para prever a resposta virológica sustentada.

Wursthorn et al. (2006) também mostraram que o cccDNA se correlaciona significativamente com os níveis de HBsAg, sugerindo que o acompanhamento seriado do HBsAg pode agir como um marcador adicional para avaliar a resposta ao tratamento durante a terapia antiviral (LEE; AHN, 2011).

Acredita-se que um declínio rápido de HBsAg sérico durante a terapia com análogos nucleotídeos possa identificar os pacientes que terão sucesso no tratamento a longo prazo (CHAN et al., 2011).

3.6 Diagnóstico Laboratorial da Hepatite B

O diagnóstico da hepatite B realiza-se através de técnicas sorológicas e de biologia molecular. Tais técnicas revelam-se fundamentais não apenas para o diagnóstico, mas também mostram-se muito úteis no seguimento da infecção viral (FERREIRA, 2000; ROTMAN et al., 2009).

A detecção de antígenos virais (HBsAg e HBeAg) e anticorpos relacionados ao VHB (anti-HBc, anti-HBe, anti-HBs) constitui etapa fundamental no processo de diagnóstico e caracterização da infecção pelo vírus da hepatite B, uma vez que os sinais e sintomas clínicos são indistinguíveis dos demais tipos de hepatites virais (MAHONEY, 1999; ROTMAN et al., 2009).

Através dos testes sorológicos é possível fazer a distinção entre hepatite aguda, hepatite crônica ou imunidade para o vírus da hepatite B (WOLK et al., 2001).

Os exames laboratoriais hematológicos e de bioquímica hepática também são úteis, como coadjuvantes, para o diagnóstico. Além dos exames laboratoriais, pode-se utilizar os métodos de imagem, endoscópicos e quando indicada, a biópsia hepática para o exame histopatológico (SILVA, 2003).

A biópsia hepática, além de oferecer o perfil histopatológico e o estadiamento da doença, aporta ainda material para a pesquisa de imunorreatividade de antígenos no tecido por imunohistoquímica (GAYOTTO, 2001).

3.6.1 Marcadores Sorológicos

O primeiro marcador detectado no soro de pacientes infectados é o HBsAg. Esse antígeno está presente uma a cinco semanas após o contato com o VHB, geralmente antes de qualquer manifestação clínica da doença e a sua persistência por mais de seis meses é indicativo de infecção crônica (CHEINQUER, 2006; SILVA, 2003). Na hepatite aguda ele persiste de 3 a 4 meses após a infecção, desaparecendo nos casos de cura (DECKER, 1998).

O HBeAg é o segundo antígeno a aparecer no soro, sendo considerado um marcador de replicação e representa o período de maior infecciosidade. Na doença aguda tem duração efêmera, de poucas semanas; sua persistência por 8 ou 10 semanas após o surgimento dos sintomas pode ser indicativo de evolução para a cronicidade. Sua presença geralmente está associada com a positividade do DNA viral no soro e com alto risco de transmissão da infecção. Seu desaparecimento na fase aguda da doença, sucedido do desaparecimento do HBsAg, é sugestivo de evolução para a cura (DECKER, 1998).

A soroconversão para o anti HBe é um bom prognóstico e está associada à redução da replicação viral e à regressão da atividade inflamatória (CHWLA, 2005; FATTOVICH, 2003). Entretanto, o HBeAg pode estar ausente durante a infecção crônica sem significar, necessariamente, remissão da doença. Isso ocorre devido a mutações na região pré-Core/Core do genoma viral resultando em pacientes com carga viral elevada apesar do antígeno “e” ausente (OMATA, 1991; PINHO, 2003; TONG et al., 2005).

O primeiro anticorpo a ser detectado no soro durante a infecção pelo vírus da hepatite B (anti HBc), não influencia no nível de viremia, e é produzido para o antígeno do capsídeo viral HBcAg, antígeno que não pode ser detectado no sangue periférico, sendo encontrado apenas no citoplasma do hepatócito (CHEINQUER, 2006). O anti-HBc pode ser pesquisado na forma de

anti-HBc total, que inclui os anticorpos das classes IgM e IgG e não distingue a infecção aguda da crônica, ou na forma de anti-HBc IgM, que caracteriza a infecção aguda (MAHONEY, 1999). O anti-HBc IgM também pode ser detectado no soro em casos de exacerbação aguda da infecção crônica (HATZAKIS, et al., 2006).

O anti-HBc total não confere imunidade e pode ser o único marcador sorológico presente durante a “janela imunológica”, período em que não se detecta HBsAg nem anti-HBs. O anti-HBc IgG substitui o anticorpo IgM e persiste durante toda a vida do indivíduo, sendo um importante marcador de infecção pregressa. Da mesma forma, também pode ser o único marcador presente durante a infecção crônica, o que acontece quando o HBsAg está presente em níveis não detectáveis e não há produção do anti-HBs (WOLK et al., 2001).

No período de convalescença da infecção aguda pelo VHB, surge o anti-HBs, que pode permanecer em níveis detectáveis durante anos, indicando recuperação e imunidade contra reinfecção (MAHONEY, 1999). A presença do anti-HBs isoladamente sugere, na maioria das vezes, vacinação contra o VHB. A positividade para o anti-HBs isolado é uma condição que também pode ser encontrada em indivíduos infectados por amostras mutantes no gene S do VHB, não neutralizadas pelos anticorpos induzidos pela vacina e ainda não detectadas pelos testes sorológicos de rotina (FRANÇOIS et al., 2001; TORRESI, 2002).

HBsAg	HBeAg	Anti-HBc IgM	Anti-HBc Total	Anti-HBe	Anti-HBs	Interpretação
(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	HVB aguda (Fase Inicial)
(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	HBV aguda (Fase Tardia)
(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	HBV crônica (Ag e +)
(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	HBV crônica (Ag e -)
(-)	(-)	(-)	(+)	(+)/(-)	(-)	Janela Imunológica
(-)	(-)	(+)	(+)	(+)/(-)	(-)	HBV aguda (baixa antigenemia)
(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	HBV pregressa imune
(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	Vacinação Prévia
(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	HBV pregressa ou Reação cruzada

Quadro 2 - Principais padrões sorológicos encontrados na infecção pelo VHB.
Fonte: GONÇALES; GONÇALES JR, 2006.

A dinâmica de aparecimento desses marcadores é reflexo da replicação viral e da resposta imune do paciente (**Figuras 6 e 7**).

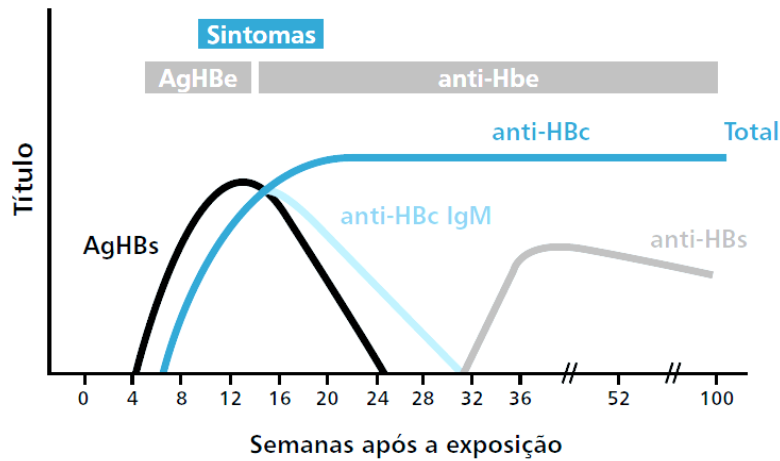


Figura 6 - Curso sorológico típico de recuperação na infecção aguda pelo VHB.
Fonte: BRASIL, 2008

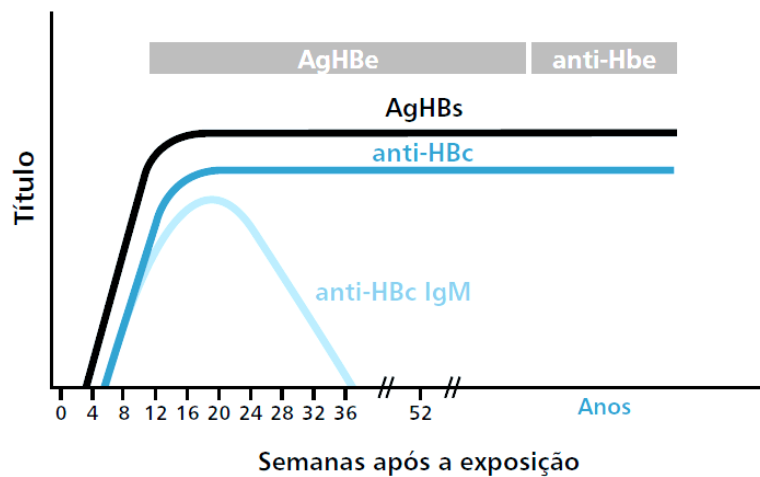


Figura 7 - Curso sorológico típico da progressão da infecção crônica pelo VHB.
Fonte: BRASIL, 2008

Várias técnicas são empregadas no diagnóstico sorológico, contudo, as mais utilizadas atualmente são os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) e a quimioluminescência (GONÇALES; CAVALHEIRO, 2006).

Estes ensaios são baseados na imobilização do antígeno ou anticorpo em um suporte sólido, geralmente no fundo de microplacas. Um antígeno ou anticorpo complementar, presente na amostra a ser testada é adicionado por simples aplicação, então este complexo antígeno-anticorpo é detectado por um outro antígeno ou anticorpo marcado com enzima. Esta enzima acoplada ao antígeno ou anticorpo é capaz de catalisar a reação, quando o substrato é adicionado, produzindo uma reação de oxidação que gera uma cor. Esta reação colorimétrica é medida e pode gerar resultados quantitativos ou qualitativos (reagente ou não reagente) (GONÇALES; CAVALHEIRO, 2006).

3.6.2 Exames de Biologia Molecular

A implementação de métodos cada vez mais sensíveis de Biologia Molecular tem contribuído para aperfeiçoar o diagnóstico e monitorar o tratamento da infecção pelo vírus da hepatite B (VERNET, 2004).

Quatro tipos de ensaios moleculares estão disponíveis para o diagnóstico e monitoramento do tratamento da infecção pelo HBV: pesquisa quantitativa da carga viral do VHB DNA, testes de genotipagem, testes de mutação de resistência a drogas e ensaios de mutação pré-core. Os testes de carga viral que quantificam o VHB no sangue periférico (soro ou frações de plasma) são, atualmente, os mais úteis e mais utilizados. Os outros testes possuem, ainda, utilização limitada (VALSAMAKIS, 2007).

A quantificação do VHB DNA é importante no estabelecimento da indicação para o tratamento, na decisão de selecionar e ajustar protocolos de terapêutica, na avaliação da resposta aos antivirais, incluindo o desenvolvimento de resistências, na monitorização da doença e, em alguns casos, é útil para diagnóstico e estabelecimento de prognóstico (EASL, 2009; PAWLITSKY et al., 2008).

A análise da carga viral do VHB é também fundamental para a elucidação de perfis sorológicos atípicos (LIAW; CHU, 2009) como no diagnóstico da “infecção oculta” pelo vírus B, em indivíduos com o VHB DNA detectável no sangue periférico ou no fígado na ausência de HBsAg (TORBENSON; THOMAS, 2002; VALSAMAKIS, 2007).

Técnicas baseadas na amplificação do DNA, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), possuem alta sensibilidade, o que permite a detecção do VHB-DNA mesmo em amostras com número reduzido de cópias (ALVARIZ, 2006).

Vários ensaios baseados em PCR estão atualmente disponíveis comercialmente para o VHB DNA mas a técnica de PCR em tempo Real, recentemente introduzida, corresponde a

última geração de ensaios e apresenta grandes vantagens em relação a outros testes, como a PCR convencional ou o bDNA, pois é mais específica, sensível e reprodutível (VALSAMAKIS, 2007; GARBUGLIA et al., 2007) e ainda apresenta baixo risco de contaminação por produtos de PCR, posto que a reação acontece em tubos fechados do início ao final do processo (DIAZ; MENDONÇA, 2006).

3.7 Evolução da Hepatite B Crônica

Nos indivíduos que se tornam portadores crônicos do vírus, os marcadores de replicação viral e as manifestações clínicas serão dependentes da interação “vírus x hospedeiro” (PARANÁ et al., 2008).

As manifestações clínicas e complicações da infecção pelo VHB, geralmente, refletem os danos à célula hepática. No entanto, o VHB não é um vírus diretamente citopático; os hepatócitos não são agredidos de forma direta pelos vírus, mas provavelmente pelo sistema imune do hospedeiro na tentativa de remover a infecção (GANEM; PRINCE, 2004).

Devido a esta peculiaridade, a infecção crônica pelo HBV pode ser dividida em quatro fases: A primeira corresponde a fase de imunotolerância, onde o sistema imunológico aceita a replicação viral mesmo em altos títulos, sem causar lesão hepatocelular (PARANÁ et al., 2008). Esta fase é mais comumente vista em crianças que adquirem o VHB por transmissão perinatal ou nos primeiros anos de vida (FERREIRA; BORGES, 2007) e é caracterizada pela positividade do HBsAg e do HBeAg e altos níveis de carga viral- VHB DNA (geralmente acima de 20.000 UI/ml) no soro (FATTOVICH, 2003; PAN; ZHANG, 2005). As aminotransferases (ALT, AST) estão normais ou próximas do normal (BRASIL, 2010).

Na segunda fase, imunocleareamento/ Hepatite crônica HBeAg (+) esgota-se a tolerância imunológica, passando a tentativa do sistema imune em eliminar o vírus. Em função disso, há agressão dos hepatócitos nos quais ocorre replicação viral, gerando elevação das aminotransferases. O HBeAg encontra-se positivo com flutuações do VHB-DNA, ALT e atividade inflamatória (BRASIL, 2010).

A terceira fase, portador inativo do HBsAg ou fase de integração, é caracterizada por níveis muito baixos ou indetectáveis de replicação viral, normalização das transaminases e, habitualmente, soroconversão HBeAg/anti HBe (BRASIL, 2010; CHEINQUER, 2006). Nesta fase, o sistema imunológico do hospedeiro impôs-se ao vírus, reprimindo a replicação viral, mas a eliminação do VHB não pode ser realizada pelo fato de o DNA viral se integrar ao núcleo dos

hepatócitos do hospedeiro (BRASIL, 2010). Essa fase pode persistir indefinidamente, soroconverter o HBsAg, com a produção de anti HBs em aproximadamente 0,5%, ou apresentar reativação da hepatite em 20% a 30% dos casos (FERREIRA, 2000; NUNES; LACET, 2009).

Na quarta fase, denominada reativação da replicação viral ou Hepatite B crônica HBeAg (-), pode-se encontrar o anti-HBe com altos níveis de VHB-DNA e ALT. Esta fase geralmente se manifesta quando ocorre mutação do vírus B (nas regiões pré-core e promotor do core do genoma viral) e alguns pacientes voltam a positivar o HBeAg (CHEINQUER, 2006, YIM; LOK, 2006). Esse fenômeno também pode dar-se por imunossupressão no hospedeiro em decorrência de quimioterapia e uso de imunossupressores, permitindo o retorno da replicação pelo escape à vigilância imunológica do hospedeiro (BRASIL, 2010).

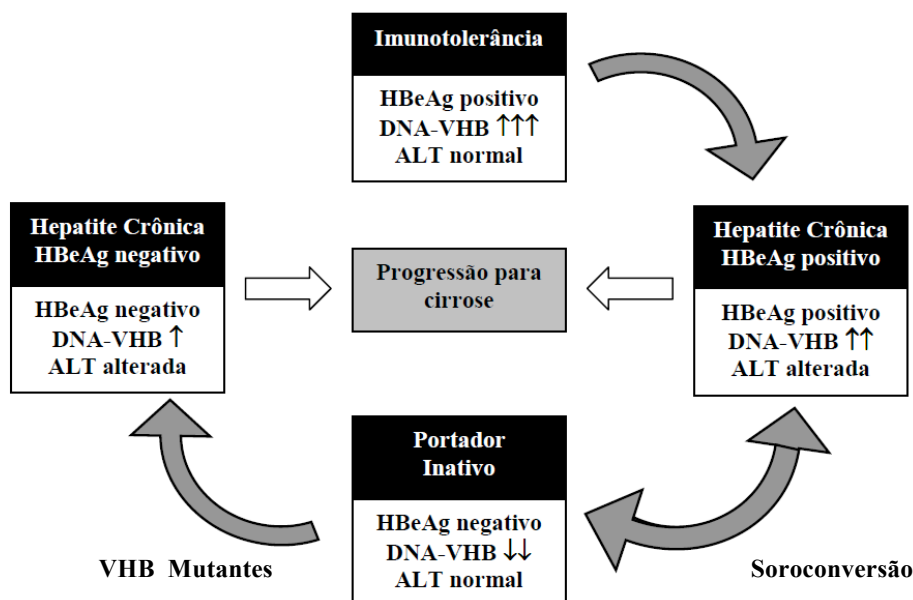


Figura 8 - Representação esquemática da história natural da infecção crônica pelo VHB
Fonte: PUNGPAPONG et al., 2007.

Os pacientes pertencentes à fase de hepatite B crônica HBeAg positiva possuem carga viral média acima de 20.000 UI/ml enquanto que os casos de hepatite B crônica HBeAg negativa, a carga viral varia de 2.000 a 20.000 UI/ml. Os portadores inativos do VHB essencialmente são HBeAg negativos e sua carga viral indetectável ou abaixo de 2.000 UI/L, apesar de ainda haver controvérsia sobre este ponto de corte (LOK; McMAHON, 2007; SHI; SHI, 2009).

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Estudo observacional, prospectivo, transversal.

4.2 ASPÉCTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal de Sergipe – CEP/UFS, nº CAAE 0303.0.107.107-11(anexo A). Todos os pacientes que preencheram os critérios de inclusão receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (apêndice A), que foi lido, compreendido e assinado antes da coleta de amostras. Os pacientes foram informados que tinham liberdade para retirar seu consentimento a qualquer momento.

4.3 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Serviço de Hepatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe e no Laboratório Central de Saúde Pública de Sergipe (LACEN-SE/ Fundação Parreiras Horta).

4.4 POPULAÇÃO ALVO

Foram selecionados os pacientes portadores de hepatite B crônica que estavam em acompanhamento regular no Serviço de Hepatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe e fizeram exames de monitoramento desta infecção no período de novembro de 2011 a dezembro de 2012 no LACEN/SE. A população do estudo foi oriunda da demanda espontânea do ambulatório especializado de Hepatologia.

Apesar da utilização de uma amostra de conveniência esta foi representativa do grupo uma vez que o Serviço de Hepatologia do Hospital Universitário de Sergipe é o serviço de referência do estado, para onde são drenados os casos suspeitos ou confirmados de hepatites virais oriundos da rede básica da capital e do interior. O LACEN/SE é o laboratório de referência

para hepatites virais e é o único do estado que realiza a quantificação do VHB DNA (PCR Real Time) para o monitoramento da hepatite B.

Foram coletadas amostras sanguíneas de todos os participantes para análises do HBsAg quantitativo, HBeAg e para a quantificação da carga viral do VHB DNA.

Também foram avaliados todos os prontuários destes pacientes no Serviço de Hepatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe para colher informações sobre os dados laboratoriais complementares (ALT, AST, anti-VHC, anti-HIV e biópsia hepática) do período em estudo.

4.4.1 Critérios de Inclusão

- Infecção crônica pelo vírus da hepatite B (definida como persistência do HBsAg (+) por um período maior que 6 meses);
- Ser acompanhado regularmente no ambulatório de Hepatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe;
- Idade igual ou superior a 18 anos.

4.4.2 Critérios de Exclusão

- Co-infecção com HCV e /ou HIV;
- Pacientes com quadro clínico de hepatite aguda;
- Prontuários sem informações;
- Uso de drogas imunossupressoras.

No período estudado, 136 pacientes compareceram ao LACEN-SE para realizar os exames de acompanhamento da hepatite B. Porém, após a aplicação dos critérios de seleção, finalizou-se com uma amostragem de 128 pacientes como demonstrado no **Quadro 3**.

Causas de Exclusão	N	%
Idade < 18 anos	2	25,0
Co-infecção HCV	1	12,5
Co-infecção HIV	2	25,0
Prontuários sem informação	3	37,5
Total	8	100

Quadro 3: Distribuição das causas de exclusão entre os primeiros 136 prováveis pacientes do estudo.

4.5 COLETA DE AMOSTRAS DE SANGUE E ESTOCAGEM

A coleta das amostras biológicas foi realizada no Laboratório Central de Saúde Pública de Sergipe (LACEN-SE) à medida que os pacientes se dirigiam à Instituição, para fazer os seus exames de monitoramento da hepatite B.

No dia da coleta, os pacientes compareceram ao Lacen-SE com as requisições de exames devidamente preenchidas, fizeram o cadastro no setor de coleta e leram e assinaram o TCLE antes da punção sanguínea. Foram coletados 5ml de sangue em tubo seco (para obtenção do soro) e 5ml em tubo com anticoagulante K₃ EDTA (para obtenção do plasma) por punção venosa periférica, utilizando-se seringas e agulhas descartáveis.

As amostras foram centrifugadas por 15 minutos e o soro e o plasma foram separados e estocados, em tubos criogênicos de 2 ml, estéreis, no freezer a -70°C até o momento da sua execução. O material biológico foi devidamente identificado com a numeração e com as iniciais do paciente. O soro foi utilizado para os testes sorológicos e o plasma para os testes moleculares.

Em todos os procedimentos, foram respeitadas as recomendações de biossegurança.

4.6 ANÁLISE LABORATORIAL

Todos os exames laboratoriais foram realizados com kits comerciais, executados e interpretados conforme a orientação do fabricante e foram validados através do controle interno da qualidade. Os testes de HBsAg e HBeAg foram realizados no setor de Sorologia do LACEN-SE e a quantificação da carga viral do VHB foi realizada no setor de Biologia Molecular.

4.6.1 HBsAg quantitativo

Os níveis séricos de HBsAg foram quantificados através do imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência no equipamento automatizado Architect (Abbott diagnostics, wiesbaden, Germany), onde os resultados foram apresentados em UI/ml.

Este ensaio utiliza micropartículas revestidas de anticorpos monoclonais anti HBs e é realizado em duas etapas: Na primeira etapa, a amostra e as micropartículas paramagnéticas revestidas de anti HBs são combinadas. O HBsAg presente na amostra se liga às micropartículas revestidas de anticorpos anti HBs. Após a lavagem, o conjugado de anticorpos anti HBs marcado com acridínio é adicionado (segunda etapa). Após outro ciclo de lavagem, as soluções pré-ativadora e ativadora são adicionadas à mistura de reação.

A reação quimioluminescente resultante é medida como unidades relativas de luz (RLUs). Existe uma relação direta entre a quantidade de HBsAg na amostra e as RLUs detectadas pelo sistema óptico do Architect.

A concentração do antígeno de superfície do vírus da hepatite B na amostra é determinada usando-se uma curva de calibração do Architect HBsAg previamente gerada. Se a concentração do HBsAg for maior ou igual a 0,05UI/ml, a amostra é considerada reativa para HBsAg.

O intervalo de detecção do HBsAg varia de 0,05 a 250 UI/ml. As amostras com resultados acima de 250,00 UI/ml foram diluídas à 1:500 com diluente da Abbott específico para esta finalidade e analisada em seguida pelo equipamento Architect.

4.6.2 HBeAg:

A análise do HBeAg também foi realizada através do imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência no equipamento automatizado Architect (Abbott diagnostics, wiesbaden, Germany), onde os resultados foram apresentados na forma qualitativa e quantitativa (S/CO).

Este ensaio utiliza micropartículas revestidas de anticorpos monoclonais anti HBe e é realizado em duas etapas: Na primeira etapa, a amostra, o diluente de ensaio e as micropartículas paramagnéticas revestidas de anticorpos anti-HBe são combinados. O HBeAg presente na amostra se liga às micropartículas revestidas de anticorpos anti-HBe. Após a lavagem, o conjugado de anticorpos anti-HBe marcado com acridínio é adicionado (segunda etapa). Após outro ciclo de lavagem, as soluções pré-ativadora e ativadora são adicionadas à mistura de

reação.

A reação quimioluminescente resultante é medida em unidades relativas de luz (RLUs). Existe uma relação direta entre a quantidade de HBeAg na amostra e as RLUs detectadas pelo sistema óptico do Architect.

O ensaio HBeAg Abbott Architect fornece os resultados com base no quociente S/CO, no qual o numerador corresponde à taxa de leitura da amostra e o denominador, a taxa do *cutoff* (CO). O *cutoff* é o valor de corte e o seu cálculo é determinado na calibração do ensaio. Se o sinal quimioluminescente na amostra for menor que o sinal *de corte*, a amostra é considerada não reativa para HBeAg.



Figura 9 - Equipamento Architect Abbott

4.6.3 Quantificação do VHB DNA – PCR Real Time

A quantificação do VHB DNA foi realizada no setor de Biologia Molecular do Laboratório Central de Saúde Pública de Sergipe (Fundação Parreiras Horta). A técnica utilizada foi a Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (PCR Real Time), com o uso de equipamentos completamente automatizados que baseia-se em dois processos principais: (1) Extração do DNA do VHB (Ampliprep) e (2) amplificação e detecção simultâneas por PCR do DNA alvo (Cobas® Taqman 48) (Roche Molecular Systems, Branchburg, USA).

Este sistema requer todo material descartável e apenas dois únicos contatos do técnico com as amostras: na pipetagem destas para os tubos que vão para o ampliprep e no transporte do

suporte (“k-carrier”) com os “k” tubos (com as amostras do DNA extraído + o master mix) para o Cobas® Taqman 48, diminuindo assim os riscos de contaminação.

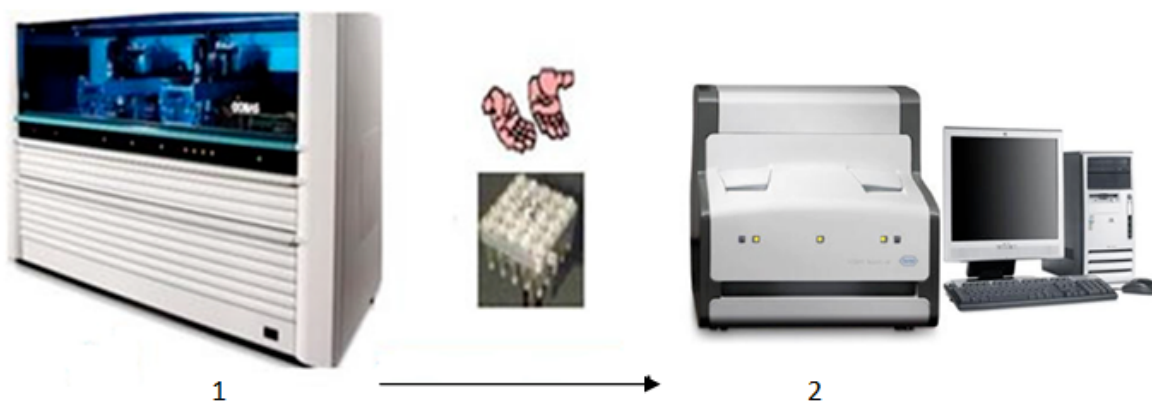


Figura 10: 1 - Cobas® AmpliPrep Roche Diagnostics; 2 - Cobas® TaqMan 48

Este teste utiliza ainda, um padrão de quantificação (PQ), que funciona como um controle interno para cada amostra; através dele é possível detectar um processamento inadequado na extração do DNA do VHB e também detectar a presença de substâncias inibidoras na reação. Trata-se de uma estrutura de DNA não infeccioso que contém sequências de VHB com locais de ligação ao iniciador idênticos aos do DNA alvo do VHB e uma região única de ligação da sonda que permite que o amplicon do PQ do HBV se distinga do amplicon do HBV. Este padrão de quantificação tem valor conhecido e é incorporado a cada amostra para ser submetido aos mesmos passos de preparação, amplificação e detecção.

A Mistura Principal (Master Mix) foi desenvolvida para assegurar a quantificação equivalente dos genótipos A a G do VHB.

4.6.3.1 Extração do DNA

Foi realizada no sistema automatizado COBAS® AmpliPrep e utilizou-se 850ul do plasma do paciente.

O processo de extração baseia-se na tecnologia das partículas magnéticas, utilizando-se um processo de extração por captura para análise no sistema COBAS® TaqMan. As partículas virais do VHB são lisadas por incubação à temperatura elevada com uma protease e tampão de lise, que liberta ácidos nucleicos e protege o DNA do VHB libertado das DNAsas no plasma. Introduce-se um número conhecido de moléculas de PQ do DNA do VHB em cada amostra, em conjunto com o reagente de lise e partículas magnéticas de vidro. Subsequentemente, a mistura é

incubada e o DNA do VHB e o DNA do PQ do VHB ligam-se à superfície das partículas de vidro. As substâncias não ligadas, como sais, proteínas e outras impurezas celulares são removidas durante a lavagem das partículas magnéticas de vidro.

Depois da separação das esferas e conclusão dos passos de lavagem, os ácidos nucleicos adsorvidos são eluídos com uma solução aquosa.

A amostra processada, contendo as partículas magnéticas de vidro bem como o DNA do VHB e o DNA do PQ libertados é adicionada à mistura de amplificação em k-tubos que são transferidos para o analisador COBAS® Taqman 48 onde ocorre a amplificação e detecção dos produtos da PCR.

4.6.3.2 Amplificação e Detecção do VHB DNA

O DNA do VHB alvo e o DNA do PQ do HBV são amplificados e detectados simultaneamente por clivagem de uma sonda oligonucleotídica duplamente marcada específica para o alvo e específica para o PQ.

O termociclador do analisador COBAS® Taqman 48 aquece a mistura de reação para desnaturar as duplas cadeias de DNA produzidas e expor as sequências alvo do iniciador específico do DNA do VHB e do DNA do PQ do VHB. À medida que a mistura arrefece, os iniciadores formam um anel com o DNA alvo. Na presença de Mn^{2+} e de excesso desoxinucleotídeos trifosfatos (dNTPs) a polimerase termoestável prolonga os iniciadores ligados ao longo do modelo alvo para produzir uma molécula de DNA de dupla cadeia denominada amplicon. Este processo é repetido durante um determinado número de ciclos, que é pré programado no analisador COBAS® Taqman 48 para multiplicar a quantidade de DNA amplicon. Só ocorre amplificação na região do genoma do VHB que se encontra entre os iniciadores; não se amplifica todo o genoma do VHB.

A utilização de sondas fluorescentes duplamente marcadas permite a detecção em tempo real dos produtos amplificados da PCR através do monitoramento da emissão da intensidade dos corantes sinalizadores fluorescentes libertados durante o processo de amplificação. As sondas consistem de sequências oligonucleotídicas específicas para o VHB e específicas para o PQ do VHB com um corante sinalizador (“repórter”) e um corante supressor (“quencher”).

As sondas do VHB e do PQ do VHB estão marcadas com diferentes corantes sinalizadores fluorescentes. Quando estas sondas estão intactas, a fluorescência do corante sinalizador é suprimida pela proximidade do corante supressor devido aos efeitos de transferência de energia. Durante a PCR, a sonda hibridiza-se a uma sequência alvo e é clivada pela atividade da

nuclease 5' – 3' da polimerase do DNA termoe estável. Quando os corantes de sinalização e de supressão são libertados e separados, a supressão deixa de ocorrer e é aumentada a atividade fluorescente do corante sinalizador. A amplificação do DNA do VHB e do DNA do PQ do VHB é determinada independentemente em diferentes comprimentos de onda. Este processo é repetido durante um número designado de ciclos. O ciclo de PCR onde uma curva de crescimento inicia um crescimento exponencial está relacionado com a quantidade de material iniciador no princípio da PCR.

O analisador COBAS® Taqman 48 determina automaticamente a concentração do DNA do VHB, comparando o sinal do VHB com o sinal do PQ em cada amostra e controle. Os resultados são expressos em Unidade Internacionais (UI/ml) e visualizados no Cobas® Amplilink (software).

4.7 ANÁLISE DOS PRONTUÁRIOS:

Foram coletados as seguintes informações dos prontuários dos pacientes referentes ao período do estudo: anti HIV, anti HCV, AST, ALT, biópsia hepática, informações sobre a utilização ou não de medicamentos e procedência.

4.7.1 Aminotransferases (ALT/AST)

Os níveis das aminotransferases AST e ALT foram avaliados em relação ao número de vezes que ultrapassavam o limite superior da normalidade, visto que os exames foram realizados em diferentes laboratórios com diferentes valores de referência. Foram considerados apenas as enzimas com período máximo de 2 meses do dia da realização da sorologia/PCR.

4.7.2 Biópsia Hepática

Dos 128 pacientes incluídos no estudo, 47 foram submetidos a biópsia hepática por indicação médica. Nenhuma biópsia foi realizada para este estudo específico.

Todas as biópsias foram realizadas no Serviço de Hepatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe onde os critérios para a classificação histológica incluíram o estadiamento da fibrose e o grau de atividade inflamatória segundo a classificação Metavir (DESMET et al., 1994; GAYOTTO, 2000). O estadiamento da fibrose variou de 0 a 4 (0 - fibrose ausente; 1 - fibrose portal sem septos; 2- fibrose portal com poucos septos 3 - fibrose portal com numerosos septos e 4 - cirrose). O grau de atividade histológica foi, também, avaliado levando-se em consideração a atividade inflamatória na região portal, peri-portal e lobular,

usando-se os seguintes critérios: 0 - sem atividade histológica, 1 – atividade histológica leve; 2 – atividade histológica moderada; 3 – atividade histológica severa.

Para facilitar a análise estatística, os pacientes foram divididos dentro de cada grupo em duas categorias de acordo com o grau das lesões histológicas: 1- Sem fibrose significativa ou leve (F0 e F1) e 2- com fibrose clinicamente significativa ou severa (F2, F3 e F4). Os pacientes foram também subgrupados de acordo com o grau de atividade necroinflamatória em: 1- Sem atividade ou pouca atividade (A0 e A1) e 2- com atividade moderada a intensa (A2 e A3).

4.8 BIOSSEGURANÇA

Todas as análises laboratoriais foram realizadas com as condições de biossegurança necessárias. O descarte de material biológico e químico seguiu todas as normas de biossegurança já empregadas na Instituição.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram gerenciados no software EXCEL e os cálculos estatísticos foram realizados através do programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 19.0.

Utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk para avaliar o pressuposto de normalidade.

As variáveis categóricas foram apresentadas através de frequências e percentuais com intervalo de confiança de 95% quando pertinente. Para o teste de hipóteses relativas às mesmas, utilizou-se o teste Qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher quando mais adequado.

As variáveis quantitativas foram expressas em mediana e percentil 25 e 75. A comparação das variáveis quantitativas entre os grupos HBeAg positivos e HBeAg negativos foi realizada mediante o teste de Mann Whitney para amostras independentes ou teste t de Student.

Para a análise das correlações entre os níveis de marcadores laboratoriais utilizou-se o teste de Spearman (com valores entre 0 e 1, entendendo-se que quanto mais próxima de 1, mais perfeita é a correlação, onde são classificadas como fraca ($< 0,30$), regular ($0,30-0,60$), forte ($0,61-0,90$) e muito forte ($>0,90$). Considerou-se que as correlações possuíam significância estatística quando $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

Do total dos 136 pacientes portadores de hepatite B crônica selecionados para o estudo, finalizou-se com uma amostragem de 128 participantes após aplicação dos critérios de exclusão. Os dados relativos à caracterização geral destes pacientes encontram-se na **Tabela 1**.

Tabela 1- Características demográficas, epidemiológicas, clínicas e virológicas dos 128 pacientes portadores de hepatite B crônica acompanhados no Serviço de Hepatologia do HU/SE. Aracaju- 2012

Características	n	%
Idade		
18-39	64	50,0
40-59	54	42,2
≥60	10	7,8
Gênero		
Feminino	51	39,8
Masculino	77	60,2
Tratamento		
Sim	50	39,1
Não	78	60,9
Procedência		
Aracaju	47	36,7
Interior de Sergipe	78	60,9
Bahia	03	2,4
HBeAg+	25	19,5
VHB DNA>2000 UI/ML	40	31,3
HBsAg>250 UI/ML	115	89,8

Neste estudo, a faixa etária mais frequente foi de 18 a 39 anos com idade média de $38,9 \pm 11,8$ anos com mínima de 18 e máxima de 74 e houve predomínio do gênero masculino com 60,2% (77/128) pacientes. A idade média foi maior entre os HBeAg negativos do que nos HBeAg positivos ($39,6 \pm 11,8$ x $36,1 \pm 12$), porém, sem significância estatística ($p=0,19$).

Em relação ao tratamento, 39,1% (50/128) dos pacientes recebiam terapia antiviral.

A maioria dos pacientes selecionados era proveniente do interior do estado de Sergipe 60,9% (78/128), 36,7% (47/128) eram de Aracaju e 2,4% (3/128) do interior da Bahia.

Dos 128 pacientes, 25 (19,5 %) expressavam o antígeno “e” (HBeAg).

A quantificação do VHB por PCR em tempo real evidenciou valores que oscilaram de indetectável (< 12 UI/ml) até 445.000.000 UI/ml (log 8,65). Em 89,8 % (115/128) o HBsAg apresentou valores > 250 UI/ML.

Como na literatura a hepatite B crônica geralmente é dividida de acordo com a positividade ou não do antígeno “e” (HBeAg), para uma melhor caracterização e entendimento do perfil laboratorial destes pacientes, optou-se, neste estudo, por fazer esta estratificação.

Houve predomínio de pacientes com ALT alterada (>1 x LSN) no grupo HBeAg reagente 66,7% (14/21) quando comparados com o grupo HBeAg não reagente 11,3% (9/80) ($p=<0,0001$).

A distribuição dos valores das aminotransferases (ALT e AST) foram significativamente diferentes ($p<0,0001$) entre os grupos com e sem positividade para HBeAg. As medianas foram maiores no grupo HBeAg reagente tanto para ALT (1,81 contra 0,52 LSN, $p<0,0001$) como para AST (1,76 contra 0,57 LSN, $p<0,0001$).

Os pacientes que eram HBeAg reagente também foram os que apresentaram os maiores valores de carga viral do VHB DNA (mediana 1.650×10^6 contra 170 UI/ml, $p<0,0001$) e de HBsAg (mediana 9.840 contra 3.905 UI/ml, $p=0,01$).

Todos estes dados estão demonstrados na **Tabela 2 e 3** abaixo.

Tabela 2 - Comparação da idade e perfil laboratorial dos pacientes portadores de hepatite B crônica de acordo com o status do HBeAg. Aracaju-2012

Características	HBeAg positivo (n,%)	HBeAg negativo (n,%)	p
*IDADE (Média)	36,1 ± 12	39,6 ± 11,8	0,19
ALT			<0,0001
>1x LSN	14/21 (66,7%)	9/80 (11,3%)	
<1x LSN	7/21 (33,3%)	71/80 (88,7%)	
AST			<0,0001
>1x LSN	14/21 (66,7%)	7/80 (8,7%)	
<1x LSN	7/21 (33,3%)	73/80 (91,3%)	
VHB DNA			<0,0001
Indetectável	3/25 (12,0%)	34/103 (33,0%)	
[12 - 2.000 UI/ML]	3/25 (12,0%)	48/103 (46,6%)	
]2.000 – 20.000UI/ML]	2/25 (8,0%)	16/103 (15,5%)	
>20.000 UI/ML	17/25 (68%)	5/103 (4,9%)	
HBsAg			0,05
<250	0/25 (0%)	13/103 (12,6%)	
[250 – 2.000 UI/ML]	2/25 (8,0%)	23/103 (22,3%)	
]2.000 – 20.000 UI/ML]	20/25 (80%)	56/103 (54,4%)	
>20.000 UI/ML	3/25 (12,0%)	11/103 (10,7%)	
BIÓPSIA			
Atividade 0/1	4/7 (57,2%)	21/40 (52,5%)	0,82
Atividade 2/3	3/7 (42,8%)	19/40 (47,5%)	
Fibrose 0/1	6/7 (85,7%)	18/40 (45,0%)	0,05
Fibrose 2/3/4	1/7 (14,3%)	22/40 (55,0%)	

*Idade expressa como média ± desvio padrão

LSN = limite superior de normalidade

Teste Qui-quadrado ou exato de Fisher

Tabela 3 - Comparação entre os exames laboratoriais dos pacientes portadores de hepatite B crônica de acordo com o status do HBeAg. Valores expressos em mediana. Aracaju-2012

VARIÁVEIS	HBeAg positivo	HBeAg negativo	p*
	Mediana(P25%;P75%)	Mediana(P25%;P75%)	
ALT (LSN)	1,81 (0,77; 3,03)	0,52 (0,40;0,65)	<0,0001
AST (LSN)	1,76 (0,83; 3,12)	0,57 (0,48; 0,75)	<0,0001
VHB DNA (UI/ML)	1.650x10 ⁶ (2.725; 1,1x10 ⁸)	170 (0; 929)	< 0,0001
HBsAg (UI/ML)	9.840 (52,49; 13905,0)	3.905 (940; 11600)	0,01

LSN = Limite superior da normalidade
 Teste de Mann Whitney

Dos 128 pacientes com hepatite B crônica (definida como persistência do HBsAg por mais de 6 meses), 37 (28,9%) apresentaram uma carga viral indetectável, e destes, 34 (91,89%) estava fazendo o uso de antiviral no momento da coleta .

De acordo com as indicações clínicas, 47/128 (36,7%) pacientes foram submetidos à biópsia hepática.

A histologia hepática, segundo critérios METAVIR, revelou atividade inflamatória moderada a intensa (A2/3) em 22/47 pacientes (46,8%) e fibrose clinicamente significativa ou severa (F2/3/4) em 23/47 pacientes (48,9%).

A **Tabela 2** permitiu analisar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os graus de atividade quando comparados os grupos HBeAg positivo e HBeAg negativo (p=0,82).

Em relação à fibrose, o grupo HBeAg negativo apresentou níveis mais avançados de fibrose (F2/3/4) do que o grupo HBeAg positivo (p=0,05).

Considerando-se todos os pacientes (n=128), existiu uma fraca correlação entre os níveis de HBsAg e VHB DNA, conforme ilustrado no **Gráfico 1**.

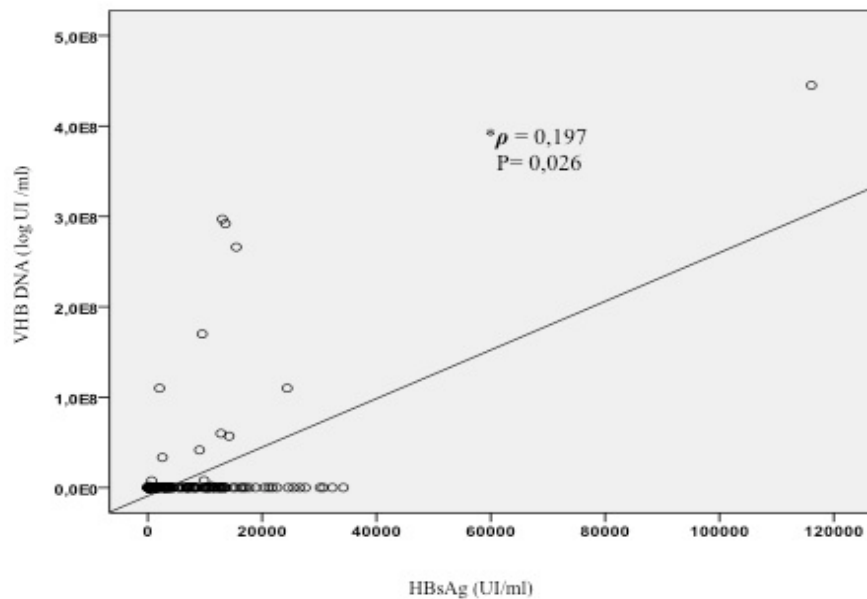


Gráfico 1: Correlação global entre os níveis de HBsAg e VHB DNA. N=128

A correlação entre os níveis de HBsAg e de VHB DNA continuou fraca e sem significância estatística quando se considerou apenas os pacientes HBeAg positivos ($*p=0,233$ $p=0,263$) e quando se considerou apenas os pacientes HBeAg negativos ($*p=0,162$ $p=0,101$).

Porém, existiu uma forte correlação entre o HBsAg e o VHB DNA nos pacientes que apresentaram o HBeAg reagente e VHB DNA >20.000 UI/ml ($*p=0,690$; $p=0,02$) como representado no **Gráfico 2**.

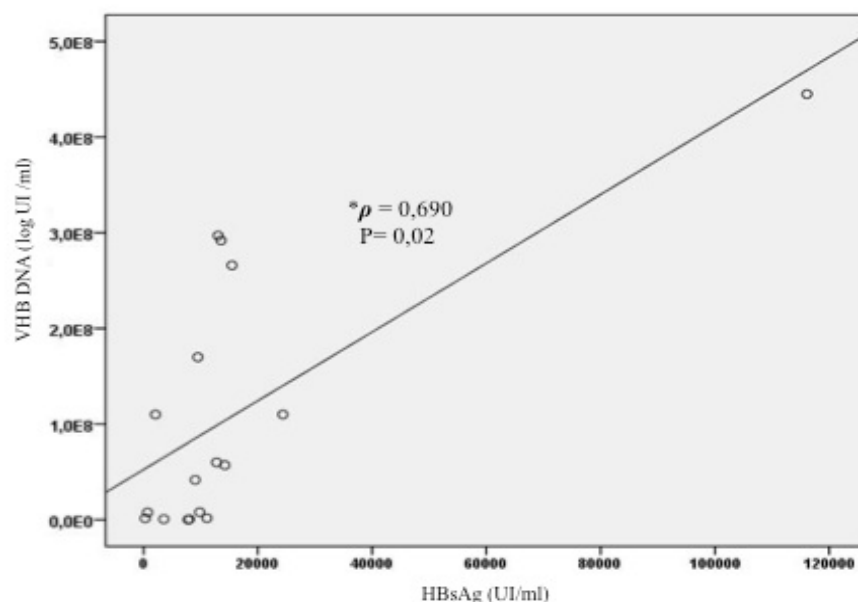


Gráfico 2- Correlação entre os níveis de HBsAg e VHB DNA >20.000 UI/ml nos pacientes HBeAg positivos

Quando esta mesma correlação (HBsAg x VHB DNA) foi realizada apenas com os pacientes que estavam fazendo o uso da terapia antiviral não existiu correlação estatisticamente significativa ($*p = -0,061$; $p = 0,673$) mas existiu uma correlação regular entre estes dois marcadores nos pacientes que não estavam em tratamento ($*p = 0,394$; $p < 0,001$). **Gráfico 3**

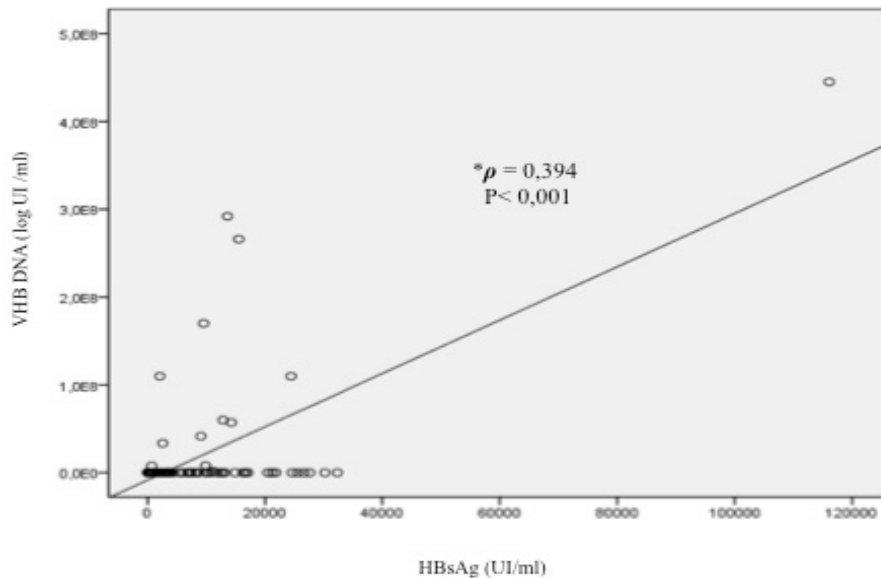


Gráfico 3- Correlação entre os níveis de HBsAg e VHB DNA nos pacientes que não estavam em tratamento.

Não se observou associação estatisticamente significativa entre os níveis de HBsAg e HBeAg, nem quando se considerou apenas os HBeAg positivos ($*p = 0,121$; $p = 0,565$) e nem apenas os HBeAg negativos ($*p = -0,067$; $p = 0,501$).

Quando se analisou apenas os pacientes HBeAg positivos, a correlação entre os valores de VHB DNA e de HBeAg foi regular como ilustrado no **Gráfico 4**.

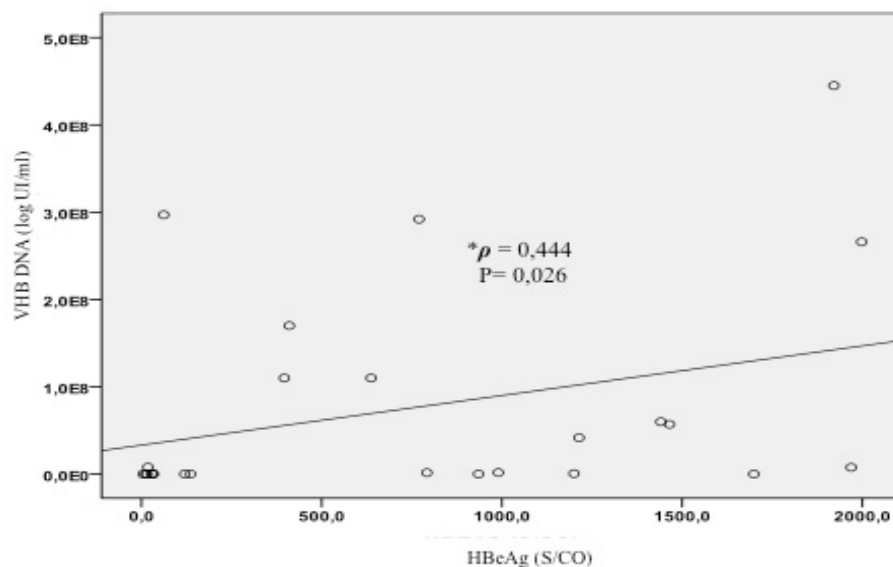


Gráfico 4- Correlação entre VHB DNA e HBeAg +

Não foi encontrada associação significativa entre o HBsAg e as aminotransferases ALT ($*p = 0,023$; $p = 0,817$) e AST ($*p = 0,007$; $p = 0,941$).

A **Tabela 4** mostra que a distribuição dos valores de HBsAg não diferiu entre os graus de fibrose ($p = 0,20$) e atividade ($p = 0,17$). Desse modo, mesmo os níveis de HBsAg sendo menores para os graus de atividade e fibrose mais avançadas, não houve significância estatística.

Tabela 4: Relação entre os níveis de HBsAg e grau de atividade e fibrose

VARIÁVEIS			p*
	Fibrose grau 0 ou 1	Fibrose grau 2 ou 3 ou 4	
HBsAg (UI/ml)	7927,5 (2725,8; 14532,5)	3785,0 (282,0; 11600,0)	0.20
	Atividade grau 0 ou 1	Atividade grau 2 ou 3	
HBsAg (UI/ml)	7370,0 (1865; 15080)	3787,5 (303,8; 11100)	0,17

Valores expressos na forma de mediana (p25%; p75%). Teste de Mann Whitney

6 DISCUSSÃO

Considerando que pesquisas que possibilitem uma melhor relação de custo-efetividade no manejo da hepatite B crônica são importantes para garantir a sustentabilidade do acesso universal ao tratamento (BRASIL, 2010), o presente estudo se propôs a investigar se o HBsAg, quando quantificado, poderia auxiliar ou ser uma alternativa para a carga viral do VHB DNA no monitoramento da replicação viral. Além de avaliar a relação entre a quantificação do HBsAg com o VHB DNA, foi realizada a correlação do HBsAg com o HBeAg, ALT, AST e biópsia hepática (atividade inflamatória e fibrose).

Neste estudo, mais da metade da população constitui-se de indivíduos do gênero masculino (60,2%). Blumberg (2006) também demonstrou que os homens evoluem mais frequentemente para doença crônica, enquanto as mulheres apresentam maiores taxas de clareamento viral.

O aumento da propensão dos homens para cronicidade pode ser explicado pelo efeito protetor do estradiol, o qual induz a produção do INF- γ , auxiliando na soroconversão para o anti-HBs e anti-HBe nos casos agudos, além do seu efeito antioxidante, promovendo um curso mais benigno nas mulheres. (SHIMIZU et al., 2007).

A idade média dos 128 pacientes foi de $38,91 \pm 11,8$, resultado semelhante ao encontrado por Alghamdi et al. (2013) em seu estudo. Quando observados os pacientes HBeAg positivos notou-se uma média de idade menor ($36,1 \pm 12$) do que a média dos pacientes HBeAg negativos ($39,6 \pm 11,8$). Isto provavelmente se associa à doença de mais longa data nos HBeAg negativos. Em uma população infectada há mais tempo normalmente surge um maior número de mutantes pré-core devido à pressão imunológica (CARMAN et al., 1997).

Foi alto o percentual de casos de hepatite crônica HBeAg negativo na população estudada (80,5%). Uma maior prevalência de HBeAg negativo também foi registrada em outros trabalhos por vários autores (ALGHAMDI et al., 2013; LIM et al., 2006; RESENDE et al., 2005). Possivelmente, a maioria dos pacientes com infecção pelo VHB tenha se infectado há muito tempo (CHU et al., 2003).

Em estudo anterior realizado no Serviço de Hepatologia da Universidade Federal de Sergipe, 87% dos pacientes portadores crônicos do VHB também foram HBeAg negativos (SANTOS et al., 2009).

Os níveis de VHB DNA e de HBsAg no nosso estudo foram mais elevados nos portadores HBeAg positivos, evidenciando a atividade de replicação viral neste pacientes, o que também foi registrado por vários autores (DEGUCHI et al., 2004; LEE et al., 2010; NGUYEN et al., 2009; POOVORAWAN et al., 2012).

A ALT também foi mais elevada nos pacientes HBeAg positivos. Como se sabe, os pacientes HBeAg positivos costumam apresentar maiores elevações de ALT sérica do que os HBeAg negativos, decorrente de uma maior viremia presente nos mesmos (TONETO, 2009).

Essa maior taxa de replicação viral, com provavelmente maior grau de inflamação nos pacientes HBeAg positivos também foi observada em pesquisas anteriores (BONINO; BRUNETO, 2003; TSUGENO et al., 2002).

Estudos em diferentes contextos clínicos da infecção por VHB tem sugerido a quantificação do HBsAg sérico como marcador substituto dos níveis do VHB DNA (ALGHAMDI et al., 2013) mas resultados conflitantes tem sido relatados (TERIAKY; AL-JUDAIBI, 2013).

Da mesma forma que Lee et al. (2010), em estudo realizado na Coreia com 565 pacientes, os nossos resultados sugerem que o HBsAg reflete o VHB DNA na fase inicial da replicação da hepatite B crônica quando os níveis de HBsAg, HBeAg e carga viral do VHB DNA estão elevados. Foi observada uma forte correlação entre os níveis de HBsAg e VHB DNA nos pacientes que eram HBeAg positivos e apresentaram uma carga viral elevada $>20.000\text{UI/ml}$. A maioria destes pacientes não estava em tratamento (82,35%) e encontrava-se, provavelmente, na fase da hepatite crônica HBeAg positiva (Imunoativa) caracterizada pela presença de altos títulos de HBeAg, HBsAg e VHB DNA. Isso pode ocorrer porque ainda não houve mutações na região pré core/core e nem a integração do DNA viral ao núcleo dos hepatócitos do hospedeiro. Essa integração ocorre na fase de portador inativo (BRASIL, 2010).

No entanto, é importante ressaltar que o número de pacientes com este perfil foi pequeno ($n=17$), sendo necessário estudos adicionais do tipo longitudinal, com uma amostragem maior, para elucidar a correlação do HBsAg com o VHB DNA de acordo com a fase clínica da hepatite B crônica.

No presente trabalho, a correlação global entre o HBsAg quantitativo e o VHB DNA foi fraca ($*p = 0,197$ $p = 0,026$), resultado também encontrado em outros estudos (LEE et al., 2010; LEE et al., 2012; MANESIS et al., 2011).

A correlação entre os níveis de HBsAg e de VHB DNA continuou fraca e sem significância estatística quando se considerou apenas os pacientes HBeAg positivos ($*p=0,233$ $p=0,263$) e quando se considerou apenas os pacientes HBeAg negativos ($*p=0,162$ $p=0,101$).

Foi demonstrado, em alguns trabalhos, que o HBsAg se correlaciona com os níveis de VHB DNA e com o cccDNA intra-hepático, mas que estes podem variar nas diferentes fases da doença (JAROSZEWICZ et al., 2010; NGUYEN et al., 2010; THOMPSON et al., 2010).

Deguchi et al. (2004) relataram que o HBsAg se correlaciona com o VHB DNA. Ozaras et al. (2008) também informaram que existe boa correlação entre estes dois marcadores e sugeriram que o HBsAg quantitativo poderia substituir o VHB DNA no monitoramento da carga viral.

Contradizendo as afirmativas anteriores, Kuhns et al. (2004) e Ganji et al. (2011) não encontraram correlação significativa entre o HBsAg e o VHB e o estudo de Ozdil et al. (2009) mostrou uma correlação negativa entre eles.

Acredita-se que esta discrepância nos resultados de correlação entre o HBsAg e o VHB DNA possa ocorrer devido a natureza altamente dinâmica e complexa do VHB, nas diferentes fases da história natural da hepatite B crônica, podendo resultar em alguns portadores inativos reativando a replicação do VHB e vice-versa (JAROSZEWICZ, 2010), e que também esteja associada aos genótipos e mutações do VHB no gen S e core (LEE, 2010).

Apesar de não realizar a genotipagem neste estudo, podemos esperar que a maioria dos pacientes sejam infectados com o genótipo A porque este foi o genótipo mais frequente (81%) em estudo realizado no serviço de Hepatologia do Hospital Universitário de Sergipe (SENA, 2010).

Outra possível explicação para a falta de correlação entre os títulos de HBsAg e de VHB DNA é que a produção do HBsAg pelo cccDNA é independente da replicação do vírus (ALGHAMDI, 2013; CHAN et al., 2007). Além do vírion completo (partícula DANE), a célula infectada libera também as partículas não infecciosas incompletas (esféricas e filamentosas) que são também constituídas de HBsAg. Todas as três formas são detectadas no soro com ensaios comerciais de HBsAg (LEE; AHN, 2011).

Existe também o fato de que maioria dos antivirais consegue eliminar a atividade da polimerase, inibindo a produção do vírus, mas pode não afetar a produção do HBsAg pois os níveis de cccDNA são preservados (ALGHAMDI, 2013; CHAN et al., 2007; CHAN et al., 2011., NGUYEN, 2009). Esta interferência do antiviral na correlação entre o HBsAg e o VHB DNA foi evidenciada no nosso estudo. Dos 37 pacientes portadores de hepatite B crônica (HBsAg positivo por mais de 6 meses) que apresentaram carga viral indetectável, (91,9%) estava fazendo o uso de antiviral no momento da coleta. Além disso, foi observada uma correlação regular entre o HBsAg e o VHB DNA nos pacientes que não estavam em tratamento (* $p=0.0394$;

$p < 0,001$) e não existiu correlação significativa nos pacientes em tratamento ($*p = -0,061$; $p = 0,673$).

Para Lee; Ahn (2011), a quantificação seriada do HBsAg nos casos em que o VHB DNA é indetectável é muito útil e pode ser utilizada para determinar o ponto final da terapia e validar a durabilidade dos agentes virais. O declínio dos níveis de HBsAg durante a terapia é um forte preditor de resposta viral sustentada após o tratamento.

Além disso, a quantificação do HBsAg pode identificar com antecedência, os portadores crônicos da hepatite B HBeAg (-), que são susceptíveis de reativar e que podem se beneficiar da terapia pois uma proporção significativa de pacientes que soroconvertem o HBeAg e negativam o VHB DNA reativam a hepatite B após o tratamento (JAROSZEWICZ et al., 2010; MARTINOT-PEIGNOUX et al., 2013).

Borgniet et al. (2009), em estudo retrospectivo constatou que a cinética de degradação do HBsAg é mais lenta que a de VHB DNA; a eliminação do HBsAg ocorre vários anos (1 a 5 anos) após o desaparecimento do VHB DNA do soro. Essa cinética de decomposição também foi encontrada por Kohmoto et al., em 2005. Em comparação com o VHB DNA, os níveis de HBsAg são significativamente mais estáveis ao longo do tempo (LOGGI et al., 2013).

Segundo Ben Slama et al. (2010), a concentração sérica do HBsAg está fortemente correlacionado com o cccDNA e ele fornece informações adicionais ao VHB DNA, não só porque reflete a produção de partículas virais infecciosas, mas também o número de células infectadas.

Alguns estudos mostram que baixos níveis de HBsAg no pré tratamento é melhor do que a quantificação do VHB DNA para identificar os pacientes que terão uma melhor resposta à terapia sem o risco subsequente de reativação (CHAN et al., 2007; LOGGI et al., 2013; MARTINOX-PEIGNOUX et al., 2013).

A informação fornecida pela quantificação do HBsAg no soro é diferente mas complementar à do VHB DNA no soro. Assim, a quantificação de HBsAg não deve ser utilizada como um substituto para as medidas de VHB DNA na prática clínica (CHAN et al., 2011; JANSSEN et al., 2012; LOGGI et al., 2013; TERIAKY; AL-JUDAIBI, 2013).

A utilização combinada dos dois marcadores pode ser muito útil para definir a condição específica do portador de VHB ao longo das fases altamente dinâmicas da infecção crônica por VHB (JANSSEN et al., 2012; MARTINOT-PEIGNOUX et al., 2013).

Neste estudo não existiu uma correlação estatisticamente significativa entre os níveis circulantes de HBsAg e HBeAg, nem quando se considerou apenas os HBeAg positivos ($*p = 121$ $p = 0,565$). Mas o nível de HBsAg foi maior nos pacientes HBeAg (+), do que nos HBeAg

(-), o que também foi evidenciado por outros autores (CHAN et al., 2011; MARTINOT-PEIGNOUX et al., 2013).

Este resultado não está de acordo com os achados Deguschi et al. (2004), que encontrou uma correlação regular entre estes dois marcadores ($r=0,563$ $p<0,01$).

Um estudo realizado na Gambia, onde os pacientes portadores crônicos do VHB foram acompanhados por 19 anos, concluiu que os níveis de HBeAg e do VHB DNA baixam mais rápido do que o do HBsAg (MENDY et al., 2008).

Nosso trabalho comprovou a existência de uma correlação regular entre o VHB DNA e o HBeAg ($*p = 0,444$ $p= 0,026$).

A presença do antígeno “e” geralmente está associada com a positividade do DNA viral no soro e com alto risco de transmissão da infecção. Seu desaparecimento na fase aguda da doença, sucedido do desaparecimento do HBsAg, é sugestivo de evolução para a cura (DECKER, 1998). No entanto, o HBeAg pode estar ausente em alguns portadores crônicos da hepatite B, sem significar, necessariamente, remissão da doença. Isso ocorre devido a mutações na região pré-Core/Core do genoma viral podendo resultar em pacientes com carga viral elevada apesar do antígeno “e” ausente (OMATA, 1991; PINHO, 2003; TONG et al., 2005; OZARAS, 2008).

Assim como no estudo de Jaroszewicz et al. (2010) e de Thompson et al. (2010), não foi encontrada associação do HBsAg com as transaminases. Tanto a ALT como AST são enzimas associadas a danos celulares. A alanina aminotransferase (ALT), enzima encontrada no citoplasma celular, é um indicador utilizado na prática clínica para avaliar injúria hepatocelular. Sabe-se que é mais específica que a aspartato aminotransferase (AST), pois essa última encontra-se não apenas no citoplasma, mas também nas mitocôndrias; pode também ser detectada em outros tecidos além do fígado, como musculatura estriada, miocárdio, cérebro e rins (GIANNINI, 2005).

Neste estudo, os níveis mais avançados de fibrose (F2/F3/F4) foram encontrados nos pacientes HBeAg negativos em comparação com os HBeAg positivos ($p= 0,05$) e isto pode ocorrer porque, provavelmente, o grupo HBeAg negativo tem hepatite B mais antiga e pode ter sofrido mais inflamações que o grupo HBeAg positivo (HONG et al., 2014).

A distribuição dos valores de HBsAg não diferiu entre os graus de fibrose ($p=0,20$) e atividade ($p=0,17$). Desse modo, mesmo os níveis de HBsAg sendo menores para os graus de atividade e fibrose mais avançadas, não houve significância estatística. Martinot-Peignoux et al. (2013), Poovorawan et al. (2012), e Seto et al. (2012) também encontraram menores níveis de HBsAg nas fibroses mais avançadas. A explicação para este achado ainda não está clara. Pode

ser devido a retenção de HBsAg dentro das células, em vez de secreção (MARTINOT-PEIGNOUX et al., 2013), pode está relacionada com as diferentes fases imunológicas da hepatite B crônica (SETO et al., 2012) e pode ser devido a alteração prejudicada da síntese de HBsAg por alguns hepatócitos (HONG et al., 2014).

A biópsia hepática é o padrão ouro para determinar o grau de lesão hepática, sendo que múltiplas etiologias podem ser responsáveis por lesões hepáticas em um determinado paciente. O VHB replica nos hepatócitos, mas não é diretamente citopático e as lesões no fígado geralmente são ocasionadas pelo sistema imunológico do paciente, na tentativa de eliminar o vírus (MANI; KLEINER ; 2009). Shafaei et al. (2013) destaca ainda que além da resposta imune, a gravidade da lesão hepática pode estar relacionada a fatores virais, tais como o genótipo de VHB e mutações nas regiões pré-core / core promoter.

Frente aos grandes desafios que a complexa infecção pelo vírus da hepatite B impõe como problema de saúde pública, pesquisas sobre o diagnóstico e monitoramento desta infecção ainda são necessárias. Quanto melhor for as condições de monitoramento e intervenção terapêutica, menores serão as taxas de morbi-mortalidade, que ainda permanecem alarmantes.

Sem dúvida que estudos futuros com aumento de casuística e outras correlações serão necessários para ratificação dos resultados e contribuirão para esclarecimentos de questões ainda permanecem divergentes com o intuito de se fazer o uso máximo do HBsAg quantitativo, para elucidar ainda mais o seu papel na prática clínica.

7 CONCLUSÃO

- Foi verificada fraca correlação entre os níveis séricos de HBsAg e a Carga Viral do VHB DNA;
- Detectou-se forte correlação entre o HBsAg e o VHB DNA VHB DNA em pacientes HBeAg positivos e carga viral >20.000UI/ml;
- Existiu uma correlação regular entre o HBsAg e o VHB DNA nos pacientes que não estavam em tratamento;
- Não há correlação entre os níveis séricos do HBsAg e do HBeAg independente da positividade do HBeAg;
- Não foi verificada associação entre o HBsAg e os níveis de transaminases (ALT, AST);
- Não existiu relação do HBsAg com o grau de atividade inflamatória e nem com o estágio de fibrose na biópsia hepática.

REFERÊNCIAS

ALGHAMDI, A.; AREF, N.; EL-HAZMI, M.; AL-HAMOUDI, W.; ALSWAT, K.; HELMY, A.; SANAI, F.M.; ABDO, A.A. Correlation between Hepatitis B surface antigen titers and HBV DNA levels. **Saudi J Gastroenterol**, v.19, p.252-257, 2013.

ALVARIZ, R.C. Hepatite crônica pelo vírus B (HBV). **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v.5, p.16-35, 2006.

ARAUZ-RUIZ, P.; NORDER, H.; ROBERTSON, B.H.; MAGNIUS, L.O. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. **J Gen Virol**, v.83, p.2059-2073, 2002.

BEN SLAMA, N.; AHMED, S.N.; ZOULIN, F. Quantification de l'antigène HBs: signification virologique. **Gastroentérologie Clinique et Biologique**, v.34, p.112-118, 2010.

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

BLUMBERG, B.S. The Curiosities of Hepatitis B Vírus: Prevention, Sex Ratio, and Demography. **Proc Am Thorac Soc**, v.3, p.14-20, 2006.

BONINO, F.; BRUNETTO, M.R. Chronic HBeAg negative, anti-HBe positive Hepatitis B: An overview. In: EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. **J.Hepatol**, v.38, p.533-540, 2003.

BONINO, F.; BRUNETTO, M.R.; COLOMBATTO, P.; MORICONI, F.; TORRESANI, E.; LUNGHI, G. et al. Use of the Elecysys HBsAg II assay for simple and accurate quantification of HBsAg levels in sera of patients infected with HBV. **Hepatol Int**, v.3, p.108, 2009.

BORGNIET, O. et al. Clearance of serum HBsAg and anti-HBs seroconversion following antiviral therapy for chronic hepatitis B. **J. Med. Virol**, v.81, p.1336-1342, 2009.

BOWDEN, D.S.; THOMPSON, A.J. New developments in HBV molecular diagnostics and quantitative serology. **Hepatol Int**, v. 2, p. 3 – 11, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Programa Nacional para a Prevenção e o Controle das Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfecções**. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Hepatites Virais: O Brasil está atento**. Brasília, 2008

BRUNETTO, M.R. A new role an old marker, HBsAg. **Journal of Hepatology**, v.52, n.4, p.475-477, 2010.

BRUSS, V. Envelopment of the hepatitis B virus nucleocapsid. **Virus Res**, v.106, p.199-209, 2004.

BRUSS, V. Hepatitis B virus morphogenesis. **World Journal of Gastroenterology**, v.13, n.1, p.65-73, 2007.

BRUSS, V; GANEM, D. The role of envelope proteins in hepatitis B virus assembly. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v.88, n.3, p.1059-1063, 1991.

BUTI, M.; FRÍAS, F.R.; ESTEBAN, R. Cuantificación del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B: implicaciones clínicas. **Med Clin (Barc)**, v.138, n.11, p.483-488, 2012.

CARMAN, W.F. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. **J Viral Hepat**, v.4, n.1, p.11-20, 1997.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. A comprehensive immunization Strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP); Part 2: Immunization of Adults. MMWR 55 (No. RR-16), p.1-25, 2006.

CHAN, H.L.; WONG, V.W.S.; TSE, A.M.L.; TSE, C.H.; CHIM, A.M.L.; CHAM, H.Y.; WONG, G.L.H.; SUNG, J.J.Y. Serum Hepatitis B Surface Antigen Quantitation Can Reflect Hepatitis B Virus in the Liver and Predict Treatment Response. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 5, p. 1462-1468, 2007.

CHAN, H.L.; THOMPSON, A.; MARTINOT-PEIGNOUX, M.; PIRATVISUTH, T.; CORNBERG, M.; BRUNETTO, M.R.; TILLMANN, H.L.; KAO, J.; JIA, J.; WEDEMEYER, H.; LOCARNINI, S.; JANSSEN, H.L.A.; MARCELLIN, P. Hepatitis B surface antigen quantification: Why and how to use it in 2011 – A core group report. **Journal of Hepatology**, v. 55, p. 1121 – 1131, 2011.

CHANG, M. Hepatitis B virus infection. Seminars in Fetal & Neonatal. **Medicine**, v.12, p.160-167, 2007.

CHEN, W.N.; OON, C.J. Human hepatitis B virus mutants: significance of molecular changes. **FEBS Lett**, v.453, p.237-242, 1999.

CHU, C.J.; KEEFFE, E.B.; HAN, S.H.; PERRILLO, R.P.; MIN, A.D.; SOLDEVILA-PICO, C.; et al. Hepatitis B virus genotypes in the United States: Results of a nationwide study. **Gastroenterology**, v.125, p.444-451, 2003.

CLARKE, B.; BLOOR, S. Molecular Genotyping of Hepatitis B Virus. **J.Clinl Virol**, v.25, p.41-45, 2002.

CHIN, R.; LOCARNINI, S. Treatment of chronic hepatitis B: current challenges and future directions. **Rev. Med. Virol**, v.13, p.255-272, 2003.

CHEINQUER, H. Hepatites Virais agudas e Crônicas. In: **Tratado de clinica médica**. São

Paulo, Roca, v.1, p.1287-307, 2006.

CHWLA, Y. Hepatitis B virus: inactive carriers. **Virol. J**, v.2, p.82-86, 2005.

CLEMENS, S.A.C. et al. Soroprevalência para hepatite A e hepatite B em quatro centros no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, v.33, p.1-10, 2000.

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

DECKER, R.H. Diagnosis of acute and chronic hepatitis B. In: ZUCKERMAN AJ, THOMAS HC, editors. **Viral hepatitis: Scientific basis and clinical management**. 2nd ed. London: Churchill Livingstone, p. 201-215, 1998.

DEGUCHI, M.; YAMASHITA, N.; KAGITA, M.; ASARI, S.; IWATANI, Y.; TSUCHIDA, T.; IINUMA, K.; MUSHAHWAR, I.K. Quantitation of hepatitis B surface antigen by an automated chemiluminescent microparticle immunoassay. **Journal of Virological Methods**, v.115, p.217-222, 2004.

DESMET, V.J.; GERBER, M.; HOOFNAGLE, J.H.; MANNS, M.; SCHEUER, P.J. Classification of chronic hepatitis diagnosis, grading and staging. **Hepatology**, v.19, n.6, p.1513-1520, 1994.

DIAZ, R.S.; MENDONÇA, J.S. Mensuração do HBV DNA. I Consenso da SBI para Diagnóstico e Manuseio da Hepatite B e Delta. **Braz J Infec Dis**, v.10, n.1, p.32-35, 2006.

European Association for the Study of the Liver (EASL). EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B. **Journal of Hepatology**, v.50, n.2, p.227-242, 2009.

FATTOVICH, G. Natural history of hepatitis B. **J. Hepatology**, v.39, p.50-58, 2003.

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

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

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

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

GANEM, D.; PRINCE, A.M. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. **N Engl J Med**, v.350, p. 1118-1129, 2004.

GANJI, A.; ESMAEILZADEH, A.; GHAFARZADEGAN, K.; HELALAT, H.; RAFATPANAH, H.; MOKHTARIFAR, A. Correlation between HBsAg quantitative assay results and HBV DBA levels in chronic HBV. **Hepat Mon**, v.11, n.5, p.342-345, 2011.

GARBUGLIA, A.R.; ANGELETTI, C. et al. Comparison of Versant HBV DNA 3.0 and Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan Assays for Hepatitis B DNA Quantitation: Possible Clinical Implications. **Journal of Virological Methods**, v.146, p. 274-280, 2007.

GAYOTTO, L.C.C. Comitê SBP/SBH. - Visão histórica e consenso Nacional sobre classificação das hepatites crônicas. **GED**, v.19, n.3, p.137-140, 2000.

GAYOTTO, L. Biópsia Hepática. In: **Doenças do Fígado e Vias Biliares**. São Paulo. Atheneu, p.151-163, 2001.

GIANNINI, E.G.; TESTA, R.; SAVARINO, V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. **CMAJ**, v.172, p.367-379, 2005.

GJØRUP, I.E.; SKINHØJ, P. New aspects on the natural history of chronic hepatitis B infection: implication for therapy. **Scand. J. Infect. Dis**, v.35, p.808-813, 2003.

GOMES, S.A. Genoma Viral Hepatite B. In FOCACCIA, R. **Tratado de Hepatites Virais**. São Paulo: Atheneu, p.119-125, 2003.

GONÇALES, N.S.L.; CAVALHEIRO, N.P. Marcadores Sorológicos da Hepatite B e sua Interpretação. I Consenso da SBI para Diagnóstico e Manuseio da Hepatite B e Delta. **Braz J Infec Dis**, v.10, n.1, p.19-22, 2006.

GONÇALES, N.S.L.; GONÇALES Jr, F.L. Perfis Sorológicos Anômalos, Genótipos e Mutantes VHB. **Braz J Infec Dis**, v.10, n.1, p.23-28, 2006.

HATZAKIS, A.; MAGIORKINIS, E.; HAIDA, C. HBV virological assessment. **J. Hepatol**, v.44, p.71-76, 2006.

JANSSEN, H.L.A.; SONNEVELD, M.J.; BRUNETTO, M.R. Quantification of serum hepatitis B surface antigen: is it useful for the management of chronic hepatitis B? **GUT**, v.61, n.5, p. 641-645, 2012.

JAROSZEWICZ, J.; SERRANO, B.C.; WURSTHORN, K.; DETERDING, K.; SCHLUE, J.; RAUPACH, R.; FLISIAK, R.; BOCK, C.T.; MANNS, M.P.; WEDEMEYER, H.; CORNBERG, M. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels in the natural history of hepatitis B virus (HBV) – infection: A European perspective. **Journal of Hepatology**, v.52, n.4, p.514-522, 2010.

KAO, J.H. Hepatitis B viral genotypes: Clinical relevance and molecular characteristics. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.17, p.643-650, 2002.

KEW, M. C. Interaction between hepatitis B and C viroses in hepatocellular carcinogenesis. **Journal of Viral Hepatitis**, v.13, p.145-149, 2006.

KIFFER, C.R.V.; VIANA, G.B.; CHEINQUER, H. Epidemiologia. In FOCACCIA, R. **Tratado de Hepatites virais**. São Paulo, p.127-132, 2003.

KOHMOTO, M. et al. Quantitative detection of hepatitis B surface antigen by chemiluminescent microparticle immunoassay during lamivudine treatment of chronic hepatitis B virus carriers. **J. Med. Virol**, v.75, p.235-239, 2005.

KRAMVIS, A.; KEW, M.C. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. **Journal of Viral Hepatitis**, v.12, p. 456-464, 2005.

KREUTZ, C. Molecular, immunological and clinical properties of mutated hepatitis B viroses. **J Cell Mol Med**, v.1, n.6, p.113-143, 2002.

KUHNS, M.C.; KLEINMAN, S.H.; MCNAMARA, A.L.; RAWAL, B.; GLYNN, S.; BUSCH, M.P. Lack of correlation between HBsAg and HBV DNA levels in blood donors who test positive for HBsAg and anti-HBc: implications for future HBV screening policy. **Transfusion**, v.44, p.1332-1339, 2004.

KURBANOV, F.; TANAKA, Y.; MIZOKAMI, M.: Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus. **Hepatol Res**, v.40, n.1, p.14-30, 2010.

LEE, W.M. Hepatitis B virus infection. **N Engl J Med**, v.24, p.1733-1745, 1997.

LEE, H.J.; KIM, S.Y.; LEE, S.M.; HEO, J.; KIM, H.H.; CHANG, C.L.; LEE, E.Y.; SON, H.C. Elecsys hepatitis B surface antigen quantitative assay: performance evaluation and correlation with hepatitis B virus DNA during 96 weeks of follow-up in chronic hepatitis B patients. **Ann Lab Med**, v.32, p.420-425, 2012.

LEE, J.H.; KIM, S. J.; AHN, S.H; et al. Correlation between quantitative serum HBsAg and HBV DNA test in Korean patients who showed high level of HBsAg. **J Clin Pathol**, v.63, n.11, p.1027-1031, 2010.

LEE, J.M.; AHN, S.H. Quantification of HBsAg: Basic virology for clinical practice. **World Journal of Gastroenterology**, v.17, n.3, p.283-289, 2011.

LIAW, Y-F. Clinical Utility of Hepatitis B Surface Antigen Quantitation in Patients With Chronic Hepatitis B: A Review. **Hepatology**, v.53, p.2121-2129, 2011.

LIAW, Y.F.; CHU, C.M. Hepatitis B virus infection. **Lancet**, v.373, p.582-592, 2009.

LIM, C.K.; TAN, J.T.M.; KHOO, J.B.S.; RAVICHANDRAN, A.; LOW, H.M.; CHAN, Y.C.; TON, S.H. Correlations of HBV genotypes, mutations affecting HBeAg expression and HBeAg/anti-HBe status in HBV carriers. **Int J Med Sci**, v.3, p.14-20, 2006.

LOCARNINI, S. Hepatitis B viral resistance: mechanisms and diagnosis. **Journal of Hepatology**, v.39, p.124-132, 2003.

LOCARNINI, S. Molecular virology of hepatitis B virus. **Semin. Liver Dis**, v.24, Supp.1, p.3-10, 2004.

LOGGI, E.; BIHL, F.K.; CURSARO, C.; GRANIERI, C.; GALLI, S.; BRODOSI, L.; FURLINI, G.; BERNARDI, M.; BRANDER, C.; ANDREONE, P. Virus-Specific Immune

Response in HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B: Relationship with Clinical Profile and HBsAg Serum Levels. **Plos One**, v.8, n.6, p. 1-7, 2013.

LOK, A.S. The maze of treatments for hepatitis B. **N. Engl. J. Med.**, Boston, n.352, p. 2743-2746, 2005.

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

LOPES, T.G.; SCHINONI, M.I. Aspectos gerais da hepatite B. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.10, n.3, p.337-344, 2011.

MAHONEY, F.J. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.12, n.2, p.351-366, 1999.

MALIK, A.H; LEE, W.M. Chronic hepatitis B virus infection: treatment strategies for the next millennium. **Annals of Internal Medicine**, v.132, p.723-731, 2000.

MANI, H.; KLEINER, D.E. Liver biopsy findings in chronic hepatitis B. **Hepatology**, v.49, p.61-71, 2009.

MANESIS, E.K.; PAPATHEODORIDIS, G.V.; TINIAKOS, D.G.; HADZIYANNIS, E.S.; AGELOPOULOU, O.P.; SYMINELAKI, T.; PAPAIOANNOU, C.; NASTOS, T.; KARAYIANNIS, P. Hepatitis B surface antigen: relation to hepatitis B replication parameters in HBeAg-negative chronic hepatitis B. **Journal of Hepatology**, v.55, p.61-68, 2011.

MARTINOT-PEIGNOUX, M.; LAPALUS, M.; ASSELAH, T.; MARCELLIN, P. The role of HBsAg quantification for monitoring natural history and treatment outcome. **Liver International**, v.33, p.125-132, 2013.

MENDONÇA, J.S; VIGANI, A.G. História Natural da Hepatite B Aguda e Crônica. **Braz J Infec Disw**, v.10(Suppl 1), p.15-18, 2006.

MENDY, M.E; McCONKEY, S.J.; VAN DER SANDE, M.A.B.; CROZIER, S.; KAYE, S.; JEFFRIES, D.; HALL, A.J.; WHITTLE, H.C. Changes in viral load and HBsAg and HBeAg status with age in HBV chronic carriers in The Gambia. **Virology Journal**, v.5, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Hepatites virais. Boletim Epidemiológico Hepatites virais. Brasília-DF, 2012.

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

MOUCARI, R.; MARCELLIN, P. Quantification of hepatitis B surface antigen: a new concept for the management of chronic hepatitis B. **Liver International**, v.31, p.122-128, 2011.

MOUCARI, R.; MACKIEWICZ, V.; LADA, O.; RIPAULT, M.P.; CASTELNAU, C.; MARTINOT-PEIGNOUX, M.; DAUVERGNE, A.; ASSELAH, T.; BOYER, N.; BEDOSSA, P.; VALLA, D.; VIDAUD, M.; NICOLAS-CHANOINE, M.H.; MARCELLIN,

P. Early Serum HBsAg Drop: A Strong Predictor of Sustained Virological Response to Pegylated interferon Alfa-2A in HBeAg-Negative Patients. **Hepatology**, v.49, p.1151-1157, 2009.

MURRAY, P.; ROSENTHAL, K. et al. **Medical Microbiology**, v.66, p.585- 592, 2005.

NGUYEN, T.; DESMOND, P.; LOCARNINI, S. The role of quantitative hepatitis B serology in the natural history and management of chronic hepatitis B. **Hepatol Int**, v.3 (suppl 1), p.5-15, 2009.

NGUYEN, T.; THOMPSON, A.J.V.; BOWDEN, S.; CROAGH, C.; BELL, S.; DESMOND, P.V.; LEVY, M.; LOCARNINI, S.A. Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: a perspective on Asia. **Journal of Hepatology**, v.52, p.508-513, 2010.

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

OMATA, M.; EATHA, T.; YOKOSUKA, O.; HOSODA, K.; OHTO, M. Mutations in the precore region of hepatitis B virus DNA in patients with fulminant and severe hepatitis. **N Engl J Med**, v.324, p.1699-1704, 1991.

OZARAS, R.; TABAK, F.; TAHAN, V.; OZTURK, R.; AKIN, H.; MERT, A.; SENTURK, H. Correlation of Quantitative Assay of HBsAg and HBV DNA Levels During Chronic HBV Treatment. **Dig Dis Sci**, v.53, p.2995-2998, 2008.

OZDIL, B.; COSAR, A.M.; AKKIZ, H.; SANDIKCI, M.U.; KECE, C. Negative correlation between viral load and HBsAg levels in chronic HBV-infected patients. **Arch Virol**, v.154, p.1451-1455, 2009.

PAN, C.Q.; ZHANG, J.X. Natural history and clinical consequences of hepatitis B virus infection. **Int. J. Med. Sci**, v.2, n.1, p.36-40, 2005.

PAPATHEODORIDIS, G.V. et al. Course of virologic breakthroughs under long-term lamivudine in HBeAg-negative precore mutant HBV liver disease. **Hepatology**, v.36, n.1, p.219-226, 2002.

PARANÁ, R.; CODES, L.; ALMEIDA, D. Epidemiologia das doenças hepáticas: Hepatites por vírus hepatotróficos. In: LOPES, A.C(ed): **Tratado de Clínica Médica**. São Paulo, Roca, v.1, p.1181-1189, 2006.

PARANÁ, R.; SCHINONI, M.I.; OLIVEIRA, A.P. Diagnóstico e monitorização da Hepatite B. In: **O ABC das Hepatites: Manual Clínico para o manuseio, terapia e prevenção da hepatite B**. São Paulo: Bristol-Myers, 2008.

PAWLITSKY, J.M.; DUSHEIKO, G.; HATZAKIS, A. et al. Virological Monitoring of Hepatitis B Virus Therapy in Clinical Trials and Practice: recommendations for a standardized approach. **Gastroenterology**, v.134, p.405-415, 2008.

PERRILO, R.P. Hepatitis B surface antigen quantification as a current-day paradox: Obtaining the gold in the face of diminishing returns. **Hepatology**, v.49, n.4, p.1063-1065, 2009.

PINHO, J.R.R. Vírus da hepatite B. In: Luiz Caetano da Silva (ed): **Hepatites agudas e crônicas**. 3 edição. Savier, p.15-23, 2003.

POOVORAWAN, K.; TANGKIJVANICH, P.; POOVORAWAN, Y.; KOMOLMITR, P. Relationship between Viral Antigen, HBV DNA Level and Hepatic Fibrosis in HBV Infected Patients during the Natural History of Chronic Hepatitis B. **Thai Journal of Gastroenterology**, v.13, n.2, p.73-78, 2012.

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

REZENDE, R.E.F.; FONSECA, B.A.L.; RAMALHO, L.N.Z.; ZUCOLOTO, S.; PINHO, J.R.R.P.; BERTOLINI, D.A.; MARTINELLI, A.L.C. The precore mutation is associated with severity of liver damage in Brazilian patients with chronic hepatitis B. **J Clin Virol**, v.32, p.53-59, 2005.

RIBEIRO, N.R.C.; CAMPOS, G.S.; ANGELO, A.L.D.; BRAGA, E.L.; SANTANA, N.; SOARES, M.M.S.; PINHO, J.R.R.; CARVALHO, W.A.A.; LYRA, L.G.C.; LYRA, A.C. Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection. **Liver international**, v. 26, p.636-42, 2006.

ROTMAN, Y.; BROWN, T.A.; HOOFNAGLE, J.H. Evaluation of the patient with hepatitis B. **Hepatology**, v.49(5 Suppl), p.22-27, 2009.

SANTOS, P.; SANTANA, N.; NASCIMENTO, P.; LEITE, H.; FRANÇA, A. Avaliação de pacientes AgHBs positivos no serviço de Hepatologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS). *Revista da AMRIGS*, v.53, n.3, p.2009.

SCHAEFER, S. Hepatitis B virus: significance of genotypes. **J. Viral Hepat**, v.12, p.111-124, 2005.

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

SENA, L.O.C. **Genotipagem do Vírus da Hepatite B em pacientes do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Sergipe, Universidade Federal de Sergipe, 2010. 72p.

SHAFAEI, S.; AMIRI, S. S.; HAJIAHMADI, I.; SADEGHI-HADDAD- ZAVAREH, M.; BAYANI, M. Histological grading and staging of liver and its relation to viral loads in chronic anti-HBe positive hepatitis. **Caspian J Intern Med**, v.4, n.3, p.681-685, 2013.

SHI, Y.H.; SHI, C.H. Molecular characteristics and stages of chronic hepatitis B virusinfection. **World Journal of Gastroenterology**, v.15, n.25, p.3099-3105, 2009.

SHIMIZU, I.; KOHNO, N.; TAMAKI, K.; SHONO, M.; HUANG, H.W.; HE, J.H.; YAO, D.F. Female hepatology: favorable role of estrogen in chronic liver disease with hepatitis B virus infection. **World Journal of Gastroenterology**, v.13, n.32, p.4295-4305, 2007.

SILVA, L.C. Aspectos clínicos e diagnósticos das hepatites por vírus e por outras causas. In: **Hepatites Agudas e Crônicas**, (3ª ed.), p. 135-147, São Paulo, 2003.

SILVA, L.C.; NOVA, M.L.; ONO-NITA, S.K.; PINHO, J.R.R.; SITNIK, R.; SANTOS, V.A.; CARRILHO, F.J. Simultaneous quantitation of serum HBV DNA and HBeAg can distinguish between slow and fast viral responses to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis B. **Rev.Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v.51, p.261-268, 2009.

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

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

SUNG, J. J. Y. et al. Intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA can be a predictor of sustained response to therapy. **Gastroenterology**. v.128, p.1890-1897, 2005.

TANAKA, J. Hepatitis B epidemiology in Latin America. **Vaccine**. v.18, p.17-19, 2000.

TERIAKY, A.; AL-JUDAIBI, B. Correlation between HBsAg quantitation and HBV DNA in HBeAg-Negative HBV/D patients. **Saudi J Gastroentero**, v. 19, p. 243-244, 2013.

THOMPSON, A.J.V.; NGUYEN, T.; ISER, D.; AYRES, A.; JACKSON, K.; LITTLEJOHN, M.; SLAVIN, J.; BOWDEN, S.; GANE, E.j.; ABBOTT, W.; LAU, G.K.K.; LEWIN, S.R.; VISVANATHAN, K.; DESMOND, P.V.; LOCARNINI, S.A. Serum Hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: Disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. **Hepatology**, v.51, p.1933-1944, 2010.

TIOLLAIS, P.; POURCEL, C.; DEJEAN, A. The hepatitis B virus. **Nature**, v.317, n.6037, p.489-495, 1985.

TONETTO, P.A.; GONÇALES, N.S.L.; FAIS, V.C.; VIGANI, A.G.; GONÇALES, E.S.L.; FELTRIN, A.; GONÇALES-JR, F.L. Hepatitis B virus: molecular genotypes and HBeAg serological status among HBV-infected patients in the southeast of Brazil. **BMC Infectious Diseases**, v. 9, p.149-60, 2009. Disponível em <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/9/149>. doi:10.1186/1471-2334-9-149.

TONG, S.; KIM, K.; CHANTE, C.; WANDS, J.; LI, J. Hepatitis B virus e antigen variants. **Int. J. Med. Sci.**, v.2, n.1, p.2-7, 2005.

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

TORRESI, J. The virological and clinical significance of mutations in the overlapping envelope and polymerase genes of hepatitis B virus. **J. Clin. Virol**, v.25, p.97-106, 2002.

TSUGENO, H.; YAMADA, G.; KINOSHITA, M.; SHIMOMURA, H.; IWASAKI, Y.; TSUJI, T. Quantitative analysis of wild-type and precore mutant hepatitis B virus in carriers. **Hepatology**, v.23, p.48-54, 2002.

VALSAMAKIS, A. Molecular Testing in the Diagnosis and Management of Chronic Hepatitis B. **Clin Microbiol Rev**, v.20, n.3, p. 426-439, 2007.

VILELA, M. P; BORGES, D. R; FERRAZ, M. L. G. et al. Gastroenterologia e Hepatologia. São Paulo: Editora Atheneu, São Paulo, 1996. p. 156-166, 1996.

VERNET, G. Molecular diagnostics in virology. **J. Clin. Virol**, v.31, p.239-247, 2004.

WEBER, B. Genetic variability of the gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. **J. Clin. Virol**, v.32, p.102-112, 2005.

WOLK, D.M.; JONES, M.F.; ROSENBLATT, J.E. Laboratory diagnosis of viral hepatitis. **Infect. Dis. Clin. North Am**, v.15, p.1109-1125, 2001.

WURSTHORN, K.; LUTGEHETMANN, M.; DANDRI, M.; VOLZ, T.; BUGGISCH, P.; ZOLLNER, B.; LONGERICH, T.; SCHIRMACHER, P.; METZLER, F.; ZANKEL, M. et al. Peginterferon alpha-2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. **Hepatology**, v.44, p.675–684, 2006.

YALÇIN, K.; DEĞERTEKİN, H.; ALP, M.N.; TEKEŞ, S.; SATICI, O.; BUDAK, T. Determination of serum hepatitis B virus DNA in chronic HBsAg carriers: clinical significance and correlation with serological markers. **Turk J Gastroenterol**, v.14, n.3, p.157-163, 2003.

YIM, H.J.; LOK AS-F. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: What we knew in 1981 and what we know in 2005. **Hepatology**, v.43, p.173-181, 2006.

ZOULIM, F. New insight on hepatitis B virus persistence from the study of intrahepatic viral cccDNA. **J Hepatol**, v.42, p.302-308, 2005.

APÊNDICE A



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado senhor(a),

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a), de uma pesquisa sobre a hepatite B. Este documento irá lhe fornecer informações importantes sobre a mesma. Por favor, leia as instruções abaixo atentamente e esclareça suas dúvidas para decidir se autoriza, ou não, a sua participação neste estudo.

TÍTULO DO PROJETO: QUANTIFICAÇÃO DO HBsAg: UMA NOVA PERSPECTIVA PARA O MONITORAMENTO DA HEPATITE B CRÔNICA.

PESQUISADOR PRINCIPAL: Prof. Dr. Alex Vianey Callado França

OBJETIVO DO ESTUDO: Avaliar a correlação entre os níveis de HBsAg e a carga viral do HBV DNA em pacientes com hepatite B Crônica.

IMPORTÂNCIA DO ESTUDO: Este estudo será importante pois estará avaliando se o HBsAg pode ser uma nova ferramenta para a monitorização virológica da hepatite B crônica. Uma alternativa mais barata, de fácil execução, que se comprovadamente eficaz, irá beneficiar inúmeros portadores do HBV.

CONDUÇÃO DO ESTUDO: Serão coletadas amostras sanguíneas para análise do HBsAg quantitativo, HBeAg e para a carga viral do VHB DNA. Também será realizada a genotipagem dos pacientes que ainda não tiverem o resultado deste exame no prontuário. Informações sobre dados laboratoriais complementares serão colhidas do prontuário médico. O soro sobressalente será congelado na soroteca para outras pesquisas de Hepatite.

RISCOS: Esta investigação não oferece riscos aos participantes. Este procedimento será realizado por profissional devidamente capacitado e com material estéril descartável.

BENEFÍCIOS: Não há nenhum benefício direto para você. Se concordar em participar deste estudo, estará ajudando a outros, no futuro.

CONFIDENCIALIDADE: O sigilo e o caráter confidencial das informações serão garantidos. Os dados e resultados serão armazenados e analisados na forma de códigos e o seu nome não constará nas conclusões e publicações da pesquisa.

OBS:

- Você não terá nenhuma despesa e também não será pago para participar deste estudo.
- A qualquer momento você pode deixar o estudo

Abaixo assinado, tendo recebido as informações acima, concordo em participar da pesquisa:

Paciente (sujeito da pesquisa)

Pesquisador

Aracaju, ____ de _____ 20__

APÊNDICE B

BANCO DE DADOS PESQUISA

N	Sexo F-1 M-2	Idade	Tratamento Sim- 1 Nao -2	VHB	LOG VHB	HBSAG	HBEAG	AST (TGO)	ALT (TGP)	Biópsia		Cidade
										Atividade	Fibrose	
1	1	28	1	0	0	11524	0,48			0	0	Aracaju
2	1	42	2	287	2,46	1450	0,53	0,50	0,74			Glória
3	2	19	2	110000000	8,02	24398	396,68	1,86	2,33			Aracaju
4	2	26	1	3340	3,55	13600	0,47	0,74	0,42	2	3	Aracaju
5	2	39	2	2590	3,41	3155	0,57	0,72	0,70			Socorro
6	2	26	2	197	2,29	1340	0,35	0,48	0,55			japaratuba
7	2	45	2	84000	4,92	109	0,77	0,76	1,02	1	1	Aracaju
8	2	43	1	0	0	92	0,45	0,68	0,70	2	4	Estancia
9	1	45	1	0	0	12780	0,34	0,72	0,50	3	2	Socorro
10	2	44	2	159	2,20	26	0,20	0,87	0,66	1	1	Boquim
11	1	24	1	0	0	6795	0,34	1,26	1,01			Socorro
12	2	21	2	266000000	8,42	15485	1998,32	3,80	6,45	2	1	Dores
13	2	40	2	570000000	7,76	14230	1465,18	3,24	3,48			Itabaiana
14	2	39	2	2140	3,33	17040	0,37	0,56	0,70			Aracaju
15	2	20	1	0	0	17730	0,31					Poço Verde
16	2	43	1	0	0	202	0,29	0,48	0,62	1	2	São Cristóvão
17	1	31	2	463	2,67	32285	0,28					Jandaíra-BA
18	2	39	1	0	0	4440	0,33	0,74	0,75	2	2	Aracaju
19	2	45	2	445000000	8,65	116095	1921,22	1,82	1,46			Socorro
20	2	53	1	5040	3,70	180	0,45	0,67	0,56	3	4	Aracaju
21	1	43	2	20400	4,31	3238	0,48	0,48	0,26	1	0	Propriá
22	1	22	2	23	1,37	16215	0,33	0,45	0,35			Aracaju
23	2	21	2	599000000	7,77	12800	1441,95	9,73	14,04	2	1	Dores
24	2	41	2	461	2,66	9905	0,34	0,32	0,53			Carmópolis
25	1	23	2	170	2,23	6985	0,33					Itaporanga
26	2	35	2	8190	3,91	20430	0,55					Fátima BA
27	2	34	2	1600	3,20	900	0,31					Aracaju
28	2	43	2	4160	3,62	3790	0,28	1,15	0,58	2	2	Aracaju
29	1	35	2	7730	3,89	6815	0,27			1	0	Siriri
30	1	33	1	60	1,78	1455	0,38	0,82	0,48			Estancia
31	1	42	2	162	2,21	10760	0,56	0,71	0,40			Lagarto
32	2	59	2	0	0	15	0,26	0,30	0,62			Socorro
33	1	31	2	208	2,32	27565	0,30	0,30	0,16			São Cristóvão
34	2	40	1	0	0	4405	0,31	0,52	0,56			Aracaju
35	2	52	2	222	2,35	530	0,28	0,56	0,35			Aracaju

N	Sexo F-1 M-2	Idade	Tratamento Sim- 1 Nao -2	VHB	LOG VHB	HBSAG	HBEAG	AST (TGO)	ALT (TGP)	Biópsia		Cidade
										Atividade	Fibrose	
36	2	28	1	0	0	11600	0,28	0,61	0,65	0	2	Estancia
37	1	35	2	108	2,03	3905	0,34	0,30	0,33			Gararu
38	1	27	2	431	2,63	3495	0,31	0,37	0,23			Div Pastora
39	2	33	2	653	2,82	345	0,32	0,70	0,64			Itabaianinha
40	2	29	2	622	2,79	12370	0,37	0,43	0,58			Aracaju
41	1	32	1	0	0	5525	0,32					Itabaiana
42	1	47	1	0	0	34210	0,39	0,37	0,50	1	2	Aracaju
43	2	43	1	26200	4,42	7785	935,41	6,48	3,33			Aracaju
44	1	28	1	0	0	22590	0,31	0,67	0,60	0	2	Laranjeiras
45	1	30	2	8660	3,94	21780	0,33	0,63	0,59	1	1	C do Brito
46	1	28	2	778	2,89	12870	0,29					Aracaju
47	2	32	1	0	0	595	0,36	1,30	1,05	1	1	Aracaju
48	2	41	2	3050	3,48	25515	0,37					S Cristóvão
49	2	56	2	261	2,42	585	0,33	0,60	0,49			Socorro
50	2	20	1	1600	3,21	9495	136,00	0,80	0,79			Socorro
51	2	50	1	0	0	1560	0,33	0,54	0,50	3	2	Aracaju
52	2	43	1	0	0	30705	30,26	0,58	0,45	1	0	Aracaju
53	2	57	1	3720	3,57	13445	120,75	0,82	0,82			Socorro
54	2	49	2	110000000	8,04	2055	637,00	1,26	1,85			Pacatuba
55	1	35	2	4680	3,67	26570	0,31					Aracaju
56	1	31	2	33400000	7,52	2555	0,29	2,65	2,00	2	1	Aracaju
57	2	43	1	0	0	805	0,43	0,37	0,28			Socorro
58	1	50	1	0	0	3785	0,27	0,95	0,77	2	4	Aracaju
59	1	26	2	246	2,39	24580	0,33	0,48	0,37			Aracaju
60	2	33	2	1780	3,25	8070	0,32	0,91	0,55			Itabaiana
61	1	47	2	0	0	425	0,31	0,22	0,17			Aracaju
62	1	35	2	69500	4,84	7370	0,33			1	0	Maruim
63	2	48	2	4330	3,64	16655	0,34	0,56	0,40			Aracaju

N	Sexo F-1 M-2	Idade	Tratamento Sim- 1 Nao -2	VHB	LOG VHB	HBSAG	HBEAG	AST (TGO)	ALT (TGP)	Biópsia		Cidade
										Atividade	Fibrose	
64	2	63	2	39	1,59	685	0,41	0,50	0,36			Estancia
65	2	59	2	159	2,20	2195	0,31	0,82	0,45			Japoatã
66	2	51	1	0	0	1080	0,37			2	4	Aracaju
67	2	46	2	7640000	6,88	670	1969,00	2,24	3,53	1	1	Aracaju
68	1	53	1	0	0	1670	0,32					Carmopolis
69	1	31	2	779	2,89	8485	0,71	0,45	0,31	1	1	Aracaju
70	2	21	2	58000	4,76	7200	0,39	0,80	0,37			Aracaju
71	2	32	1	0	0	125	0,37					Estancia
72	2	67	1	60	1,38	1570	0,30	0,84	0,84			Socorro
73	1	27	2	742	2,87	2880	0,32	0,37	0,23			Div Pastora
74	2	22	2	170000000	8,32	9525	410,00					Aracaju
75	1	45	2	785	2,89	760	0,34	0,52	0,39			Riachuelo
76	2	22	2	292000000	8,33	13580	770,00			0	0	Itabaiana
77	1	61	2	0	0	345	0,33	0,52	0,36	2	4	S Cristóvão
78	1	22	1	297000000	7,47	13050	61,74					Aracaju
79	2	43	1	950	2,98	3375	4,97	1,97	1,81			Socorro
80	2	44	1	929	2,97	6245	0,24	2,76	1,74			Aracaju
81	2	52	2	41600000	7,62	9050	1214,96	3,80	2,74			Socorro
82	1	35	2	402	2,60	30160	0,33	0,43	0,40	1	1	Riachuelo
83	2	54	1	0	0	120	0,32	0,71	0,48	3	3	Aracaju
84	2	49	2	349	2,54	870	0,33					Maruim
85	2	41	1	1500000	6,18	270	792,62	3,00	2,37			Itabaiana
86	2	38	1	0	0	10120	0,32	0,41	0,50	2	1	S Cristóvão
87	2	18	2	140	2,15	3015	0,34					carira
88	1	39	1	72	1,86	3060	0,49	0,56	0,48	1	4	S Cristóvão
89	2	40	1	0	0	2800	0,39	0,84	1,00	2	2	Aracaju

N	Sexo F-1 M-2	Idade	Tratamento Sim- 1 Nao -2	VHB	LOG VHB	HBSAG	HBEAG	AST (TGO)	ALT (TGP)	Biópsia		Cidade
										Atividade	Fibrose	
90	1	18	2	1650000	6,22	11100	990,00	1,76	1,95			neópolis
91	1	22	2	4420	3,65	13085	0,28	0,45	0,35			Aracaju
92	2	37	1	0	0	13500	0,33					b dos coq
93	2	35	2	1730	3,24	2587	32,80	0,75	0,70			Aracaju
94	1	32	2	4900	3,69	1850	0,27	0,67	0,43			Aracaju
95	2	44	1	0	0	8250	0,32	0,54	0,65	2	4	Estancia
96	2	36	1	510000	5,71	8001	1200,33	0,91	0,45			Socorro
97	1	30	2	554	2,74	3840	0,23	0,43	0,46	1	0	Socorro
98	1	32	2	753	2,88	3455	0,31					Socorro
99	2	74	2	3650	3,56	290	0,29	3,06	1,10			pirambu
100	1	42	2	347	2,54	10225	0,37	0,64	0,43			lagarto
101	2	30	2	815	2,91	8525	0,34	0,93	1,01			Aracaju
102	2	22	1	336	2,53	5	0,62	0,63	0,37	3	2	Dores
103	1	38	2	42	1,63	5390	0,33	0,48	0,46			Aracaju
104	2	29	2	31	1,50	2850	0,36	0,72	0,59			Aracaju
105	2	44	1	0	0	18870	15,37	0,63	0,39			Aracaju
106	1	46	1	0	0	10700	0,31	0,96	0,65	3	2	Socorro
107	1	30	2	19500	4,29	14850	0,34	0,63	0,59	1	1	c do brito
108	2	55	2	658	2,82	5915	0,33	0,69	0,66	1	0	Socorro
109	1	59	1	0	0	90	0,37	0,56	0,18	2	4	Aracaju
110	1	38	2	31	1,49	2167	0,38					Estancia
111	1	37	1	0	0	12300	1699,00	1,02	1,06	2	2	Socorro
112	2	23	2	44	1,65	148	0,37	0,98	0,52			japaratuba
113	1	43	1	1660	3,22	10665	0,32	0,58	0,68	1	0	Socorro
114	1	42	2	35	1,55	5	0,45	0,48	0,53			Riachuelo
115	1	29	2	838	2,92	11775	0,34					S Cristóvão

N	Sexo F-1 M-2	Idade	Tratamento Sim- 1 Nao -2	VHB	LOG VHB	HBSAG	HBEAG	AST (TGO)	ALT (TGP)	Biópsia		Cidade
										Atividade	Fibrose	
116	1	43	2	3990	3,60	21170	0,32	0,43	0,27			Aracaju
117	2	40	1	0	0	1950	0,65					Aracaju
118	2	46	2	1170	3,07	70	0,37	0,54	0,45	1	1	Aracaju
119	2	43	1	0	0	15310	0,41	0,84	0,58	1	1	Serrinha-BA
120	2	52	1	5560	3,74	6978	12,24	1,34	1,02			Socorro
121	2	39	2	7940000	6,90	9840	18,00					Lagarto
122	2	49	2	74	1,87	4250	0,31	0,47	0,52			Aracaju
123	1	62	1	0	0	10320	0,29	0,56	0,53	2	4	S Cristóvão
124	1	69	1	0	0	12525	0,39	0,54	0,55			Areia branca
125	2	39	2	383	2,58	940	0,55	0,43	0,48			aracaju
126	2	36	2	623000	5,79	3520	30,30	0,84	0,76	1	0	São Cristóvão
127	2	38	2	153	2,18	1432	0,26	1,00	1,08			Indiaroba
128	2	61	1	0	0	11300	0,40					Estancia

ANEXO A



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
CAMPUS DA SAÚDE PROF. JOÃO CARDOSO NASCIMENTO JR
Rua Cláudio Batista s/n –Prédio do Centro de Pesquisas Biomédicas - Bairro
Sanatório
CEP: 49060-100 Aracaju -SE / Fone/Fax: (79) 2105-1805
E-mail: cephu@ufs.br

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de pesquisa intitulado: **“QUANTIFICAÇÃO DO AgHBs: UMA NOVA PERSPECTIVA PARA O MONITORAMENTO DA HEPATITE B CRÔNICA”**, Nº CAAE – 0303.0.107.107-11, sob a orientação do Prof. Dr. Alex Vianey Callado França, tratando-se do projeto de pesquisa apresentado como requisito para a seleção ao Programa de Mestrado em Ciências da Saúde, do Núcleo de Pós-Graduação em Medicina desta Universidade, da mestranda **Renata Dultra Torres Moura**, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal de Sergipe - CEP/UFS em reunião realizada dia **07/10/2011**.

Cabe ao pesquisador apresentar ao CEP/UFS, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Res. CNS 196/96).

Aracaju, 17 de outubro de 2011.

Anita Hermínia
Prof. Ms. Anita Hermínia Oliveira Souza
Coordenadora do CEP/UFS