



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

KARLLA ANTONIETA AMORIM CAETANO

**Epidemiologia da Infecção pelo Vírus da Hepatite B em
Assentados em Goiás: Subsídios para Ações de Prevenção e
Controle em Populações Emergentes**

**Goiânia
2014**

KARLLA ANTONIETA AMORIM CAETANO

**Epidemiologia da Infecção pelo Vírus da Hepatite B em
Assentados em Goiás: Subsídios para Ações de Prevenção e
Controle em Populações Emergentes**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Sheila Araujo Teles

**Goiânia
2014**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluna: Karlla Antonieta Amorim Caetano

Orientadora: Sheila Araujo Teles

Membros:

1. Profa. Dra. Sheila Araujo Teles (Presidente)

2. Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi

3. Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro

4. Profa. Dra. Ana Luíza Neto Junqueira

5. Profa. Dra. Ana Rita Coimbra Motta de Castro

OU

6. Profa. Dra. Maria Alves Barbosa (Suplente)

Data: 22/07/2014

Dedicatória

Àqueles essenciais para minha caminhada,
meu estímulo diário de amor e partilha.

Minha fortaleza, Mãe.

Minha inspiração, Pai (*in memoriam*).

Minha beleza, Irmã.

Meu presente, Marido.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que entre minhas fraquezas e erros me amparou permitindo reais momentos de partilha, perdas e vitórias. Hoje, após dez anos desde meus primeiros passos na Universidade Federal de Goiás, concluo mais um ciclo e várias foram as pessoas que trilharam comigo este percurso. A todos meu muito obrigada.

À estrutura da minha vida, minha mãe, minha incentivadora e fiel protetora. Ao meu exemplo de hombridade, meu pai, parte de mim que se foi, mas para sempre vivo em meu coração. A minha irmã, minha metade, motivo de partilha e doação constante. Ao presente mais valioso que recebi, meu marido, que com amor e paciência caminhou comigo e hoje, mais do que nunca, compartilhamos esta conquista.

A minha querida Professora Sheila Araujo Teles, pela grandeza de pessoa e profissional. Ensinos só se são transmitidos quando a alma repercute o amor, a vontade e a dedicação de se ensinar, e assim foi a construção do meu saber a partir da senhora. Obrigada pela presença única e imutável em minha vida, para sempre será meu exemplo.

Ao amigo e irmão Professor Marcos André de Matos, pelo incentivo e apoio incondicional. Sinônimo de determinação, coragem e partilha.

A minha família NECAIH/Sempre Viva. A todos vocês que acreditaram, dedicaram e se empenharam para a concretização deste estudo. Obrigada por tornarem nossas coletas mais leves e divertidas: Diulye, Everaldo, Kamilla, Laurena, Leandro, Lyriane, Luciene, Nativa, Paula, Pauliê, Penélope, Priscilla, Rafael, Raquel e Stéfani. Especialmente, as minhas ótimas companheiras de viagens e estudos: Raquel, Nativa, Lyriane, Pauliê e Leonora.

As minhas amigas Divânia e Grécia, aos nossos dez anos de aprendizagem conjunta, aos nossos sonhos, lágrimas e vitórias partilhados, a vocês minha extrema admiração.

À equipe do núcleo de Estudo das Hepatites Virais na Região Centro-Oeste IPTSP/UFG: Dulce, Nativa Helena, Ágabo, Nádia, Thaís, Aline Garcia, Aline Pereira, Lyriane, Andréia e Marina. Sobretudo, minha gratidão às Professoras Regina Maria Bringel Martins e Márcia Alves Dias de Matos pelo comprometimento e competência na realização dos testes sorológicos e dos ensaios moleculares deste estudo.

Às Professoras Ana Luiza Neto Junqueira e Márcia Maria de Souza. Obrigada pela contribuição indispensável ao desenvolvimento do projeto, mas acima de tudo, pela acolhida humana e fraterna, amizade sincera e ensinamentos valiosos nestes anos de convivência.

À Professora Márcia Alves Dias de Matos e à Professora Vera Saddi pela dedicação e importante auxílio no aprimoramento desta tese. À Professora Megmar Aparecida dos Santos Carneiro, pelo apoio imprescindível para a realização deste estudo, e ainda, pelo sorriso acolhedor em meio às dificuldades deste trajeto acadêmico.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Enfermagem da Faculdade de Enfermagem/UFG. Em especial, à Professora Lizete Malagoni de Almeida Cavalcante Oliveira, minha deusa do *Endnote*, e a minha querida Professora Sandra Maria Brunini de Souza. Obrigada pela disponibilidade e carinho sempre presente.

As minhas amigas/irmãs de coração e companheiras de trajetória acadêmica: Alyne, Maisa Carolina, e Leonora. Agradeço pelo sorriso presente e pelas doces palavras de estímulo constante.

Ao meus amigos do Centro Cirúrgico/HC da Universidade Federal de Goiás, principalmente aos enfermeiros Dulcelene, Francine, Lucimara, Patrícia e Rodrigo pela acolhida, compreensão e auxílio em momentos tão difíceis deste estudo.

Aos funcionários da Faculdade de Enfermagem pelo carinho precioso que dedicam a todos; atos de simplicidade e atenção que fazem desta instituição nossa segunda casa, em especial: Gabriel Peres, Isabeth Silva, Luciano, Sr. Armando e Sr. Sebastião.

Aos integrantes do Núcleo de Estudos em Agricultura Familiar (NEAF/UFG-campus Jataí), em especial aos professores Douglas e Dinalva por viabilizarem a realização deste estudo. Obrigada pela confiança depositada e colaboração durante as coletas.

Aos profissionais das Secretarias de Saúde de Jataí (GO) e Perolândia (GO) pela parceira e valiosa cooperação para o desenvolvimento deste estudo. Sobretudo à Enf. Luciene pelo respeito, disposição e cuidado com todos envolvidos neste projeto.

À biomédica Vera (HC/UFG), pela disponibilidade e auxílio durante a realização dos testes sorológicos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio financeiro.

A minha família, minha proteção e refúgio. Amada avó, madrinha e tia para sempre meu respeito e amor. Aos meus primos, obrigada pela amizade sincera e verdadeira. Àqueles, aos quais somam em minha vida, minha extrema gratidão: Beth, Ana Paula, Pedro Ivo, Edno e família.

Em especial, às famílias assentadas que integraram este trabalho. Obrigada pelo entusiasmo e carinho oferecidos a todos nós. Um povo que entre as lutas pela terra, coragem e vontade de vencer apresentam a humildade e simplicidade de partilhar a vida.

Cântico da terra

Eu sou a terra, eu sou a vida.
Do meu barro primeiro veio o homem.
De mim veio a mulher e veio o amor.
Veio a árvore, veio a fonte.
Vem o fruto e vem a flor.

Eu sou a fonte original de toda vida.
Sou o chão que se prende à tua casa.
Sou a telha da cobertura de teu lar.
A mina constante de teu poço.
Sou a espiga generosa de teu gado
e certeza tranquila ao teu esforço.

Sou a razão de tua vida.
De mim vieste pela mão do Criador,
e a mim tu voltarás no fim da vida.
Só em mim acharás descanso e Paz.

Eu sou a grande Mãe Universal.
Tua filha, tua noiva e desposada.
A mulher e o ventre que fecundas.
Sou a gleba, a gestação, eu sou o amor.

A ti, ó lavrador, tudo quanto é meu.
Teu arado, tua foice, teu machado.
O berço pequenino de teu filho.
O algodão de tua veste
e o pão de tua casa.

E um dia bem distante
a mim tu voltarás.
E no canteiro materno de meu seio
tranquilo dormirás.

Plantemos a roça.
Lavremos a gleba.
Cuidemos do ninho,
do gado e da tulha.
Fatura teremos
e donos de sítio
felizes seremos.

Cora Coralina

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	12
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Epidemiologia do vírus da hepatite B	16
1.1.1. Distribuição da infecção pelo vírus da hepatite B.....	16
1.1.2. Transmissão	19
1.1.3. Breve história do vírus da hepatite B.....	20
1.2. Características do vírus da hepatite B.....	21
1.2.1. Replicação do vírus da hepatite B.....	24
1.2.2. Genótipos do vírus da hepatite B	25
1.2.3. Aspectos clínicos e tratamento da hepatite B.....	27
1.2.4. Diagnóstico laboratorial da hepatite B	29
1.3. Prevenção e controle.....	32
1.3.1 Medidas de prevenção e controle da hepatite B	32
1.3.2. Vacina contra hepatite B.....	33
1.3.3. Vacina contra hepatite B no Brasil.....	35
1.4. Vírus da hepatite D.....	36
1.5. Assentamentos rurais	39
1.5.1. Vulnerabilidade da população rural	39
1.5.2. Trajetória dos assentamentos rurais no Brasil e Goiás.....	42
1.5.3. Políticas de saúde para assentamentos no Brasil.....	44
1.6. Justificativa	45
2. OBJETIVOS	47
2.1. Objetivo geral.....	47
2.2. Objetivos específicos.....	47
3. METODOLOGIA.....	48
3.1. Delineamento.....	48
3.2. Local do estudo, população alvo e amostra	48

3.2.1. Assentamento Santa Rita	49
3.2.2. Assentamento Rio Claro	49
3.2.3. Assentamento Nossa Senhora de Guadalupe	50
3.2.4. Assentamento Rômulo Souza Pereira – Gurita	50
3.2.5. Assentamento Terra e Liberdade	50
3.2.6. Assentamento Três Pontes	50
3.2.7. Assentamento Lagoa do Bonfim.....	51
3.3. Coleta de dados.....	51
3.4. Vacinação contra hepatite B.....	52
3.5. Variáveis do estudo	53
3.5.1. Variável de desfecho:	53
3.5.2. Variáveis de predição:	53
3.6. Testes sorológicos.....	54
3.6.1. Detecção e amplificação do HBV DNA.....	54
3.6.1.1. Extração do HBV DNA.....	55
3.6.1.2. Reação em cadeia da polimerase (PCR)	55
3.6.1.3. Eletroforese em gel de agarose.....	56
3.6.2. Genotipagem do HBV por sequenciamento de nucleotídeos.....	57
3.6.2.1. Amplificação da Região S.....	57
3.6.2.2. Purificação de DNA	57
3.6.2.3. Sequenciamento da Região S	58
3.7. Processamento e análise dos dados.....	59
3.8. Aspectos éticos.....	59
3.8.1. Entrega dos resultados.....	59
3.9. Financiamento	60
4. RESULTADOS	61
4.1. Características da população	61
4.2. Marcadores sorológicos da infecção pelo vírus da hepatite B	62
4.3. Análise das variáveis associadas ao vírus da hepatite B	63
4.4. Caracterização das amostras HBsAg reagentes	66
4.5. Cobertura vacinal contra hepatite B	69
4.6. Marcador sorológico da infecção pelo vírus da hepatite D.....	71
5. DISCUSSÃO	72
6. CONCLUSÃO.....	79
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	80

REFERÊNCIAS	81
APÊNDICE A	99
APÊNDICE B	101
ANEXO A	105
ANEXO B	108
ANEXO C	112
ANEXO D	117
ANEXO E	120
ANEXO F	123
ANEXO G	124

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Prevalência da infecção crônica por hepatite B em adultos, 19-49 anos..	17
Figura 2. Prevalência da infecção crônica por hepatite B em crianças, 5-9 anos	17
Figura 3. Estrutura do vírus da hepatite B	22
Figura 4. Estrutura genômica do vírus da hepatite B.....	23
Figura 5. Ciclo replicativo do vírus da hepatite B.....	25
Figura 6. Curso sorológico da hepatite B aguda, segundo a cinética dos marcadores sorológicos.....	30
Figura 7. Curso sorológico da hepatite B crônica, segundo a cinética dos marcadores sorológicos.....	31
Figura 8. Caracterização da partícula viral completa do vírus da hepatite D	37
Figura 9. Prevalência mundial do vírus da hepatite D e distribuição geográfica dos seus genótipos.....	39
Figura 10. Prevalência do HBsAg e anti-HBc em diferentes populações rurais no Brasil.....	42
Figura 11. Mapa da localização das cidades de Jataí e Perolândia – Goiás	48
Quadro 1. Relação dos testes sorológicos realizados segundo os princípios, reagentes comerciais e protocolos estabelecidos.....	54
Quadro 2. <i>Primers</i> utilizados na <i>semi-nested</i> PCR e sequenciamento de nucleotídeos.....	56
Gráfico 1. Prevalência global para o vírus da hepatite B, segundo o assentamento rural, 2011 ($\chi^2 = 10,65$; $p = 0,10$).....	62
Figura 12. Árvore filogenética da região S do vírus da hepatite B, incluindo quatro isolados de assentados do sudoeste goiano (AS) e 30 sequências do GenBank dos genótipos A a J, indicando o número de acesso e o país de origem	67
Figura 13. Fluxograma da vacinação contra hepatite B realizada em assentados do sudoeste goiano, 2011	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis sociodemográficas de 467 assentados da região sudoeste de Goiás, 2011	61
Tabela 2. Prevalência dos marcadores sorológicos do vírus da hepatite B em 467 assentados da região sudoeste de Goiás, 2011	63
Tabela 3. Potenciais variáveis contínuas associadas à positividade ao vírus da hepatite B em assentados da região sudoeste de Goiás, 2011	63
Tabela 4. Análise univariada dos fatores de risco para o vírus da hepatite B em 467 assentados da região sudoeste de Goiás, 2011	64
Tabela 5. Análise multivariada de variáveis sociodemográficas e comportamentos dos assentados associados ao vírus da hepatite B em assentamentos da região sudoeste de Goiás, 2011	65
Tabela 6. Características dos quatro indivíduos HBsAg positivos, 2011	68
Tabela 7. Características dos assentados (n=77) respondedores e não respondedores à vacina contra hepatite B, sudoeste goiano, 2011.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

3T	Assentamento Terra e Liberdade
aa	Aminoácidos
AgAu	Antígeno Austrália
Anti-HBc	Anticorpo contra a proteína do “core” do vírus da hepatite B
Anti-HBe	Anticorpo contra a proteína “e” do vírus da hepatite B
Anti-HBs	Anticorpo contra a proteína “s” do vírus da hepatite B
Anti-HDV	Anticorpo contra o antígeno do vírus da hepatite D
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
cccDNA	<i>Covalently closed circular</i> – DNA circular covalentemente fechado
CHC	Carcinoma hepatocelular
CMIA	<i>Chemiluminescent Microparticle Immunoassay</i> – Imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência
CTA	Centro de Testagem e Aconselhamento
DNA	<i>Desoxyribonucleic Acid</i> – Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos trifosfatados
DST	Doença Sexualmente Transmissível
EASL	<i>European Association for the Study of the Liver</i> – Associação Européia de Estudos do Fígado
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> – Ensaio Imunoenzimático
ESF	Estratégia de Saúde da Família
FETAEG	Federação dos Trabalhadores em Agricultura do Estado de Goiás
ha	Hectares
HBcAg	Proteína do Core do Vírus da Hepatite B
HBeAg	Proteína “e” do vírus da Hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HBV	Vírus da hepatite B
HBxAg	Antígeno x do vírus da Hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C
HDAg	Antígeno do vírus da hepatite D
HDV	Vírus da hepatite D
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC 95%	Intervalo de Confiança de 95%
IgG	Imunoglobulina fração G
IgM	Imunoglobulina fração M
INCRA	Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária
IPTSP	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
Kb	Kilo bases
km	Quilômetros
MEGA	<i>Molecular Evolutionary Genetics Analysis</i>
MgCl	Cloreto de Magnésio

mRNA	RNA mensageiro
MS	Mato Grosso do Sul
MST	Movimento dos Trabalhadores Rurais Sem Terra
NEAF	Núcleo de Estudos em Agricultura Familiar
nm	Nanômetro
nt	Nucleotídeos
OR	<i>Odds Ratio</i> – Estimativa de Chance
ORF	<i>Open Reading Frame</i> – Sequência Aberta de Leitura
pb	Pares de base
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> – Reação em cadeia pela polimerase
PEP	Profilaxia Pós-Exposição
PNI	Programa Nacional de Imunização
PRD	Programa/Projetos de Redução de Danos
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> – Ácido ribonucleico
RNAse H	Ribonuclease H
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SR4	Superintendência Regional do Estado de Goiás
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMA	Amplificação mediada por transcrição
UDI	Usuário de Drogas Injetáveis
UFG	Universidade Federal de Goiás
UV	Ultravioleta
VrHB-IB	Vacina recombinante contra a hepatite B – Instituto Butantan
WHO	<i>World Health Organization</i> – Organização Mundial de Saúde
µg	Micrograma
µL	Microlitro

Estima-se em 240 milhões o número de portadores crônicos de hepatite B. No Brasil, as comunidades rurais de assentamentos apresentam condições de vida adversas que favorecem a aquisição de agravos, como do HBV. O objetivo do presente estudo foi investigar a epidemiologia das infecções pelos vírus das hepatites B e D em assentados do sudoeste de Goiás. Trata-se de um estudo observacional, analítico, de corte transversal, em que posteriormente foi formada uma coorte de indivíduos suscetíveis para a vacinação contra HBV, avaliação da adesão e resposta vacinal. No período de maio a julho de 2011, foram recrutados 467 indivíduos de sete assentamentos do sudoeste goiano. Todos foram entrevistados e testados para a detecção dos marcadores sorológicos HBsAg, anti-HBc e anti-HBs pelo ensaio imunoenzimático (ELISA). As amostras HBsAg reagentes foram testadas para o anti-HDV total e IgM, pelo ELISA, submetidas à detecção do HBV DNA por *semi-nested* PCR e genotipadas por sequenciamento. Para a determinação quantitativa do anti-HBs empregou-se o imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás. Do total, 52,2% eram do sexo masculino, 57,8% casados e 49% possuía menos de cinco anos de estudo. A maioria era natural de municípios da Região Centro-Oeste (81,6%) e possuía mais de 19 anos de idade (73,7%). A prevalência global para a infecção pelo HBV foi de 10,9% (51/467), sendo 0,8% (4/467) para HBsAg, 7,9% (37/467) para anti-HBc e anti-HBs, e 2,1% (10/467) para anti-HBc. Também, 19,3% dos assentados apresentaram positividade isolada para o marcador anti-HBs, indicando vacinação prévia contra hepatite B. As quatro amostras HBV DNA reagentes foram classificadas como subgenótipo A1 (3/4) e D3 (1/4). Observou-se que sexo masculino (OR ajustado: 2,65; $p= 0,007$), idade (OR ajustado: 1,07; $p= 0,000$), história de transfusão (OR ajustado: 2,52; $p= 0,025$) e maior tempo de moradia nos assentamentos (OR ajustado: 1,10; $p= 0,026$) foram variáveis associadas ao HBV. Um total de 181 assentados suscetíveis à infecção iniciaram a vacinação contra hepatite B, mas apenas 106 (58,6%; 106/181) completaram o esquema vacinal. Desses, em 77 foi possível avaliar a resposta vacinal, sendo que 68,8% (53/77) apresentaram títulos protetores de anti-HBs. Verificou-se uma proporção maior de não respondedores nos assentados do sexo masculino, com mais de 40 anos e tabagistas ($p < 0,001$). Nenhum indivíduo apresentou positividade para o marcador anti-HDV. Os resultados evidenciam a necessidade de estratégias efetivas de prevenção da hepatite B nos assentamentos estudados, com ênfase na vacinação contra hepatite. Ainda, diante da baixa resposta vacinal contra esta infecção em indivíduos mais velhos, sugere-se esquemas mais imunogênicos, que induzam uma resposta vacinal protetora.

Palavras-chave: epidemiologia; hepatite B; vacinas contra hepatite B; população rural

ABSTRACT

Estimates indicate a total of 240 million chronic hepatitis B carriers worldwide. In Brazil, rural settlements present adverse life conditions that favor the acquisition of health problems, such as the hepatitis B virus (HBV). The objective of the present study was to investigate the epidemiology of the infections caused by the hepatitis B and D viruses in people living in settlements in the southwest region of the state of Goiás. This is an observational, analytical, cross-sectional study, with a subsequent cohort of susceptible subjects for vaccination against HBV, assessment of adherence and vaccine response. In the period from May to July of 2011, 467 subjects were selected from seven settlements in the southwest of Goiás. All subjects were interviewed and tested for the detection of the serological markers HBsAg, anti-HBc and anti-HBs, by means of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Reactive HBsAg samples were tested for total anti-HDV and IgM, by means of the ELISA, submitted to the detection of the HBV DNA by semi-nested PCR and genotyped by sequencing. Chemiluminescent microparticle immunoassay was used for the quantitative determination of anti-HBs. The research proposal was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Goiás. Of the total sample, 52.2% were men, 57.8% were married and 49% had less than five years of education. Most subjects were from cities in the midwest region (81.6%) and were older than 19 years of age (73.7%). Overall prevalence for infection by the HBV was 10.9% (51/467), being 0.8% (4/467) for HBsAg, 7.9% (37/467) for anti-HBc and anti-HBs, and 2.1% (10/467) for anti-HBc. Moreover, 19.3% of the people living in settlements presented isolated positivity for the anti-HBs marker, which indicates they were previously vaccinated against hepatitis B. The four reactive HBV DNA samples were classified as subgenotype A1 (3/4) and D3 (1/4). The male gender (adjusted OR: 2.65; $p= 0.007$), age (adjusted OR: 1.07; $p= 0.000$), history of transfusion (adjusted OR: 2.52; $p= 0.025$) and greater period of time living in the settlements (adjusted OR: 1.10; $p= 0.026$) were variables associated with the HBV. A total of 181 subjects susceptible to the infection started vaccine against hepatitis B, but only 106 (58.6%; 106/181) completed the vaccine scheme. Of these, it was possible to assess the vaccine response in 77 subjects, and 68.8% (53/77) presented protective titers of anti-HBs. Of those subjects living in the settlements who did not respond to the vaccine, a greater proportion was male, had more than 40 years and was smokers ($p < 0.001$). No subject presented positivity for the anti-HDV marker. The results of this study evidence the need for effective strategies to prevent hepatitis B in the studied settlements, emphasizing vaccine against hepatitis. In light of the low vaccine response against this infection in older subjects, more immunogenic schemes are suggested, so as to induce a protective vaccine response.

Keywords: epidemiology; hepatitis B; hepatitis B vaccines; rural population

1. INTRODUÇÃO

A magnitude da hepatite B, em todo mundo, constitui um problema que perpassa não somente pela saúde, mas também pela economia de todo País. A prevalência dessa infecção varia com a região estudada e com grupos populacionais, considerando fatores geográficos, sociais e culturais (WHO, 2013b). No Brasil, comunidades rurais emergentes, como assentamentos, apresentam condições de vida adversas que favorecem a aquisição de infecções, como pelo vírus da hepatite B (HBV) (BERGAMASCHI, 2013; BRASIL, 2011a; SOUTO et al., 2004).

1.1. Epidemiologia do vírus da hepatite B

1.1.1. Distribuição da infecção pelo vírus da hepatite B

As hepatites virais são responsáveis por aproximadamente 1,4 milhões de mortes por ano, e cerca da metade dos óbitos são devido à hepatite B (LOZANO et al., 2012; WHO, 2013a). Estima-se em 240 milhões o número de portadores crônicos desse agente viral (WHO, 2013c).

A distribuição da infecção pelo HBV varia no mundo, bem como em diferentes populações (PRICE, 2014). Por convenção, a endemicidade da hepatite B tem sido classificada como alta, quando a prevalência para o antígeno de superfície do vírus (HBsAg) na população em geral é igual ou maior que 8%; intermediária, se a prevalência for de 2 a 7% e baixa, se inferior de 2% (SHEPARD et al., 2006).

Uma revisão sistemática publicada em 2012 por Ott et al. revelou mudanças no perfil epidemiológico da hepatite B em adultos e crianças em todo mundo. Provavelmente, a implementação da vacina contra hepatite B nos Programas de Imunização e a melhoria das condições de vida das populações devem ter contribuído para este cenário (Figuras 1 e 2).

No continente africano, a prevalência da hepatite B mostra-se variável, sendo estimada em 8% na África Ocidental, 5-7% no centro, leste e sul da África, e de 2-4% no norte do continente (OTT et al., 2012).

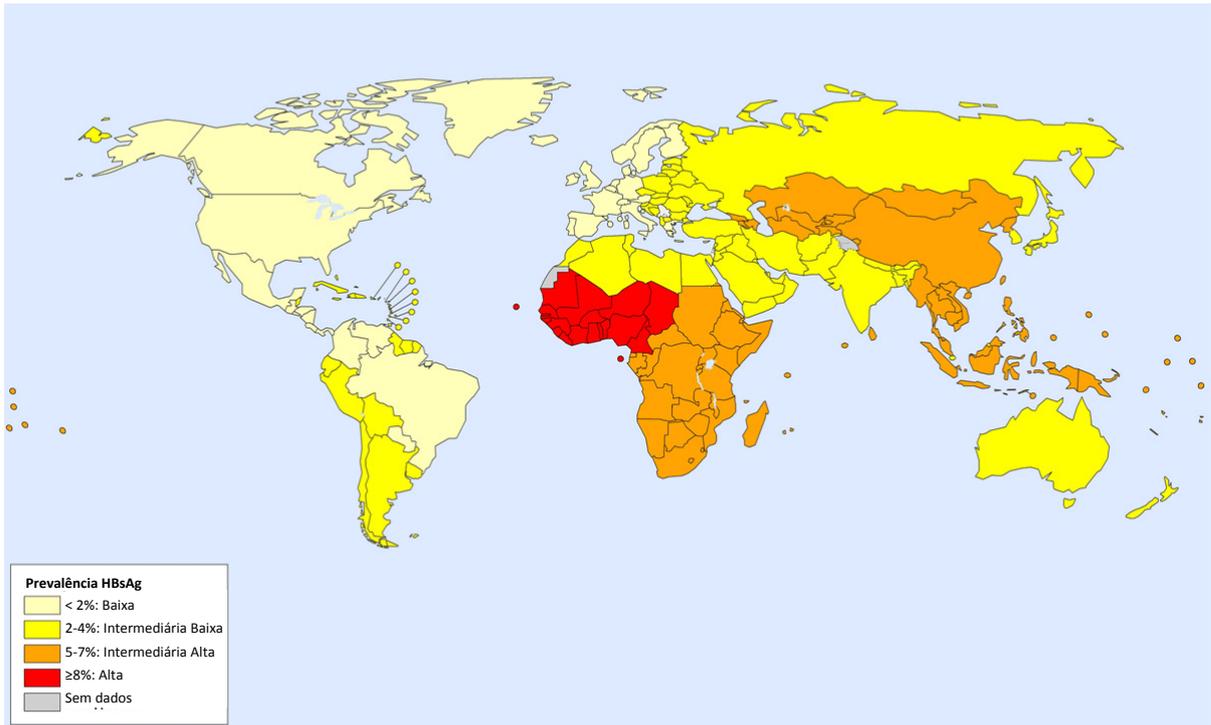


Figura 1. Prevalência da infecção crônica por hepatite B em adultos, 19-49 anos
 Fonte: adaptado de Ott et al. (2012)

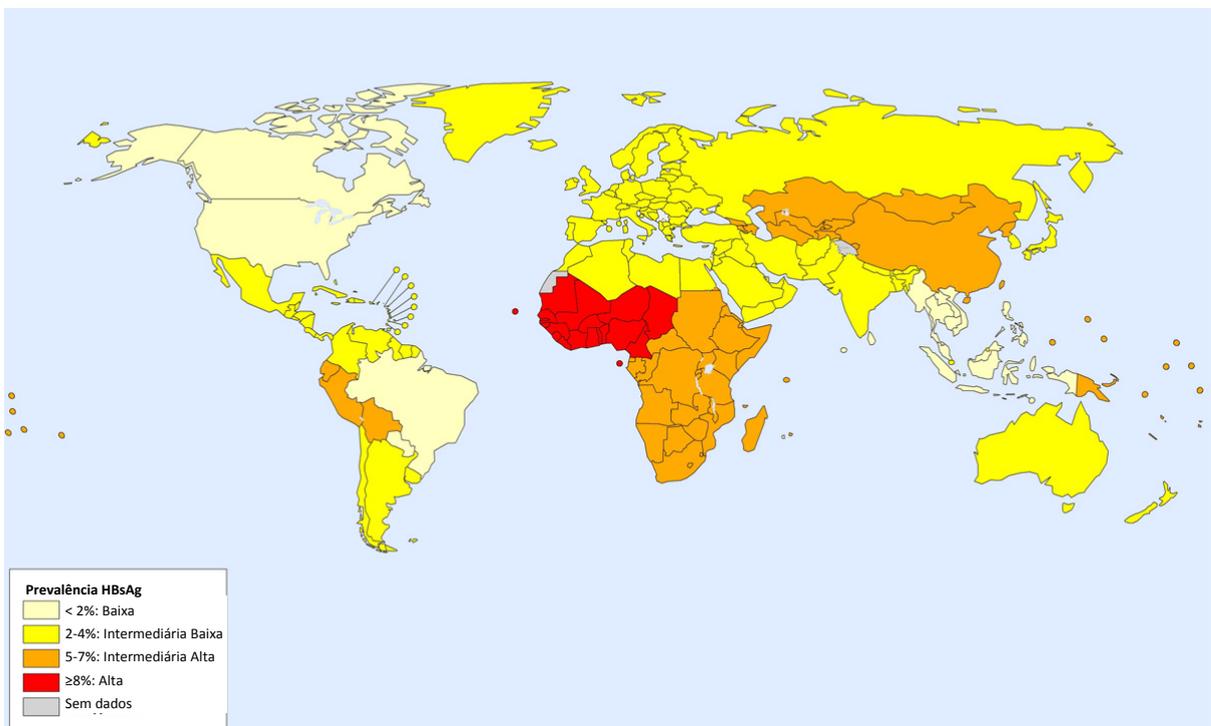


Figura 2. Prevalência da infecção crônica por hepatite B em crianças, 5-9 anos
 Fonte: adaptado de Ott et al. (2012)

Na Europa, mais de 13 milhões dos adultos estão vivendo com hepatite B, ou seja, 1 em cada 50 indivíduos são portadores do HBV (HOPE et al., 2014). Em geral, endemicidades baixas (< 2%) a intermediárias (2-4%) são observadas em crianças de 5 a 9 anos. Na população adulta (19-49 anos), enquanto na Europa ocidental a endemicidade é menor que 2%, na parte oriental do continente ela é mais elevada (2-4%) (OTT et al., 2012).

Na Ásia, em regiões onde a prevalência para hepatite B tem sido tradicionalmente elevada, verificou-se uma mudança significativa na endemicidade dessa infecção em todas as faixas etárias (5-7%), com algumas regiões já se configurando como de baixa prevalência para hepatite B em crianças. Na região do Pacífico Ocidental, em países como Austrália, Japão e Nova Zelândia a positividade para o HBsAg varia entre 2% e 4% em todas as faixas etárias (OTT et al., 2012).

Na América Latina, de 1990 a 2005, na população adulta a prevalência da infecção pelo HBV reduziu, em média, para menos de 2% no Brasil, Colômbia, Venezuela, Paraguai e países da América Central. Por outro lado, no Equador, Peru e Bolívia foram encontradas endemicidades intermediárias à alta em crianças de 5 a 9 anos (OTT et al., 2012).

No Brasil, entre 2005 e 2009 foi realizado o último inquérito das hepatites virais em indivíduos com idade entre 10 e 69 anos, residentes de todas as 26 capitais e do Distrito Federal. No total, 19.634 indivíduos foram testados para os marcadores da hepatite B e os resultados do inquérito mostraram taxas globais de positividade para o HBsAg e anti-HBc de 0,37% e 7,4%, respectivamente (PEREIRA et al., 2010).

Na Região Centro-Oeste, por meio desse inquérito, estimou-se uma positividade de 0,3% para HBsAg e 4,3% para o anti-HBc total (PEREIRA et al., 2010). Entretanto, investigações com populações específicas mostram que essa infecção não é uniforme, considerando as características culturais e econômicas dos diferentes grupos que as compõem. Em Goiás, estudos em populações urbanas da região metropolitana de Goiânia mostram uma prevalência global (anti-HBc) para infecção pelo HBV variando de 5,9% em adolescentes de famílias de baixa renda (OLIVEIRA et al., 2006) a 63,4% em pacientes renais crônicos (BORGES et al., 1997). Ainda, uma investigação, realizada em comunidades rurais isoladas afrodescendentes do nordeste de Goiás (Kalungas), revelou uma prevalência global

para o HBV de 35,4% (MATOS et al., 2009), ou seja, oito vezes maior do que a estimada para a população urbana da Região Centro-Oeste (PEREIRA et al., 2010).

1.1.2. Transmissão

O HBV tem uma grande versatilidade na sua forma de transmissão. (FRANCO et al., 2012). O DNA do HBV pode ser detectado no sangue e outros fluídos corporais como sêmen e secreções vaginais, saliva, fluido nasofaríngeo, urina, leite materno e lágrima, entretanto o vírus pode ser transmitido por via percutânea/parenteral, vertical, horizontal e sexual (DE OLIVEIRA et al., 2009; KIDD-LJUNGGREN et al., 2006; QIAN et al., 2005). Ainda, a viabilidade do HBV no ambiente por mais de sete dias, mantendo sua infecciosidade, contribui para transmissão do HBV por contato indireto (BOND et al., 1983).

A via sexual é um importante meio de disseminação do HBV em todas as regiões do mundo, principalmente nas de baixa endemicidade. Estudos mostram a transmissão desse vírus entre casais sorodiscordantes (GORGOS, 2013; SUN et al., 2013), e alguns fatores parecem aumentar o risco de aquisição viral como duração da atividade sexual, número de parceiros sexuais e história de outras doenças sexualmente transmissíveis (DST) (HOU, LIU e GU, 2005). No Brasil, em 2010, 52,9% dos casos notificados de hepatite B foram associados à relação sexual desprotegida (BRASIL, 2012).

A transmissão parenteral do HBV ocorre por diversas formas. No cenário da assistência à saúde, falhas na adoção de medidas de precauções padrão, práticas de injeções inseguras e processamento/reprocessamento inadequado de produtos para saúde constituem fatores de risco para infecção nosocomial e ocupacional pelo HBV (GULSEN et al., 2010; JULIO, FILARDI e MARZIALE, 2014; LIMA et al., 2013; ORSÁGOVÁ et al., 2014; RADCLIFFE et al., 2013). Hepatite B associada à acupuntura, confecção de tatuagem e colocação de *piercings* também têm sido relatadas na literatura (ASHRAF et al., 2010; DE PAULA MACHADO et al., 2013; JAFARI et al., 2012; MAST et al., 2005). Em usuários de drogas injetáveis (UDI), o compartilhamento de seringas e agulhas contaminadas representa uma forma eficiente de propagação do HBV (KHODADOOSTAN et al., 2014). Estima-se que aproximadamente, 50% a 70% dos usuários de drogas ilícitas se infectam com HBV em cinco anos de uso de droga injetável (BACKMUND et al., 2006).

As formas de transmissão vertical e horizontal são predominantes em áreas de alta endemicidade. A primeira pode ocorrer durante o parto ou aleitamento materno e mais raramente, por via transplacentária (WONG et al., 2014). A transmissão horizontal, por sua vez, caracterizada pelo compartilhamento de material de higiene pessoal (escovas de dente, lâminas de barbear, entre outros), ou contato acidental de mucosa e pele não íntegra com fluidos ou sangue contaminado é uma importante via de disseminação viral. Em comunidades com elevada prevalência da infecção, a convivência familiar prolongada e características socioculturais parecem contribuir para essa forma de propagação do HBV (ALTER, 2003; LOBATO et al., 2006; MANSOUR-GHANAËI et al., 2013)

1.1.3. Breve história do vírus da hepatite B

Relatos na literatura de icterícia e ascite associadas à doença no fígado remontam aproximadamente cinco mil anos atrás. O termo hepatite foi inserido em meio científico no início do século XIII, após a publicação da história de doença hepática infecciosa, sugestiva de etiologia viral e transmissão fecal-oral (REUBEN, 2002).

Entretanto, foi no final do século XIX, a partir de uma epidemia de icterícia após vacinação contra varíola em trabalhadores do estaleiro de Bremer, que a transmissão parenteral desse suposto agente foi documentada cientificamente (LURMAN, 1885). Os anos seguintes foram marcados por surtos de hepatite associados à administração parenteral de fármacos, vacinas e sangue (FLAUM et al., 1926; KRUGMAN, 1989; MACCALLUM, 1947).

No final da década de 40, do século passado, considerando as diferenças epidemiológicas entre as duas formas de icterícia epidêmica, foi proposta as denominações de hepatite A e de hepatite B. Para a hepatite A foi considerada a infecção conhecida previamente como hepatite infecciosa, de transmissão fecal-oral e período curto de incubação, enquanto que para a hepatite B foi considerada a infecção por soro homólogo, de transmissão parenteral e de período longo de incubação (MACCALLUM, 1947).

No Brasil, ainda no princípio da década de 40, surtos de icterícia transmitida por soro homólogo (hepatite B) foram documentados no Espírito Santo, e a vacina preparada com soro normal humano foi sugerida como a possível causa

dessa infecção (FRANCO, 1969). Segundo Fonseca (2010) acredita-se que neste mesmo período e ainda na década de 50, a vacina contra febre amarela derivada de plasma humano e as lancetas não descartáveis para fins de punção digital no diagnóstico da malária, foram as prováveis causas da disseminação das hepatites virais B e D na Amazônia brasileira.

Em 1963, o geneticista americano Baruch Blumberg, com o objetivo de pesquisar anticorpos contra lipoproteínas séricas em indivíduos politransfundidos, identificou no soro de um aborígine australiano um antígeno que reagia com o soro de dois hemofílicos, e o denominou de antígeno Austrália (AgAu) (BLUMBERG, ALTER e VISNICH, 1965). A associação do AgAu e hepatite de transmissão parenteral foi sugerida pelo mesmo grupo americano, após identificarem um caso de hepatite aguda e positividade para o AgAu em um membro da equipe dos pesquisadores (BLUMBERG, 2003).

Em 1967, foi detectado o AgAu no soro de paciente com hepatite B aguda e história de transfusão sanguínea (BLUMBERG et al., 1967). No ano seguinte, a associação deste antígeno e casos de hepatites pós-transfusionais foi estabelecida (PRINCE, 1968). No início da década de 70, por meio de microscopia eletrônica, a partícula viral completa do HBV foi caracterizada, sendo denominada de Partícula de Dane (DANE, CAMERON e BRIGGS, 1970).

O primeiro registro científico da presença do AgAu no Brasil foi em 1970. Uma investigação foi desenvolvida inicialmente com indivíduos da Região Sul do País, e mostrou uma prevalência de 4% em portadores de leucemia (SALZANO e BLUMBERG, 1970). Nessa época, indivíduos infectados pelo HBV (AgAu) também foram identificados na Região Amazônica (BENSABATH e BOSHELL, 1973).

1.2. Características do vírus da hepatite B

O HBV é um vírus DNA, hepatotrópico, que se replica por transcrição reversa, sendo classificado na família *Hepadnaviridae*, gênero *Orthohepadnavirus* (ICTV, 2013). A partícula viral completa, ou partícula de Dane, apresenta forma esférica, com cerca de 42 nanômetros (nm) de diâmetro, sendo constituída externamente por um envelope contendo as proteínas de superfície (*Small-S*, *Middle-M*, *Large-L*) e internamente pelo nucleocapsídeo, de 27 nm de diâmetro, formado pela proteína *core*, que alberga o DNA viral e a enzima DNA polimerase

(Figura 3) (DANDRI e LOCARNINI, 2012; TIOLLAIS, POURCEL e DEJEAN, 1985).

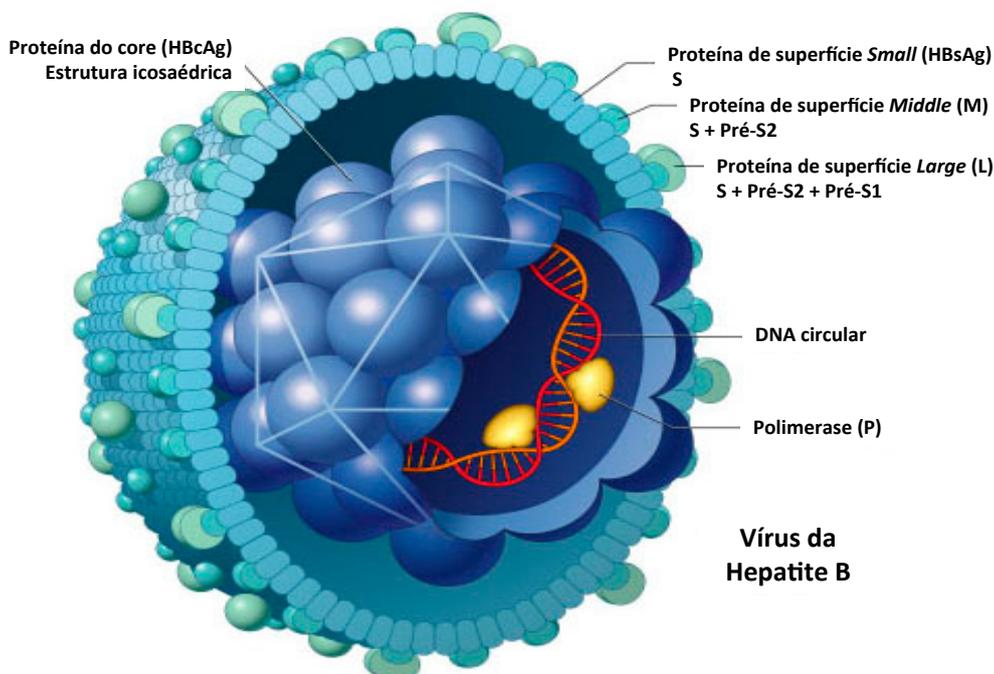


Figura 3. Estrutura do vírus da hepatite B

Fonte: adaptado de Perkins (2002)

O genoma viral é formado por um DNA de fita parcialmente dupla, circular, com cerca de 3.200 pares de base (pb). Além das partículas de Dane, partículas esféricas ou tubulares de 22 nm, não infecciosas, podem ser encontradas no soro de indivíduos infectados pelo HBV (GANEM e PRINCE, 2004; TIOLLAIS, POURCEL e DEJEAN, 1985).

O DNA do HBV possui quatro sequências de leitura aberta (ORF-*Open Reading Frame*): Região pré-S/S, Região pré-core/core, Região P/Pol e Região X, que se sobrepõem e codificam as sete proteínas virais [*Small* (HBsAg), *Middle*, *Large*, core (HBcAg), “e” (HBeAg), polimerase e X (HBxAg)]. Ainda, próximo a extremidade 5’ da fita positiva existem duas sequências curtas de 11 nucleotídeos (nt), denominadas DR1 (*direct repeat*) e DR2, que são requeridas para inicialização da síntese do DNA, durante a replicação viral (Figura 4) (BRUSS, 2007; TIOLLAIS, POURCEL e DEJEAN, 1985).

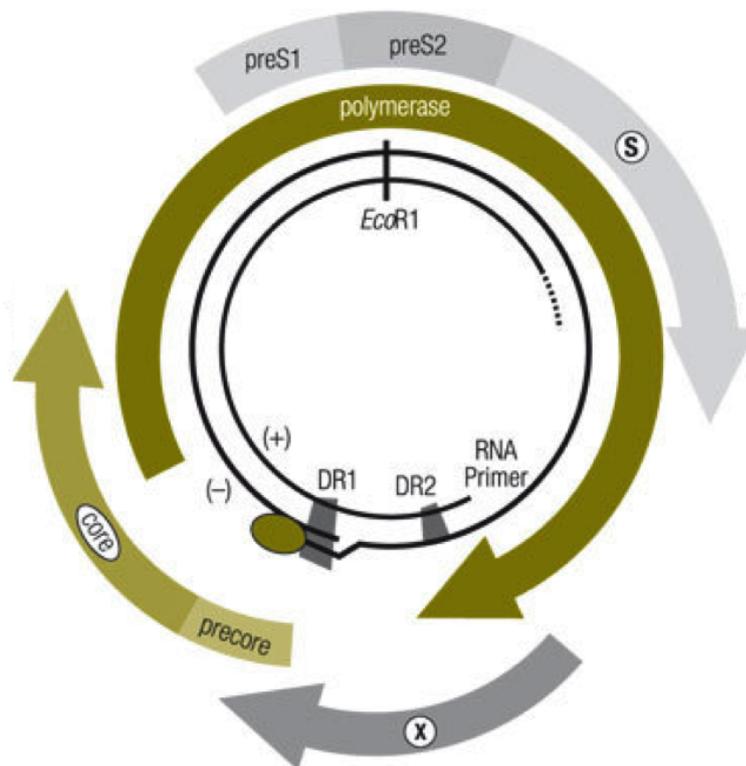


Figura 4. Estrutura genômica do vírus da hepatite B
 Fonte: adaptado de Clements et al. (2010)

A Região Pré-S/S codifica as três proteínas do envoltório viral (*Large*, *Middle* e *Small*) pelo uso alternativo de três códons de iniciação. A proteína L ou HBLAg é a com maior tamanho, sendo composta de 389 a 400 aminoácidos (aa). Essa proteína tem papel na adsorção do vírus aos receptores da célula hospedeira, bem como na montagem e liberação do vírion da célula (GRIMM, THIMME e BLUM, 2011). A proteína *Middle* possui 281 aa, e sua função ainda não foi elucidada. Já na proteína *Small* (HBsAg) com 226 aa, encontra-se o determinante imunodominante “a” capaz de induzir a formação de anticorpos protetores para todos os subtipos do HBV (LOCARNINI e ZOULIM, 2010).

A Região Pré-Core/Core apresenta dois códons de iniciação, e codifica duas proteínas: *core* e *e*. A proteína *core* (HBcAg) é encontrada em hepatócitos; possui a propriedade intrínseca de automontagem em capsídeo e contém um agrupamento altamente básico de aminoácidos na sua porção C-terminal com atividade de ligação ao RNA pré-genômico (LIANG, 2009). A proteína “e” (HBeAg) é um antígeno solúvel de 29 aa, e a presença no soro de indivíduos infectados indica replicação viral. O HBeAg não exerce qualquer papel na montagem do vírus, mas

apresenta função imunomoduladora, contribuindo, assim, para persistência viral (DANDRI e LOCARNINI, 2012).

A Região P corresponde cerca de 80% do genoma viral e codifica a DNA polimerase de 832 aa, que também atua como transcriptase reversa e ribonuclease H (RNase H). Essa proteína possui quatro domínios: amino-terminal, necessário para o início da síntese de DNA de polaridade negativa; região espaçadora, sem função descrita; domínio da transcriptase reversa; e região C-terminal com função de RNase H (LIANG, 2009; TOH, HAYASHIDA e MIYATA, 1983).

A Região X codifica um polipeptídeo de 154 aa denominado antígeno X (HBxAg) essencial para replicação *in vivo* (GANEM e PRINCE, 2004). Essa proteína é encontrada apenas nos hepatócitos infectados e possui várias funções, incluindo sinal de tradução, ativação transcricional, reparo do DNA e inibição da degradação de proteína (BARBINI et al., 2012; FEITELSON e DUAN, 1997) Ainda, o HBxAg tem sido associado ao desenvolvimento de carcinoma hepático em portadores crônicos do HBV (BARBINI et al., 2012; XU et al., 2014).

1.2.1. Replicação do vírus da hepatite B

Resumidamente, o processo de replicação do HBV inicia-se com a sua ligação a receptores ou correceptores celulares, por meio das proteínas *Large*, *Middle* e *Small* presentes no envelope viral. Após a adsorção, o vírus perde seu envoltório; é descapsidado e transportado ao núcleo celular. No núcleo, o DNA circular de fita parcialmente dupla é convertido, por meio de enzimas celulares, em uma molécula de DNA circular covalentemente fechada-cccDNA (*covalently closed circular*). Esse cccDNA torna-se um microssoma viral, funcionando como molde transcricional para quatro RNA mensageiros (mRNA) subgenômicos e um mRNA pré-genômico. Esses mRNA subgenômicos são então traduzidos, dando origem às proteínas virais: HBeAg (a partir do mRNA de 3,5 kb), *Small*, *Middle* e *Large* (a partir dos mRNA de 2,4 kb e 2,1 kb) e X (a partir do mRNA de 0,7 kb). Além disto, o mRNA pré-genômico de 3,5 kb serve como mensageiro para tradução das proteínas do *core*, pré-*core* e a polimerase viral, como também molde para transcrição reversa do genoma viral (LOCARNINI e OMATA, 2006) (Figura 5).

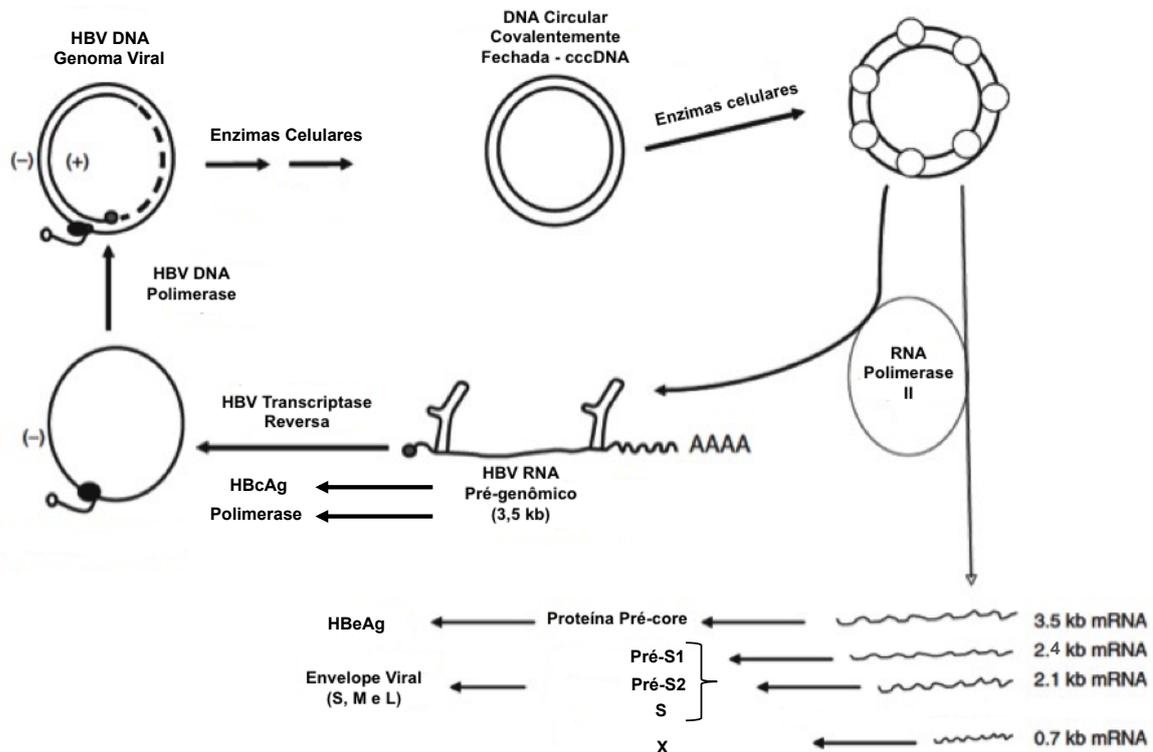


Figura 5. Ciclo replicativo do vírus da hepatite B
 Fonte: adaptado de Locarnini e Omata (2006)

As proteínas do *core* encapsidam o mRNA pré-genômico, juntamente com a enzima polimerase, onde ocorre a transcrição reversa do mRNA pré-genômico em DNA viral. Na etapa final, o nucleocapsídeo adquire o envelope externo no retículo endoplasmático ou complexo de golgi formando a estrutura viral completa, que liberada da célula hepática está pronta para infectar outra célula (LOCARNINI e OMATA, 2006; LOCARNINI e ZOULIM, 2010).

1.2.2. Genótipos do vírus da hepatite B

No final da década de 80, por meio de técnicas moleculares, o HBV foi classificado em grupos genômicos. Divergências iguais ou acima de 8% na sequência do genoma completo do HBV, ou acima de 4% no gene S permitiram a classificação desse vírus em oito genótipos denominados de A a H (KURBANOV, TANAKA e MIZOKAMI, 2010; LIU e KAO, 2013; NORDER et al., 2004; OKAMOTO et al., 1988). Recentemente, dois novos genótipos foram caracterizados, sendo

denominados de I e J (OLINGER et al., 2008; PHUNG et al., 2010; TATEMATSU et al., 2009). O primeiro parece se tratar de uma recombinação intergenotípica entre os genótipos A, C e G. Já o segundo apresenta similaridade com genótipos de primatas não humanos (gibão e orangotango) e o grupo genômico C (LIU e KAO, 2013).

Variabilidade intragenotípica (>4% e <8%) tem permitido ainda a classificação do HBV em subgenótipos. Para a classificação desses subgrupos, inicialmente foram utilizados sufixos, representando a região onde foi identificado, sendo substituídos por números cardinais (KRAMVIS, KEW e FRANÇOIS, 2005). Assim, seis genótipos do HBV (A, B, C, D e F) já foram classificados em subgenótipos (KURBANOV, TANAKA e MIZOKAMI, 2010)

Em 1997, foi descrito o primeiro subgenótipo (A1) em amostras da África do Sul (BOWYER et al., 1997). Os anos seguintes foram marcados pela caracterização de novos subgenótipos, sendo descritos dezenas deles, sendo sete subgenótipos (A1-A7) para o grupo genômico A; nove para o B (B1-B9); dezesseis para o C (C1-C16); oito para o D (D1-D8) e quatro para o F (F1-F4) (SHI et al., 2013).

Os genótipos do HBV, bem como seus subgenótipos têm distribuição variada e o conhecimento desses auxilia na compreensão de rotas de transmissão do vírus e de migração humana, bem como na progressão da doença hepática. Estudos mais recentes sugerem ainda a associação de genótipo específico e resposta ao tratamento antiviral (KONG et al., 2014; SHI et al., 2013).

O genótipo A é prevalente na África subsaariana e ocidental, bem como no noroeste europeu. Na Ásia, os genótipos mais comuns são B e C, sendo que o último é identificado principalmente no leste e sudeste da Ásia. O genótipo D é frequente na África, Europa, região do Mediterrâneo e na Índia, enquanto o genótipo E tem sido restrito à África Ocidental. O genótipo F é encontrado nas Américas Central e Sul e o genótipo G foi relatado inicialmente na França, Alemanha e Estados Unidos. Já o genótipo H tem sido identificado em populações indígenas da América Central. Por fim, o genótipo I foi isolado no Vietnã e Laos e o J nas Ilhas Ryukyu do Japão (LIU e KAO, 2013).

No Brasil, circulam os genótipos A, B, C, D, F e H, caracterizando a diversidade de origem da população do País (BARROS et al., 2014; BERTOLINI et al., 2012; CRISPIM et al., 2014; FREITAS et al., 2014; MELLO et al., 2007; SITNIK et al., 2004). Contudo, o genótipo A é predominante em todo Brasil (ARAUJO et al.,

2014), enquanto o genótipo F é mais frequente na população indígena da bacia Amazônica (MELLO et al., 2013). A Região Sul é marcada por um grande número de descendentes europeus e possui, portanto, como particularidade a predominância do genótipo D (BECKER et al., 2013; BERTOLINI et al., 2012). Já os grupos genômicos B e C são encontrados, em geral, em indivíduos de descendência asiática (BERTOLINI et al., 2012; SITNIK et al., 2004). O genótipo H foi identificado em um portador do HBV do sul do País (BERTOLINI et al., 2012).

1.2.3. Aspectos clínicos e tratamento da hepatite B

O curso natural da infecção pelo HBV é determinado pela interação entre replicação viral e resposta imune do hospedeiro. Portanto, as manifestações clínicas da hepatite B podem variar entre quadros agudos e crônicos, bem como formas assintomáticas ou oligossintomáticas até situações raras com evolução para insuficiência hepática fulminante (DENY e ZOULIM, 2010).

O período de incubação da doença pode variar de 30 a 180 dias (DENY e ZOULIM, 2010). Inicialmente, o indivíduo pode apresentar astenia, mal estar, anorexia, náuseas e/ou vômitos e febre baixa. Icterícia ocorre em aproximadamente 30% dos adultos infectados. O tratamento para hepatite B aguda é principalmente de suporte, além disso, devem ser tomadas medidas adequadas para prevenir a infecção nos contatos expostos. Estima-se que a forma fulminante ocorra em menos de 1% dos casos de hepatite B aguda com icterícia (JINDAL, KUMAR e SARIN, 2013).

A idade é um fator determinante na evolução da doença. Aproximadamente, 5 a 10% dos casos em adultos evoluem para hepatite crônica e esta taxa chega a 25-50% em crianças com idade entre um e cinco anos, e 90-95% em recém-nascidos (transmissão vertical) (MCMAHON, 2014).

Os portadores do HBV que evoluem para doença crônica apresentam risco elevado de desenvolver cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (CHC). Fatores como extremos de idade, altos níveis séricos de HBV DNA, consumo habitual de álcool e tabaco, infecção concomitante com o vírus da hepatite C (HCV), vírus da hepatite D (HDV) e vírus da imunodeficiência humana (HIV) aumentam o risco de progressão para cirrose hepática. Alterações genéticas induzidas pela infecção e expressão de proteínas virais oncogênicas estão envolvidas no

mecanismo do CHC na hepatite crônica. Embora a cirrose seja um fator de risco para o desenvolvimento de CHC; 30 a 50% dos casos de CHC associados ao HBV ocorrem isoladamente (LOK e MCMAHON, 2007).

O curso da infecção crônica é dinâmico, e pode ser didaticamente dividido em cinco fases. Na primeira fase, denominada imunotolerância, ocorre uma intensa replicação viral, mas não há agressão hepatocelular e existe pouca atividade necroinflamatória. Portanto, as aminotransferases permanecem normais ou próximas do normal e não há indicação de tratamento (ASPINALL et al., 2011; EASL, 2012).

A seguir, na fase HBeAg-positiva imunorreativa a impossibilidade de eliminar o HBV leva o sistema imune a estabelecer outras tentativas contra as células virais, observando-se nesta fase uma agressão hepatocelular, com elevação das transaminases (ASPINALL et al., 2011; BRASIL, 2011b; EASL, 2012).

A terceira fase, conhecida como estado de portador inativo, caracteriza-se pela atuação eficaz do sistema imunológico com sucessiva supressão da replicação viral. Com isso, há normalização das aminotransferases e comumente soroconversão do HBeAg para anti-HBe. O HBsAg permanece positivo e devido ao bom prognóstico não existe indicação de tratamento (ASPINALL et al., 2011; BRASIL, 2011b; EASL, 2012).

A fase hepatite B crônica HBeAg-negativa ocorre devido a um variante do HBV, que é incapaz de produzir HBeAg. Embora haja replicação, observa-se a incapacidade de expressão do HBeAg, que permanece em níveis muito baixos, característico de mutações nas regiões pré-*core* e/ou do promotor basal do *core*. Normalmente, representa um estágio tardio da infecção pelo HBV (ASPINALL et al., 2011; EASL, 2012).

A fase HBsAg-negativo é caracterizada por replicação viral em baixos níveis, geralmente com HBV DNA detectável no fígado, porém imperceptível no soro. Uma vez na fase HBsAg-negativa, existe um melhor prognóstico do curso da hepatite B, com um risco reduzido de complicações hepáticas, embora a imunossupressão possa reativar o HBV nesses indivíduos (ASPINALL et al., 2011; EASL, 2012).

O objetivo do tratamento da hepatite B crônica é a negatificação sustentada dos marcadores de replicação viral (HBeAg e carga viral), reduzindo, assim, o risco de progressão da doença hepática e de seus desfechos primários,

especificamente cirrose, CHC e, conseqüentemente, o óbito. As opções farmacológicas para o tratamento da hepatite B crônica são: interferon-alfa, lamivudina, peg-interferon-alfa 2a e 2b, adefovir, entecavir, telbivudina e tenofovir (MCMAHON, 2014).

No Brasil, o Ministério da Saúde publicou o protocolo clínico com o objetivo de direcionar o tratamento da hepatite B, baseado no uso racional do arsenal terapêutico e na melhor relação custo-efetividade, de forma a garantir o acesso universal ao tratamento no Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2011b). Assim, são recomendados e oferecidos gratuitamente os seguintes fármacos para o tratamento da hepatite B crônica e coinfeções (HDV, HIV e HCV): interferon-alfa, interferon-alfa peguilado, lamivudina, entecavir, adefovir e tenofovir. A terapêutica medicamentosa, em casos de indivíduos virgens de tratamento com HBeAg reagente, é indicada para aqueles que apresentam aminotransferases elevadas e sem a necessidade de quantificação do HBV DNA (BRASIL, 2011b).

1.2.4. Diagnóstico laboratorial da hepatite B

A confirmação diagnóstica da infecção pelo HBV pode ser realizada por meio da detecção dos marcadores sorológicos [HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc IgM e anti-HBc Total (IgM e IgG)] e também da pesquisa qualitativa e quantitativa do DNA viral (CHEVALIEZ e PAWLITSKY, 2008).

No curso típico da hepatite B aguda, o HBsAg e HBeAg são os primeiros marcadores virais detectados no soro. O HBsAg é detectado, em geral, até seis semanas antes dos sintomas clínicos, e sua presença indica infecciosidade. Esse marcador pode persistir por até seis meses na doença aguda. O seu desaparecimento e o surgimento do anti-HBs indica resolução da infecção e imunidade. O HBeAg, marcador de replicação viral, surge logo após o HBsAg e desaparece dentro de semanas, quando então surge o seu anticorpo correspondente, anti-HBe, sugerindo resolução espontânea da hepatite aguda (CHEVALIEZ e PAWLITSKY, 2008). O anti-HBc, fração IgM, é detectado também no início da doença clínica e com a evolução da infecção declina gradualmente a partir da vigésima semana, enquanto a fração IgG do anti-HBc predomina, permanecendo detectável por longo período, ou mesmo por toda a vida do indivíduo (HATZAKIS, MAGIORKINIS e HAIDA, 2006). A presença do anti-HBc IgM, em geral,

indica infecção aguda, enquanto que o anti-HBc total, as custas da fração IgG, indica infecção passada (Figura 6) (CHEVALIEZ e PAWLOTSKY, 2008; JINDAL, KUMAR e SARIN, 2013).

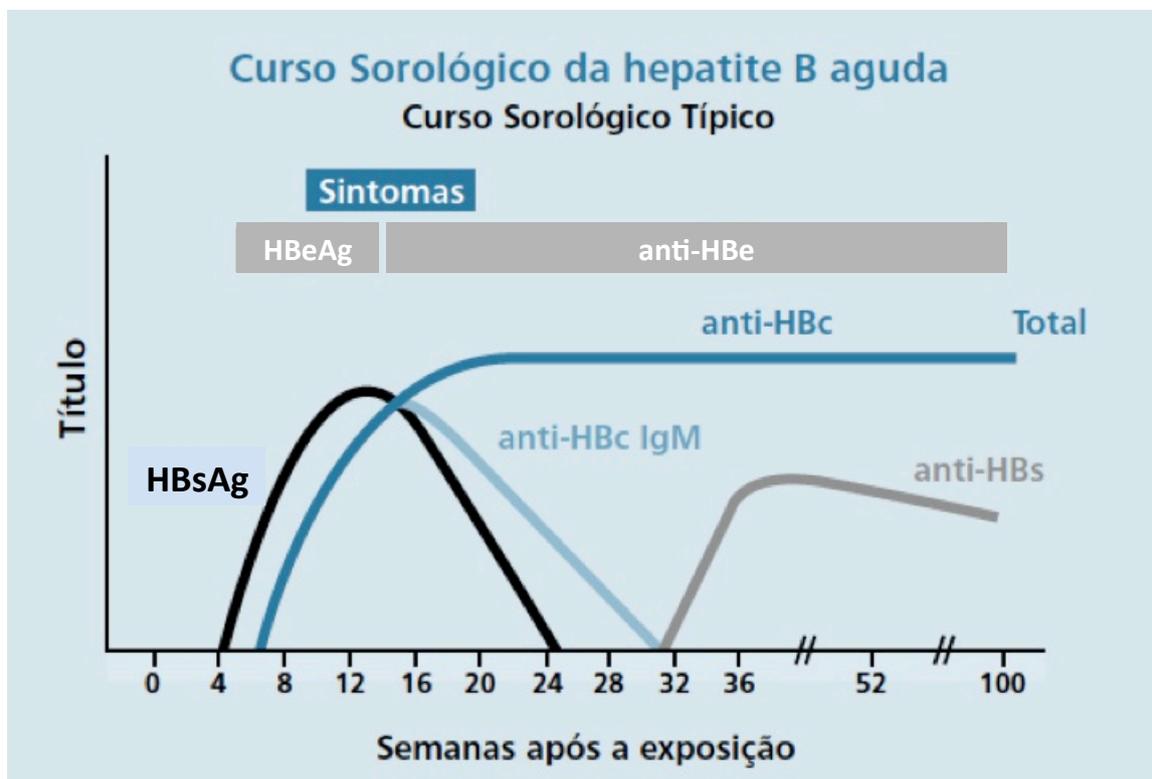


Figura 6. Curso sorológico da hepatite B aguda, segundo a cinética dos marcadores sorológicos
Fonte: Brasil (2005b)

A persistência do HBsAg no soro por mais de seis meses, após sua detecção, indica evolução para doença crônica. Em geral, indivíduos portadores crônicos do HBV são positivos para os marcadores HBsAg, anti-HBc IgG e anti-HBe (Figura 7) (ASPINALL et al., 2011; EASL, 2012).

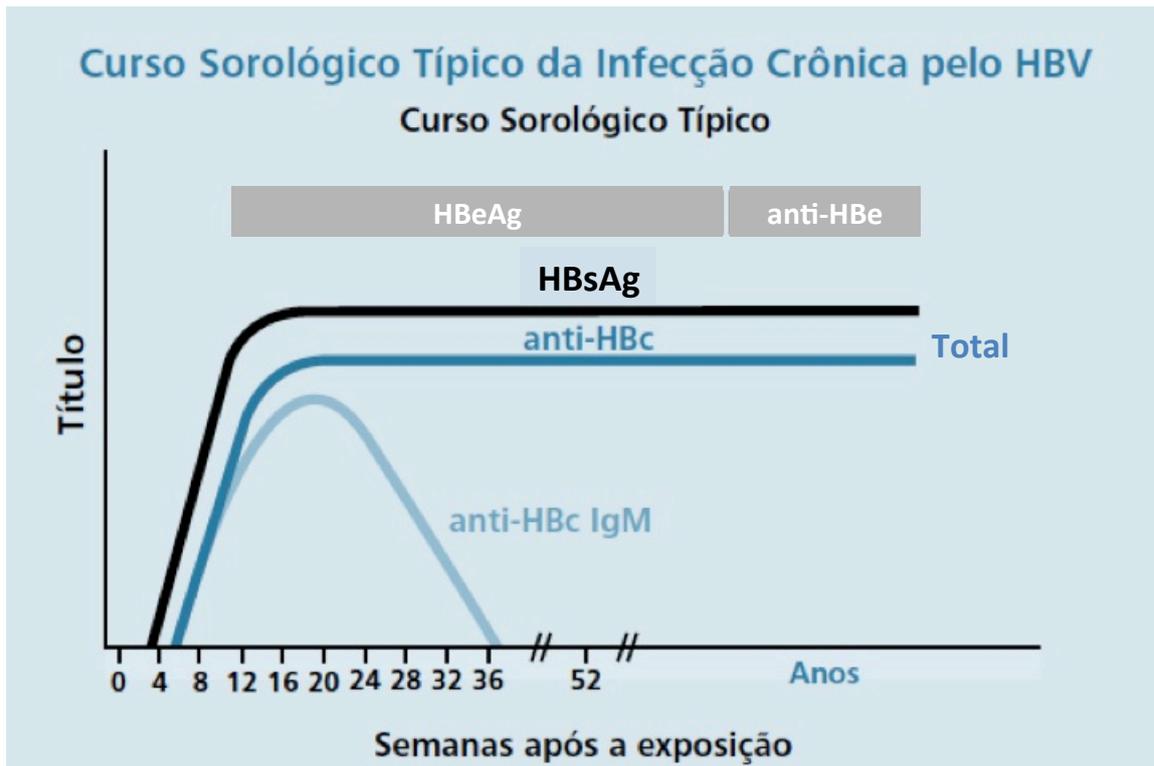


Figura 7. Curso sorológico da hepatite B crônica, segundo a cinética dos marcadores sorológicos
 Fonte: Brasil (2005b)

Ensaio moleculares são utilizados para o diagnóstico e monitoramento do tratamento antiviral em indivíduos portadores crônicos do HBV (KANIA et al., 2014; VAN DEURSEN et al., 1998). O HBV DNA pode ser detectado e quantificado por métodos de amplificação de alvos específicos, como a reação em cadeia da polimerase (PCR – *Polymerase Chain Reaction*), PCR em tempo real e amplificação mediada por transcrição (TMA) e por métodos de amplificação de sinal, como a captura híbrida e o ensaio de DNA ramificado (bDNA) (CHEVALIEZ, RODRIGUEZ e PAWLOTSKY, 2012). Ainda, na determinação de genótipos do HBV uma variedade de métodos podem ser utilizados, como ensaio imunoenzimático tipo-específico, PCR com *primers* tipo-específicos, PCR com posterior análise do polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição – RFLP, hibridização reversa dos produtos da PCR – LiPA (*Line Probe Assay*), PCR em tempo real (*Real Time PCR*) e sequenciamento do genoma completo ou da Região Pré-S/S, sendo este último considerado padrão ouro (MADAN e TYAGI, 2012; MAHTAB et al., 2008)

1.3. Prevenção e controle

1.3.1 Medidas de prevenção e controle da hepatite B

A imunização ativa, utilizando as modernas vacinas recombinantes constitui na atualidade a ferramenta mais importante para prevenção da hepatite B (GOTTLIEB et al., 2014). Entretanto, outras ações de grande importância para prevenção e controle dessa infecção devem ser garantidas como ações educativas (aconselhamento), acesso ao diagnóstico precoce, triagem sorológica do HBV em bancos de sangue, monitoramento do HBsAg em gestantes e parturientes, profilaxia pós-exposição e programas de redução de danos (BRASIL, 1993, 2003, 2005a, 2006, 2011c).

Ações educativas têm um papel importante para a promoção da saúde da população, pois proporciona ao indivíduo condições de auto-avaliação sobre comportamentos de riscos e decisões necessárias quanto à prevenção de infecções de transmissão sexual, em especial a hepatite B. O processo de aconselhamento desenvolvido nos Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA) investiga situações de risco do indivíduo e dentre as ações de planejamento estão a sensibilização de uma vida sexual segura, com uso de preservativos e o encorajamento à triagem sorológica para hepatite B (BRASIL, 2005a). Desse modo, o acesso ao diagnóstico precoce é um importante meio de promoção da saúde e prevenção, sobretudo de infecções de transmissão sexual (BRASIL, 2005a). Desde 2011, o Ministério da Saúde oferece, por meio dos CTA, testes rápidos para o diagnóstico das hepatites B e C (BRASIL, 2011c; PORTAL BRASIL, 2013).

No Brasil, a partir de 1988, a Lei 7.649 estabeleceu a obrigatoriedade da triagem sorológica do HBsAg em doadores de sangue para hepatite B (BRASIL, 1988). Em 1993, por meio da Portaria 1.376, foi incluído o marcador anti-HBc total nos bancos de sangue (BRASIL, 1993). Essas medidas contribuíram significativamente para a redução da prevalência da hepatite B associada à via parenteral (BRASIL, 2012).

Medidas adequadas para a prevenção e detecção de gestantes portadoras do HBV são estratégias fundamentais para reduzir o impacto da disseminação desta infecção viral no Brasil. Com este objetivo, o Ministério da Saúde criou em 2000, o Programa de Humanização do Pré-Natal e Nascimento, que

após reformulações propõem a ampliação e qualificação do acesso à assistência pré-natal, instituindo procedimentos como ações educativas, diagnóstico precoce para algumas infecções, como a hepatite B (HBsAg), além de orientações sobre o manejo adequado à puérperas infectadas com o vírus (BRASIL, 2006).

Em casos de exposição a sangue e outros fluidos corporais contaminados pelo HBV por acidente ocupacional, contato sexual ou perinatal, a profilaxia pós-exposição (PEP) tem mostrado eficácia na prevenção da hepatite B. A profilaxia inclui a administração de imunoglobulina hiperimmune, podendo ser associada à vacina contra hepatite B. Ambas devem ser aplicadas o mais rápido possível após a exposição. Para a escolha da PEP e regime de dose deve-se considerar o tempo e a natureza da exposição, o estado vacinal do indivíduo exposto e a positividade para o HBsAg do paciente fonte (ASPINALL et al., 2011).

Desde 1994, a redução de danos vem sendo aplicada pelo Ministério da Saúde do Brasil como estratégia de saúde pública para a prevenção das DST/Aids e hepatites entre usuários de drogas injetáveis. Os Programas ou Projetos de Redução de Danos (PRD) contemplam uma série de ações desenvolvidas em campo, tais como: troca e distribuição de agulhas e seringas, atividades de educação e comunicação, aconselhamento, encaminhamento, vacinação e outras ações preventivas. A partir de 2003, as ações de redução de danos se tornaram uma estratégia norteadora da política do Ministério da Saúde para a atenção integral aos usuários de álcool e outras drogas (BRASIL, 2003).

1.3.2. Vacina contra hepatite B

A primeira vacina contra hepatite B, conhecida como vacina de primeira geração, foi licenciada em 1982, sendo composta pelo HBsAg, obtido a partir de plasma de indivíduos com hepatite B crônica (KRUGMAN, GILES e HAMMOND, 1971; SZMUNESS et al., 1980; ZANETTI, VAN DAMME e SHOUVAL, 2008). Embora segura e eficaz, a preocupação com a qualidade de hemoderivados e dificuldades na obtenção de grande quantidade de plasma, a partir de doações de portadores crônicos, impulsionaram a produção de novas vacinas contra essa infecção (MICHEL e TIOLLAIS, 2010).

No meado da mesma década, por meio de engenharia genética, foi desenvolvida e licenciada a vacina contra hepatite B, produzida por tecnologia de

DNA recombinante (JILG et al., 1984; VALENZUELA et al., 1982). Essa segunda geração de vacina contém o HBsAg recombinante expresso em levedura (MICHEL e TIOLLAIS, 2010). Vários países produzem esta vacina (ABRAHAM et al., 1999; ASSAD e FRANCIS, 1999; SHOUVAL et al., 1994), incluindo o Brasil (IOSHIMOTO et al., 1999). Atualmente a vacina contra hepatite B faz parte do calendário de imunização em 181 países e a cobertura global, considerando o esquema completo de vacinação, tem sido estimada em 79% (WHO, 2014).

O esquema convencional de vacinação contra hepatite B é constituído por três doses, nos meses 0, 1 e 6, por via intramuscular. Após a terceira dose, a detecção de anti-HBs em níveis maiores ou igual a 10 mUI/ml indica imunidade contra o HBV (MAST et al., 2005). Os eventos adversos da vacina são geralmente rápidos, transitórios e restritos ao local da injeção (eritema, inchaço, endurecimento) (FRANCO et al., 2012).

A concentração do HBsAg, por dose da vacina, varia de acordo com o fabricante e indicação clínica. Em geral, utilizam-se doses de 20 µg/mL em adultos, enquanto em crianças e adolescentes 10 µg/mL. Ao final do esquema vacinal, mais de 90% dos adultos e 95% dos lactentes, crianças e adolescentes saudáveis respondem a vacina com títulos protetores. Entretanto, em adultos existe um declínio na imunogenicidade idade-específica. Após os 40 anos de idade, aproximadamente 90% dos indivíduos desenvolvem títulos protetores de anti-HBs seguindo o esquema completo, mas aos 60 anos a taxa de resposta declina para 75% (CDC, 2012).

Doses adicionais da vacina são indicadas para indivíduos que não responderam ao esquema primário de vacinação. Para esses, recomenda-se a administração de mais três doses, podendo levar à soroproteção em 25 a 50% dos casos, por outro lado não existe estudo demonstrando a indução de títulos protetores acima de seis doses da vacina contra hepatite B (MAST e WARD, 2008).

Além da idade, uma resposta menor à vacina contra hepatite B tem sido observada em homens (vs. mulheres), idosos, tabagistas, obesos, crianças prematuras, portadores de HIV, hemodialisados, bem como em indivíduos que fazem uso de imunossupressor ou imunomodulador e a presença de determinantes genéticos específicos (ROMANO' et al., 2011).

A persistência do anti-HBs está relacionada com o pico de títulos de anticorpos após o esquema vacinal primário. Em adultos, após cinco anos de

vacinação, estima-se um declínio nos títulos de anti-HBs de 7 a 50%, e após 9-11 anos de 30 a 60% (KOFF, 2002). Contudo, mesmo após a perda de títulos protetores, não há recomendações de dose de reforço. Investigações mostram a ocorrência de uma resposta anamnésica em indivíduos imunocompetentes após a administração de uma dose adicional da vacina ou quando expostos ao HBV (BAUER e JILG, 2006; KOFF, 2002; MICHEL e TIOLLAIS, 2010; SPRADLING et al., 2013).

As vacinas de terceira geração, desenvolvidas durante a década de 90, mostram melhor imunogenicidade em indivíduos imunocomprometidos e não respondedores às vacinas convencionais. Nelas são adicionadas as proteínas *Large* e *Middle*, contudo sua disponibilidade é limitada (REZAEI-ZAVAREH e EINOLLAHI, 2014).

1.3.3. Vacina contra hepatite B no Brasil

Na América Latina, Colômbia e Brasil foram os primeiros países a introduzir a vacinação universal contra o HBV (DE LA HOZ et al., 2005). No Brasil, a distribuição da vacina gratuita se deu gradativamente pelo Programa Nacional de Imunização (PNI) e teve início em setembro de 1989 na Amazônia Ocidental, mais especificamente nos municípios de Lábrea, Purus e Boca do Acre, onde a infecção era predominante. Desde a introdução da vacina, observou-se uma redução significativa na endemicidade da infecção pelos HBV e HDV nessas regiões (BRAGA, 2004; BRAGA et al., 1998).

Entre 1991 a 1995, a vacina passou a fazer parte do calendário vacinal, para menores de cinco anos, na Amazônia Legal, e estados do Paraná, Espírito Santo, Santa Catarina e Distrito Federal, além de incorporar alguns grupos específicos em todo País como profissionais e estudantes da área da saúde, bombeiros, policiais e militares (BRASIL, 2013b).

A oferta da vacina contra hepatite B para toda população brasileira menor de um ano se deu em 1998. A seguir, houve a ampliação gradativa da oferta da vacina para faixas etárias seguintes; em 2001 foi estendida para todos os indivíduos menores de 20 anos; em 2011 para faixa etária até 24 anos e em 2012 para população até 29 anos. Atualmente, o PNI oferece a vacina contra hepatite B para todos os indivíduos até 49 anos (BRASIL, 2013b).

Em grupos com alto risco de exposição ou alta suscetibilidade como coletores de lixo, homossexuais, profissionais do sexo, usuários de drogas ilícitas, acampados e assentados, a vacinação é garantida pelo sistema público de saúde, independente da faixa etária (BRASIL, 2010a, 2013b)

Desde 1999, com o objetivo de subsidiar as políticas públicas do PNI, a vacina começou a ser produzida pelo Instituto Butantan, em São Paulo (IOSHIMOTO et al., 1999; MARTINS et al., 2003). Obtida por engenharia genética e tendo como sistema de expressão para obtenção do HBsAg recombinante a levedura *Hansenulla polimorfa*, a vacina conhecida inicialmente como Butang, era composta por 20 µg do HBsAg recombinante e como adjuvante o hidróxido de alumínio. Contudo, estudos mostraram uma menor resposta imunogênica da vacina brasileira em lactentes e adultos acima de 30 anos (MARTINS et al., 2004), o que culminou na reformulação da vacina (LUNA et al., 2009; MORAES, LUNA e GRIMALDI, 2010). Atualmente, a vacina recombinante contra hepatite B do Instituto Butantan (VrHB-IB) apresenta uma concentração de HBsAg de 25 µg/mL, sendo sua imunogenicidade equivalente a vacina padrão ouro (Engerix-B) (MORAES, LUNA e GRIMALDI, 2010).

1.4. Vírus da hepatite D

Doze anos após a primeira publicação da descoberta do HBV, Rizzetto et al (1977) identificaram em núcleos de hepatócitos de um paciente com falência hepática fulminante, um novo complexo imune, denominado inicialmente de sistema Delta, por acreditarem ser uma nova variante do HBV. Observou-se, anos após, por meio de estudos em chimpanzés, que a expressão infectante RNA do sistema Delta somente ocorria na presença do HBV e por meio de transmissão parenteral (WANG et al., 1987). Em 1983, portanto, foi aceita a nova partícula viral e determinada uma nomenclatura para o agente Delta: vírus da hepatite D (LAI, 1994; WANG et al., 1987).

O HDV é um vírus com composição híbrida e defectiva, sem envelope próprio, que depende exclusivamente de funções e características estruturais do HBV, em específico das proteínas de superfície do HBV e polimerase do hospedeiro para completar seu ciclo biológico de replicação em hepatócitos. (HUGHES, WEDEMEYER e HARRISON, 2011; PRICE, 2014). O HDV pertence ao gênero

Deltavirus, e o vírus completo possui forma esférica, com cerca de 36 nm de diâmetro (ABBAS e AFZAL, 2013). A partícula viral é revestida externamente por um envelope constituído pelas proteínas de superfície do HBV: *Large*, *Middle* e *Small*. No interior do vírion encontra-se o antígeno do vírus da hepatite D (HDAg) e o genoma circular (RNA) com apenas 1.700 pb. HDAg é a única proteína codificada pelo genoma do HDV, sendo constituída de duas isoformas: *Large* HDAg (L-HDAg) com 214 aa e *Small* HDAg (S-HDAg) com 195 aa (Figura 8) (ABBAS e AFZAL, 2013). Devido a capacidade genética limitada do vírus, estudos mostraram que a replicação do HBV RNA ocorre pela ação da polimerase da célula hospedeira (RIZZETTO e ALAVIAN, 2013).

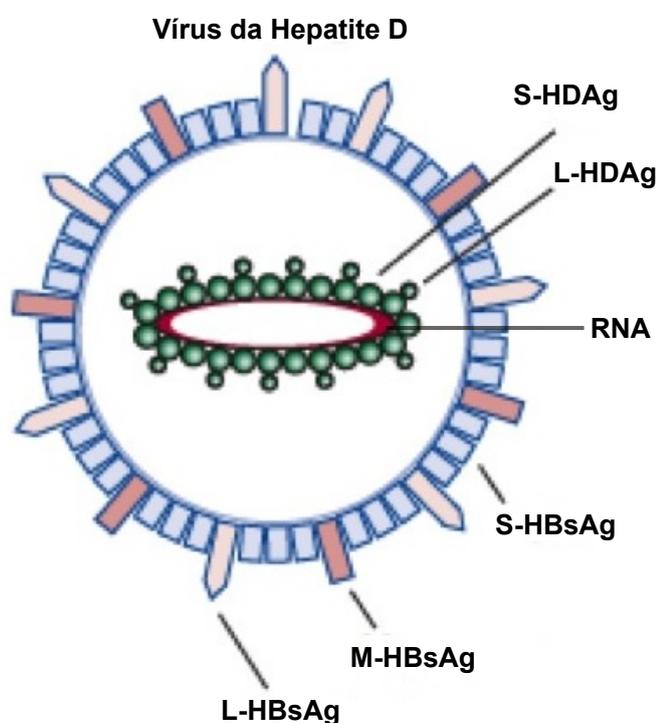


Figura 8. Caracterização da partícula viral completa do vírus da hepatite D
Fonte: adaptada de Hughes, Wedemeyer e Harrison (2011)

A sequência genômica do RNA HDV é altamente variável, e divergências acima de 20% têm caracterizado oito genótipos. Além disso, variações intragenotípicas de 16% foram identificadas. Os mecanismos de transmissão do HDV são semelhantes ao HBV, por outro lado observa-se predominância da via parenteral, enquanto a transmissão perinatal do HDV é incomum (HUGHES, WEDEMEYER e HARRISON, 2011).

O vírus Delta pode ser transmitido em associação ao HBV, caracterizando uma coinfeção ou ainda, superinfectar portadores desse vírus. No primeiro caso, a coinfeção aguda B e D apresenta-se como hepatite aguda recidivante, de curso clínico bifásico e, na maioria das vezes, os indivíduos coinfectados evoluem com hepatite aguda benigna. Na superinfecção pelo HDV em portadores do HBsAg sintomáticos ou assintomáticos, com sinais ou sem sinais sorológicos de replicação do HBV, o prognóstico revela-se mais grave, e o risco de cronicidade torna-se significativamente maior do que na coinfeção (79,9% vs. 3%) (BRASIL, 2011b; FONSECA, 2002). Para o tratamento da forma crônica, o único antiviral que possui resposta terapêutica satisfatória é o interferon alfa (RIZZETTO, 2013).

Do total de indivíduos portadores crônicos da hepatite B no mundo, estima-se que mais de 15 milhões estão coinfectados ou superinfectados pelo HDV e dos oito genótipos virais descritos na literatura, quatro parecem ser de origem africana (Figura 9) (HUGHES, WEDEMEYER e HARRISON, 2011; PRICE, 2014).

O HDV apresenta caráter endêmico não uniforme, e recentemente foi detectado em novas regiões geográficas, reforçando que é uma ameaça para a saúde pública, principalmente, em países subdesenvolvidos e em regiões de alta endemicidade para hepatite B. As principais áreas de prevalência do HDV são a bacia do Mediterrâneo, Oriente Médio, região norte e região central da Ásia, África ocidental e central, ilhas do Pacífico e bacia Amazônica (Brasil, Peru, Venezuela e Colômbia) (ALVARADO-MORA e PINHO, 2013). No Brasil, estudos recentes mostram prevalências do HDV entre os portadores de HBsAg de 3,8% na Região Nordeste (BARROS et al., 2011), enquanto na Região Amazônica observa-se taxas que variam de 14,7% a 65,1% (BRAGA, et al., 2012a; CRISPIM et al., 2014; DIAS et al., 2012).

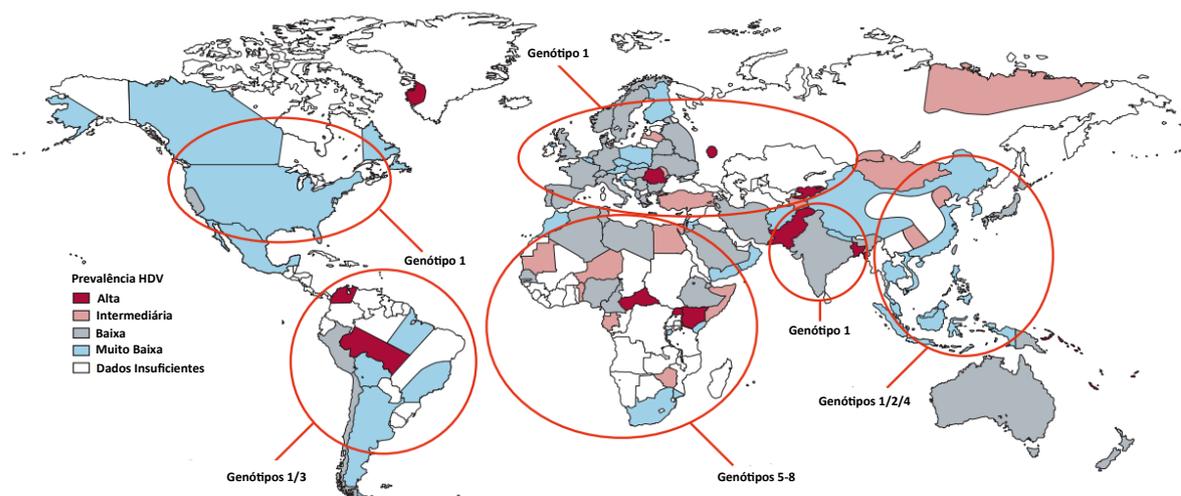


Figura 9. Prevalência mundial do vírus da hepatite D e distribuição geográfica dos seus genótipos
 Fonte: adaptada de Hughes, Wedemeyer e Harrison (2011)

A investigação diagnóstica da infecção pelo HDV ocorre por meio da detecção do marcador sorológico anti-HDV IgG e IgM (HUGHES, WEDEMEYER e HARRISON, 2011). As medidas de profilaxia dessa infecção são as mesmas recomendadas para a hepatite B, em especial, os programas de vacinação contra hepatite B contribuem substancialmente para a diminuição da prevalência do HDV em regiões endêmicas (RIZZETTO e ALAVIAN, 2013; RIZZETTO e CIANCIO, 2012).

1.5. Assentamentos rurais

1.5.1. Vulnerabilidade da população rural

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), aproximadamente 30 milhões de pessoas vivem em área rural, representando 15,6% da população brasileira (BRASIL, 2010b). Estas zonas de campo e florestas são caracterizadas por uma diversidade de povos e comunidades tradicionais, como os camponeses, ribeirinhos, quilombolas, como também populações de áreas florestais e atingidas por barragens. Dos 15 milhões de camponeses, sejam eles agricultores familiares, trabalhadores rurais assentados ou acampados, 37% vivem abaixo da linha da pobreza e 11% vivem somente da aposentadoria rural (BRASIL, 2008).

Em áreas de campo estão presentes os maiores índices de mortalidade infantil, incidência de endemias, insalubridade e analfabetismo (BRASIL, 2011a). Acrescenta-se ainda problemas característicos da sociedade urbana

contemporânea, como etilismo, drogas ilícitas, depressão e suicídio, que a cada dia estão mais frequentes entre as famílias rurais (WERLANG, 2013; ZILLMER et al., 2009).

As populações de assentamento e acampamento, desde suas histórias de desconstrução rural, êxodo urbano e lutas pela terra sustentável vivenciam a deficiência das políticas públicas de saúde (SCOPINHO, 2010). De modo geral, estudos mostram a precariedade da saúde nestas áreas de apropriação. A falta de acesso a rede de abastecimento de água e esgoto e serviços de coleta de lixo contribuem para a proliferação de doenças infecto-parasitárias. Observam-se, também, importantes limitações de acesso aos serviços de saúde no campo (BRASIL, 2001; SCOPINHO, 2010). Em 2010, um estudo realizado pelo Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária – INCRA mostrou que 56% das famílias estão descontentes com o acesso aos hospitais e aos postos públicos de saúde, confirmando o desafio à universalidade, integralidade e equidade proposto pelo SUS (BRASIL, 2010c).

Além disso, as trajetórias das famílias sem-terra são marcadas por muitas migrações e dificuldades de ingresso e permanência na terra. A situação de acampamento exemplifica esta conjuntura de vulnerabilidade e contribui para a fragilidade da saúde dos assentados (RIBEIRO e GUIMARÃES, 2012). Instalam-se, assim, condições de restrições de acesso aos bens e serviços de saúde, que favorecem o adoecimento desta população específica.

Estudos acerca da prevalência do HBV em populações rurais no mundo são escassos, sobretudo em comunidades assentadas. Particularmente, em países em desenvolvimento as investigações se concentram em populações urbanas, levando ao esquecimento e marginalização as comunidades rurais (KOMAS et al., 2013).

No Brasil, estudos evidenciam uma distribuição heterogênea desta infecção nas diversas populações rurais, conforme Figura 10. No Norte do Brasil, são relatadas taxas para o anti-HBc variando de 1,1% (n=181) em comunidade ribeirinha da Ilha do Pacuí (Pará) a 79,1% em populações rurais ribeirinhas isoladas do Amazonas (n=225) (ALMEIDA, 2012; BRAGA, et al., 2012b; CASTILHO et al., 2012; DE PAULA et al., 2001; KATSURAGAWA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011). Na Bahia, Almeida et al (2006) verificaram em 1.476 indivíduos do povoado de Cavunge uma positividade para o anti-HBc de 9,3%. Percentual muito próximo

(9,8%) foi encontrado em 1.134 indivíduos de uma pequena comunidade rural do interior de São Paulo (PASSOS et al., 1993).

Na Região Centro-Oeste foram verificadas prevalências variando de 19,8% a 84,3% em quilombolas do Mato Grosso do Sul (MS) (n=1058) e moradores de um vilarejo rural no norte matogrossense (n=110), respectivamente (MATOS et al., 2009; MOTTA-CASTRO et al., 2005; MOTTA-CASTRO et al., 2003; SOUTO, FONTES e COIMBRA GASPAR, 1998; SOUTO et al., 1997; SOUTO et al., 2001; SOUTO et al., 1996; SOUTO et al., 2004). Recentemente, Bergamaschi (2013) estimou em 24,1% a prevalência para o anti-HBc em 456 assentados em Ponta-Porã, MS.

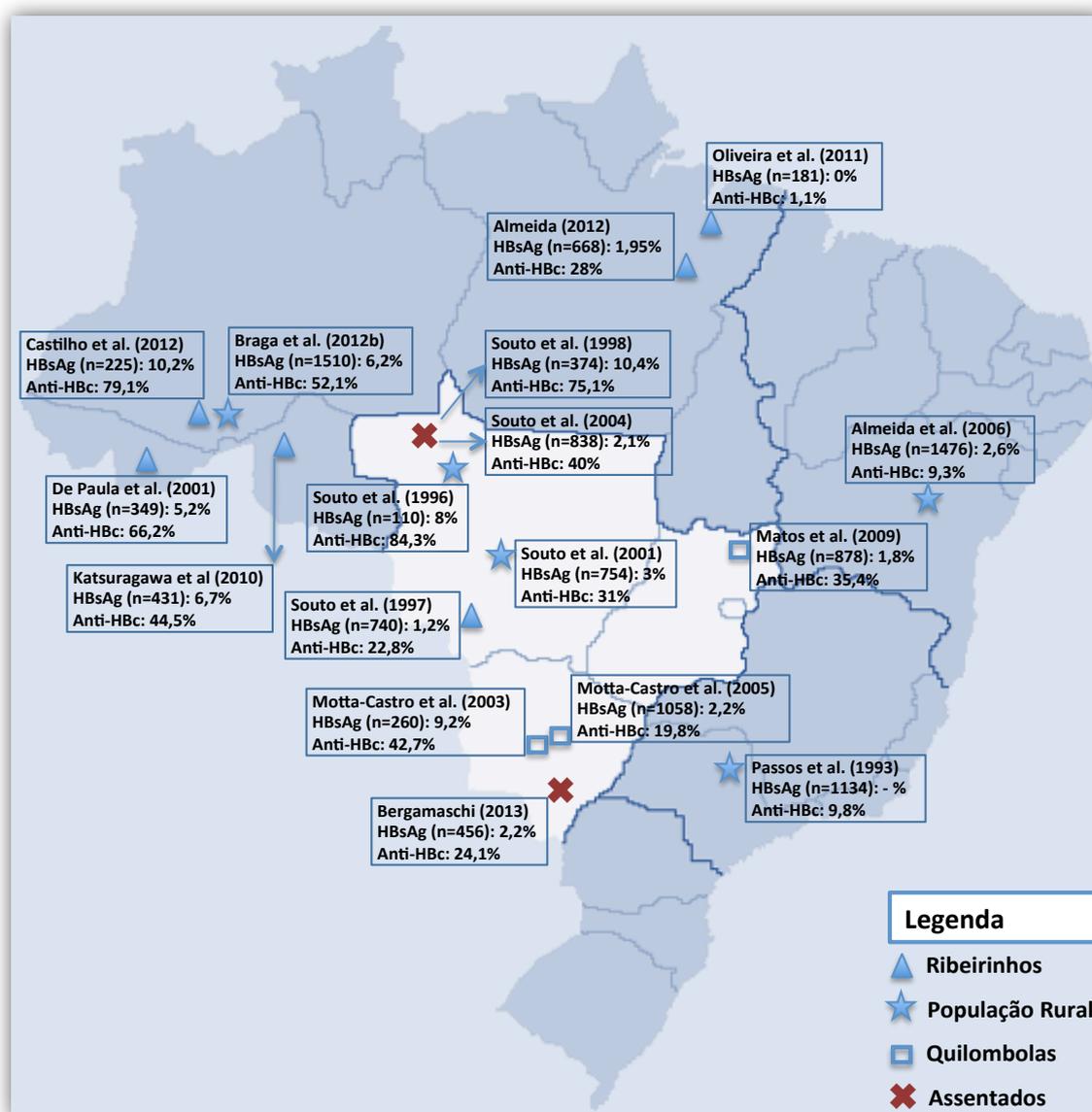


Figura 10. Prevalência do HBsAg e anti-HBc em diferentes populações rurais no Brasil

1.5.2. Trajetória dos assentamentos rurais no Brasil e Goiás

No Brasil, a história de famílias assentadas e sem terra possui marcos históricos de lutas e marginalizações que justificam a segregação social, arraigada desde a colonização do País. A trajetória do início da posse da terra mostra o nascimento dos latifundiários com a concentração da propriedade rural, que expressavam sua dominação sobre a população usando a violência e repressão. Neste período, o Brasil vivenciou as endemias e epidemias no campo, e como

medida de controle destas doenças surgiram as campanhas sanitárias públicas (BRASIL, 2008).

A década de 50 foi marcada pelo surgimento das primeiras iniciativas de organizações e sindicatos a favor das populações rurais. Ainda, com a criação do Ministério da Saúde, em 1953, começaram os debates sobre as atribuições do Estado e as políticas de saúde voltadas para o campo (BRASIL, 2008).

A questão fundiária somente começou a ser debatida pela população com a industrialização do Brasil e a crescente urbanização, na década de 60 (INCRA, 2011). Simultaneamente, com o golpe militar houve a repressão das organizações dos trabalhadores rurais, e em contrapartida o governo federal avançou com a modernização da agricultura e a territorialização do capital no campo, o que favoreceu ainda mais os grandes produtores rurais. O campo brasileiro sustentava um espaço de conflitos, motivado pela crescente desigualdade socioeconômica (MOREIRA, SIQUEIRA e SILVA, 2013).

Para atenuar a situação, políticas públicas foram lançadas, tal como o primeiro Plano Nacional de Reforma Agrária, estabelecido pelo governo em 1966, entretanto sem resultados efetivos para a população rural (BRASIL, 2008). Quatro anos após, foi criado o INCRA, que realizava a aquisição de áreas por meio de desapropriação, compra direta para implantação de assentamentos de trabalhadores rurais ou por meios não onerosos, como a destinação de terras públicas e o reconhecimento de territórios (INCRA, 2011).

Os assentamentos, portanto, são definidos como unidades agrícolas, criadas por políticas governamentais visando a democratização da terra e a integração da população rural. Como parte da proposta do governo federal, condições adequadas para a sobrevivência da família devem ser disponibilizadas por meio de incentivos para o uso da terra e moradia (BERGAMASCO e NORDER, 1996).

Entretanto, o INCRA, com metas extravagantes apresentava resultados modestos de apropriação de terra. Somada as dificuldades políticas e a pobreza orçamentária do governo do Brasil, a reforma agrária se manteve quase paralisada durante as décadas de 70 e 80 (INCRA, 2011).

Na Região Centro-Sul do Brasil, em 1984, durante o Primeiro Encontro Nacional de Trabalhadores Sem Terra, foi formalmente reconhecido o Movimento dos Trabalhadores Rurais Sem Terra (MST). Com ações inovadoras do MST, a

década de 90 foi marcada por intensa manifestação no campo. Esse movimento nasceu com ideais que vão além da posse da terra, mas também o acesso igualitário aos direitos sociais e de saúde (BRASIL, 2008).

Nesse período, o MST ocupava as terras e construía acampamentos intensificando as lutas, além de representar uma das medidas de reforma agrária. Com este ato, os sem-terras, mesmo sem o direito a terra conquistavam a possibilidade da negociação tão esperada. Outros eventos de grande repercussão pública, como ocupações de prédios públicos, caminhadas envolvendo famílias do MST caracterizavam uma identidade política forte que impulsionaram vários sindicatos e organizações rurais a buscarem terra em todo Brasil (MEDEIROS, 2004).

De acordo com os últimos dados do INCRA, existem 4,8 milhões de famílias rurais sem terra e até 2013 estimou-se que 1.288.444 famílias seriam assentadas. Na Região Centro-Oeste, atualmente 223.172 famílias já foram beneficiadas, representando 17,3% da população rural assentada do Brasil (INCRA, 2013). De acordo com a Superintendência Regional do Estado de Goiás (SR4) foram criados, entre outubro de 1986 e janeiro de 2014, 292 assentamentos com mais de 16.556 famílias assentadas numa área total de 666.863 hectares (ha) (BRASIL, 2014).

A reforma agrária vem apresentando resultados positivos no que tange a integração social e uma potencialidade na geração de empregos. Entretanto, a sustentabilidade social que se almeja não se limita a fatores econômicos, como o acesso a terra e a produção de alimentos básicos. É necessário minimizar a exclusão social, melhorando a qualidade de vida daqueles que vivem sob precárias condições de vida e saúde no Brasil (LEITE JÚNIOR et al., 2013).

1.5.3. Políticas de saúde para assentamentos no Brasil

Historicamente, o direito e acesso à saúde das populações rurais expressam a condição de pobreza, ausência de infraestrutura, segregação social e espacial levando a imutáveis exposições a condições insalubres comparadas as zonas urbanas (BRASIL, 2011a).

Nesse contexto, com base nas evidências de desigualdade e o reconhecimento de que a saúde é determinada pelas condições econômicas, sociais

e ambientais em que se vive, em 2008, foi formulado a primeira Política Nacional de Saúde Integral das Populações do Campo e da Floresta, com atualização em 2011 (BRASIL, 2008, 2011a). Entre os grupos favorecidos por esta política pública de saúde estão os agricultores e famílias caracterizadas como povos e comunidades que têm seus modos de vida, produção e reprodução social relacionados predominantemente com a terra, incluindo trabalhadores assentados e acampados (BRASIL, 2011a).

O objetivo desta política é promover a saúde das populações do campo e da floresta, por meio de ações e iniciativas que reconheçam as especificidades de gênero, geração, raça/cor, etnia e orientação sexual e religiosa, visando o acesso aos serviços de saúde; a redução de riscos e agravos à saúde decorrente dos processos de trabalho e das tecnologias agrícolas; e a melhoria dos indicadores de saúde e da qualidade de vida. A viabilidade desta política envolve o comprometimento de gestores federais, estaduais e municipais do SUS, bem como a participação e controle social representado pela sociedade civil, em especial, as entidades representativas dessas populações (BRASIL, 2011a).

A concretização desta política pelo SUS, sobretudo, deve ser pautada em práticas de saúde que compreendam as especificidades de cada um dos grupos populacionais do campo e da floresta e ainda, respeitem esta diversidade sociocultural. A garantia de saúde e qualidade de vida em seus territórios só é conquistada pela emancipação dos indivíduos, que se dá por ações efetivas de prevenção, promoção e educação em saúde (BRASIL, 2011a).

1.6. Justificativa

No Brasil, ainda são poucos os estudos sobre as infecções pelo HBV e pelo HDV em populações rurais, sendo menos frequentes aqueles envolvendo populações de assentamentos. Do nosso conhecimento, as investigações existentes foram conduzidas em Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (BERGAMASCHI, 2013; SOUTO et al., 2004). Em Goiás, onde há o crescimento exponencial dessa população rural emergente, dados sobre as condições de vida e de saúde dos assentados são raros. Considerando as hepatites B e D, não existe qualquer informação disponível na literatura.

Um inquérito de base populacional conduzido em população urbana das

capitais brasileiras estimou uma baixa prevalência global para hepatite B em todas as regiões do País (PEREIRA et al., 2010). Contudo, informações sobre essa infecção em comunidades rurais têm apontado prevalências variáveis (BERGAMASCHI, 2013; BRAGA, et al., 2012b; CASTILHO et al., 2012). Em Goiás, o único estudo conduzido em comunidade rural revelou uma endemicidade intermediária para hepatite B (anti-HBc = 35,4%) (MATOS et al., 2009).

O desconhecimento do estado de saúde das populações assentadas dificulta o planejamento de ações específicas que atendam essa população alvo em suas necessidades de promoção, proteção e recuperação da saúde. Dos 292 projetos de assentamentos, situados em Goiás, não há dados epidemiológicos acerca dos comportamentos de vida, situação de moradia e acesso à saúde associados ao HBV, que permitam compreender o processo saúde-doença destas comunidades rurais.

A Regional de Jataí da Universidade Federal de Goiás, por meio do Núcleo de Estudos em Agricultura Familiar (NEAF), tem realizado ações de pesquisa e extensão universitária à população assentada da região sudoeste. Contudo, essas ações têm se limitado a questões agrárias de manejo da terra (COSTA, OLIVEIRA e RIBEIRO, 2012). Atividades em relação às condições de saúde desta população inexistem. Assim, considerando a lacuna de informações sobre a saúde em assentados do Brasil e de nossa região, a proposta deste estudo foi investigar a epidemiologia da infecção pelo HBV em assentados da região sudoeste de Goiás. Ainda, avaliar a situação vacinal contra hepatite B, oferecer a vacina aos indivíduos suscetíveis e avaliar a adesão e resposta vacinal. Por fim, investigar nos indivíduos HBsAg positivos a presença de anticorpos contra o vírus da hepatite D.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar a epidemiologia das infecções pelos vírus das hepatites B e D em assentados do sudoeste de Goiás.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar as características sociodemográficas dos assentados;
- Estimar a prevalência da hepatite B e hepatite D em assentados do sudoeste de Goiás;
- Analisar os fatores preditores para hepatite B nos assentados investigados;
- Identificar os genótipos do HBV circulantes nos assentamentos investigados;
- Avaliar a situação de imunização contra hepatite B;
- Vacinar e avaliar a adesão às três doses da vacina contra hepatite B usando o esquema padrão de imunização (0, 1 e 6 meses) nos indivíduos suscetíveis;
- Analisar a resposta vacinal nos assentados que completaram o esquema de imunização vacinal contra hepatite B.

3. METODOLOGIA

3.1. Delineamento

Inicialmente, foi realizado um estudo observacional, analítico, de corte transversal. Posteriormente, foi formada uma coorte de indivíduos suscetíveis para a vacinação contra HBV e avaliação da adesão e resposta vacinal.

3.2. Local do estudo, população alvo e amostra

A população constituiu de indivíduos, que vivem nos assentamentos Rio Claro, Santa Rita, Guadalupe, Terra e Liberdade (3T), Gurita, Lagoa do Bonfim e Três Pontes. Esses assentamentos estão localizados no município de Jataí e Perolândia, região sudoeste de Goiás (Figura 11), distando 327 km e 420 km de Goiânia, respectivamente.

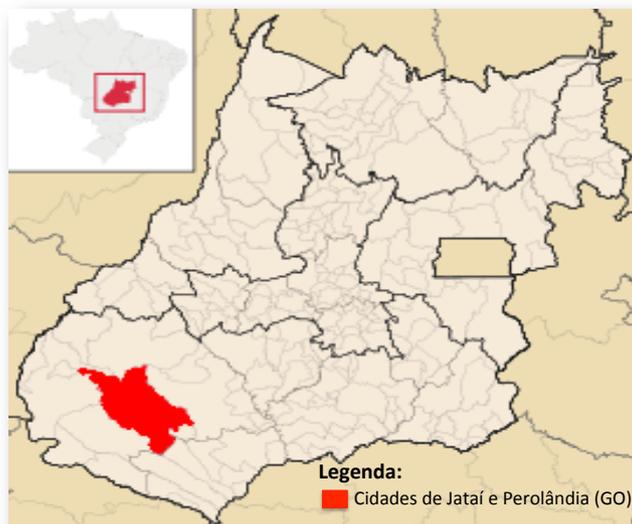


Figura 11. Mapa da localização das cidades de Jataí e Perolândia – Goiás
Fonte: Wikipédia (2014)

Estima-se que existam 454 famílias assentadas nesta região (BRASIL, 2014). A área destinada para cada grupo familiar é variável, sendo que, na Região Centro-Oeste, a extensão média do lote é de aproximadamente 25 ha, excluindo as

áreas de reserva legal (DA BENINCÁ, DE OLIVEIRA e RIBEIRO, 2012). Todos assentamentos são integrantes da Estratégia Saúde da Família (ESF) do município correspondente.

Para o cálculo da amostra, foi considerado um nível de 95% de significância ($p < 0,05$), poder estatístico de 80% ($\beta = 20\%$), prevalência de 7% para a infecção pelo HBV (DOS ANJOS et al., 2011), precisão de 3% e efeito de desenho de 1,5. Assim, no mínimo, 412 pessoas seriam necessárias para compor a amostra. A esse valor foram acrescentados 10% para fins de perdas. Ao final, foram recrutados 467 assentados da região sudoeste de Goiás.

3.2.1. Assentamento Santa Rita

O assentamento Santa Rita foi obtido por desapropriação no ano de 1997, e em 18 de julho de 1998 foi fundado. A área total do assentamento é de 961,2 ha, dividida em 23 lotes, ou seja, possui capacidade para 23 famílias (BRASIL, 2014). O Projeto de Assentamento Santa Rita está localizado a 23 km de distância da cidade de Jataí e a principal drenagem é o Rio Paraíso, além de outros três córregos: Guerobinha, Barreirinho e Vertente (LIMA, 2013).

A principal atividade econômica dos produtores é a pecuária leiteira. Este projeto de assentamento apresenta características de agricultura familiar, a saber: mão de obra familiar, pequenas propriedades, com produção agropecuária destinada à subsistência da família, onde as relações de trabalho são mantidas e perpetuadas dentro do núcleo familiar (COSTA, OLIVEIRA e RIBEIRO, 2012).

3.2.2. Assentamento Rio Claro

O assentamento Rio Claro se localiza no município de Jataí, a 50 km da cidade. A área deste assentamento inicialmente fazia parte da fazenda Campos Elísios e foi ocupada em 1996 (RIBEIRO e GUIMARÃES, 2012). No entanto, somente em 2001 as famílias conseguiram a posse definitiva da terra (BRASIL, 2014). Possui área total de 485 ha com capacidade para 17 famílias.

3.2.3. Assentamento Nossa Senhora de Guadalupe

O assentamento Nossa Senhora de Guadalupe, criado em 2007, tem 1,3 mil ha e atualmente possui capacidade para 85 famílias de trabalhadores rurais assentadas (BRASIL, 2014). O imóvel que deu origem ao assentamento foi desapropriado em 2005 e era de propriedade da Diocese do município de Jataí, situado aproximadamente a 10 km desta cidade. Os primeiros beneficiários da terra foram os agricultores ligados à Federação dos Trabalhadores em Agricultura do Estado de Goiás (FETAEG) (INCRA, 2007).

3.2.4. Assentamento Rômulo Souza Pereira – Gurita

O assentamento Rômulo Souza Pereira – Gurita foi criado em 2007 e possui capacidade para 61 famílias (BRASIL, 2014). Pertence ao município de Jataí e a 40 km da cidade. Possui cerca de 2 mil ha de terra distribuídos em 61 lotes de 19 ha e uma associação consolidada. Praticam a agricultura familiar com projetos financiados pelo INCRA, como negócio da galinha poedeira e processamento de farinha.

3.2.5. Assentamento Terra e Liberdade

O assentamento Terra e Liberdade (3T) foi constituído em 2007 e pertence ao município de Jataí (BRASIL, 2014). Com uma área de 2,9 mil ha é o assentamento mais populoso, com capacidade para 162 famílias, porém é o mais distante do município de origem, 70 km.

3.2.6. Assentamento Três Pontes

O assentamento Três Pontes, situado no município de Perolândia, foi criado em 2000 e possui capacidade para 43 famílias (BRASIL, 2014). Essa unidade agrícola não possui uma associação fortemente representativa, fator dificultador para a integração social da população assentada.

3.2.7. Assentamento Lagoa do Bonfim

O assentamento Lagoa do Bonfim foi criado em 1998 e está localizado no município de Perolândia (BRASIL, 2014). Possui capacidade para 63 famílias (BRASIL, 2014) e também apresenta fracamente uma associação de liderança entre eles.

3.3. Coleta de dados

Primeiramente, por auxílio dos membros do NEAF/UFG, em fevereiro de 2011, foram contatados os líderes de todos os assentamentos em questão e discutido sobre a aceitação e disponibilidade em aderir ao estudo. Também, uma parceria foi construída entre a Universidade Federal de Goiás (Campus Goiânia e Jataí) e a Secretaria Municipal de Saúde de Jataí e Perolândia.

A proposta original era realizar sorteio aleatório dos domicílios para realização das entrevistas e coletas de amostras sanguíneas. Contudo, as lideranças dos assentamentos rejeitaram esta estratégia, por considerarem não inclusivas. Queriam que todos pudessem participar do estudo. Assim, foi proposta a realização de eventos de saúde nos assentamentos (feira da saúde), que seriam agendados e divulgados para cada associação, sendo então realizada amostra de conveniência.

Assim, em acordo com as recomendações e anuência dos líderes dos assentamentos foi agendado dia e mês para a realização da atividade de extensão e pesquisa em saúde. A divulgação deste trabalho se deu durante dois meses e aconteceu por meio dos líderes, como também, agentes de saúde. Entre os meses de maio e julho de 2011 foram realizados sete eventos, todos foram desenvolvidos nas sedes dos assentamentos.

Todos os indivíduos elegíveis que participaram dos eventos foram recrutados para o estudo. O critério de inclusão foi ser responsável pelo lote ou dependente direto do assentamento. Foram excluídos os assentados que possuíam idade menor que um ano e viviam no assentamento por menos de seis meses.

Aqueles indivíduos que compareceram à feira de saúde no dia marcado, que atendiam aos critérios estabelecidos previamente e aceitaram participar do estudo compuseram a amostra. Inicialmente, os pesquisadores se identificavam e

realizavam uma breve explanação sobre a pesquisa e respectivos objetivos. A seguir, a todos os participantes foi oferecido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para leitura e assinatura (APÊNDICE A). As entrevistas foram feitas em um local privativo, dentro da área física do assentamento, em geral nas sedes das associações dos assentamentos. Para esta etapa, utilizou-se um roteiro estruturado, contendo perguntas sobre dados sociodemográficos e possíveis fatores de risco para hepatite B, além de antecedentes vacinais contra a infecção (APÊNDICE B).

Após a entrevista, foram coletados 10 mL de sangue por meio de punção venosa, utilizando-se seringa e agulha descartáveis. Com o objetivo de reduzir o risco de exposição a sangue, medidas foram utilizadas no manuseio dos produtos para saúde, por meio da adesão às precauções padrão. Foram estas: higienização das mãos com álcool gel a 70%, antes e após a punção venosa, uso de equipamentos de proteção individual (luvas de procedimento, jaleco e sapato fechado) e adequado gerenciamento dos resíduos produzidos durante a coleta (BRASIL, 2002).

O sangue obtido foi conservado em tubo de ensaio numerado, de acordo com o número do questionário. Os tubos foram transportados para o laboratório clínico do Centro Médico Municipal de Jataí, onde os soros foram separados e estocados a -20°C. Todos os testes sorológicos foram realizados no Laboratório de Virologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP/UFG). O transporte das amostras sanguíneas foi realizado de acordo com as normas de biossegurança, preconizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Após as atividades de pesquisa, os assentados eram dirigidos para as atividades de educação em saúde, integrantes do projeto de extensão intitulado “Educação em saúde para assentados da região sudoeste de Goiás: um olhar para saúde de populações emergentes”.

3.4. Vacinação contra hepatite B

Para todos os participantes, que não possuíam histórico de vacinação contra HBV, foi oferecida a vacina contra hepatite B. Para tanto, foi realizada parceria com a Secretaria Municipal de Saúde de Jataí e de Perolândia, que

forneceam a vacina, os insumos necessários para sua administração, bem como os recursos humanos para auxílio nesta atividade. A primeira dose da vacina foi realizada logo após a coleta de dados da pesquisa. A segunda e terceira doses foram agendadas com os assentados e realizadas pela equipe de pesquisa em parceria com as Secretarias de Saúde supracitadas, também nas associações dos assentamentos.

Utilizou-se a VrHB-IB (Instituto Butantan, SP), Lotes 1006117 e 1006116. Cada mL desta vacina contém 25 µg de HBsAg recombinante. A vacina foi administrada em três doses, por via intramuscular. Para indivíduos com idade inferior a 20 anos, foram administradas doses de 0,5 mL (12,5 µg), e para o restante 1,0 mL (25 µg). De 45 a 60 dias após a realização da terceira dose da vacina, todos os assentados foram contatados para coleta de 5 mL de sangue para avaliação da resposta vacinal.

3.5. Variáveis do estudo

3.5.1. Variável de desfecho:

- Positividade para os marcadores sorológicos de infecção pelo HBV: HBsAg e/ou anti-HBc total.

3.5.2. Variáveis de predição:

- **Sociodemográficas:** sexo, idade (anos), escolaridade (anos), estado civil, naturalidade, escolaridade e religião.
- **Relacionadas ao assentamento:** história prévia de acampamento, tempo que viveu em acampamento (meses), tempo que mora no assentamento (anos) e número de pessoas residentes na mesma casa.
- **Relacionadas à saúde:** história de hemotransfusão, história de internação hospitalar, história de DST e história de ferida em órgão genital nos últimos 12 meses.
- **Relacionadas ao comportamento:** compartilhamento de material cortante de higiene, tatuagem/*piercing* no corpo, experiência em cárcere, ingestão de bebida alcoólica e uso de drogas ilícitas nos últimos 12 meses.

3.6. Testes sorológicos

Todas as amostras foram testadas para a detecção dos marcadores sorológicos HBsAg, anti-HBc total e anti-HBs pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) utilizando reagentes comerciais. As amostras HBsAg reagentes foram ainda testadas para o anti-HDV pelo ELISA (Quadro 1).

Para a determinação quantitativa dos anticorpos HBs empregou-se o imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência – CMIA (reagente comercial) (Quadro 1).

A concentração de anticorpos na amostra foi determinada utilizando uma curva de calibração previamente gerada. Amostras com valores de concentração menor que 10,0 mIU/mL foram consideradas não-reativas pelos critérios do ensaio ARCHITECT – Irlanda. Se a concentração da amostra foi maior ou igual a 10,0 mIU/mL, a amostra foi considerada reativa para anti-HBs. Deste modo, os assentados foram classificados como não soroprotetidos (anti-HBs= 1 - 9 mUI/mL), protegidos com títulos baixos (anti-HBs= 10 - 99 mUI/mL), protegidos com títulos bons (anti-HBs= 100 - 999 mUI/mL) e protegidos com títulos excelentes (anti-HBs \geq 1.000 mUI/mL) (MICHEL e TIOLLAIS, 2010).

Quadro 1. Relação dos testes sorológicos realizados segundo os princípios, reagentes comerciais e protocolos estabelecidos

Marcador	Teste sorológico	Reagente comercial	Protocolo
HBsAg	ELISA - sanduíche	Hepanostika HBsAg Ultra – França	ANEXO A
Anti-HBc total	ELISA - inibição competitiva	Hepanostika anti-HBc Uni-Form, bioMérieux – França	ANEXO B
Anti-HBs qualitativo	ELISA- sanduíche	DiaSorin – Itália	ANEXO C
Anti-HDV	ELISA - inibição competitiva	DiaSorin ETI-AB-DELTAK-2 – Itália	ANEXO D
Anti-HBs quantitativo	CMIA	Architect anti-HBs – Irlanda	ANEXO E

3.6.1. Detecção e amplificação do HBV DNA

Áreas específicas do laboratório foram designadas para o manuseio dos reagentes, das amostras e dos produtos amplificados, tendo como objetivo evitar a contaminação cruzada entre as amostras durante os testes moleculares. Além disso, controles positivos e negativos foram incluídos em todas as extrações de DNA e nas reações de amplificação por PCR.

3.6.1.1. Extração do HBV DNA

As amostras HBsAg reagentes foram submetidas à extração do ácido nucléico viral, realizada em duas etapas (NIEL et al., 1994). Inicialmente, utilizando 250 µL do soro amostral adicionou-se 80 µL de solução de lise. Esta última foi composta pela solução A (Tris 200 mM, SDS 1%, NaCl 700 mM, EDTA 20 mM e tRNA 0,1 mg/mL) e solução B (proteínase K 2 mg/mL dissolvida em solução de CaCl₂ 0,36 mM, com pH final ajustado para 9,0 utilizando o HCL). Após incubação por quatro horas a 37°C, acrescentou-se 330 µL de fenol para posterior centrifugação de todas as amostras (12000 rpm sob refrigeração de 4°C em 10 minutos). A fase superior da amostra foi transferida para tubos contendo 330 µL de clorofórmio e novamente centrifugada. A parte sobrenadante foi transferida para outro tubo contendo etanol absoluto (400 µL) e mantido a -20°C por uma noite (*overnight*).

As amostras, no dia seguinte, foram centrifugadas por 30 minutos (12000 rpm/4°C), e a fase superior foi coletada e desprezada. Para a lavagem do DNA precipitado no fundo de cada tubo, utilizou-se 600 µL de etanol 70%, que após homogeneizada a mistura, foi novamente centrifugada por 30 minutos (12000 rpm/4°C). A partir do descarte da parte líquida, obteve-se o precipitado – *pellet* (contendo o DNA), que foi submetido à secagem e depois ressuspensão em 30 µL de água milliQ (autoclavada) e armazenado a -20°C.

3.6.1.2. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A detecção e amplificação do DNA viral relativo a Região Pré-S/S foi realizada em duas etapas, por meio de uma *semi-nested* PCR. Na primeira fase de amplificação (PCR-1) preparou-se uma mistura contendo 1 pmol dos *primers* PS1 e S2/S22 (Quadro 2) (Invitrogen), 3 mM de Cloreto de Magnésio (MgCl), 0,2 mM de cada dNTP (desoxirribonucleotídeos trifosfatados - dATP, dTTP, dCTP, dGTP), tampão 10x, 2 µL do DNA extraído e 1 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen) em um volume final de 50 µL. Esta mistura foi levada ao termociclador, seguindo a programação: 94°C por 3 minutos (desnaturação inicial), 30 ciclos de 95°C por 30 segundos (desnaturação), 52°C por 40 segundos (anelamento), 72°C por 2 minutos

(extensão). Ao final, foi submetido ao alongamento final a 72°C durante 7 minutos, obtendo produto de 1.236 pb.

Quadro 2. *Primers* utilizados na *semi-nested* PCR e sequenciamento de nucleotídeos

Primer	Posição nt*	Sequência (5' → 3')
PS1 (<i>sense</i>)	nt 2.826–2.845	CCA TAT TCT TGG GAA CAA GA
S2 (<i>anti-sense</i>)	nt 841–819	GGG TTT AAA TGT ATA CCC AAA GA
S22 (<i>anti-sense</i>)	nt 841–819	GTA TTT AAA TGG ATA CCC ACA GA
SR (<i>anti-sense</i>)	nt 704–685	CGA ACC ACT GAA CAA ATG GC
S1 (<i>sense</i>)	nt 124–143	CTT CTC GAG GAC TGG GGA CC
S4 (<i>sense</i>)	nt 416–436	TGC TGC TAT GCC TCA TCT TCT
S7 (<i>anti-sense</i>)	nt 676–656	TGA GCC AGG AGA AAC GGG CT

*Os nucleotídeos (nt) são numerados começando no local de clivagem para a enzima de restrição EcoRI, localizado na Região Pré-S2, sendo que o genoma completo possui 3221pb.

A segunda etapa (PCR-2) foi caracterizada pelo emprego de uma mistura, a partir dos *primers* PS1 e SR (Quadro 2) (Invitrogen), somado a 1 µL do produto da PCR-1. Para tal, foram utilizadas as mesmas condições de amplificação descritas anteriormente. Em seguida, o uso do termociclador se deu com a programação: 94°C por 3 minutos, 30 ciclos de 94°C por 20 segundos, 55°C por 20 segundos e 72°C por 1 minuto e 72°C por 7 minutos. Ao final da PCR-2 obteve-se um produto de 1.099 pb.

3.6.1.3. Eletroforese em gel de agarose

Os produtos obtidos após a *semi-nested* PCR e o marcador de peso molecular (100 pb) foram misturados ao azul de bromofenol e aplicados a um gel de agarose a 2% em TBE (tampão tris-borato-EDTA), com adição de brometo de etídeo. Esta combinação de produtos foi submetida à eletroforese. Ao final, as bandas formadas foram visualizadas com auxílio de um transluminador de luz ultravioleta (UV).

3.6.2. Genotipagem do HBV por sequenciamento de nucleotídeos

3.6.2.1. Amplificação da Região S

O sequenciamento das amostras HBV DNA positivas foi precedido da amplificação da Região S por *semi-nested* PCR. Inicialmente, foram utilizados os *primers* externos PS1, S2 e S22 para a primeira PCR e para a segunda PCR utilizou-se os primers S1, S2 e S22 (Quadro 2), em volumes finais de 50 μ L e 100 μ L, respectivamente. Usando o termociclador, as reações foram amplificadas seguindo o programa: 94°C por 3 minutos (desnaturação inicial), 30 ciclos de 95°C por 30 segundos, 52°C por 40 segundos, 72°C por 2 minutos e 72°C por 7 minutos (alongamento). O produto resultante da *semi-nested* PCR, por meio de análise por eletroforese em gel de agarose, confirmou a presença de uma banda.

3.6.2.2. Purificação de DNA

Para a purificação do produto final da *semi-nested* PCR, utilizou-se reagentes “*QIAquick PCR purification kit*” (QIAGEN). Primeiramente, uma mistura contendo o produto da PCR e 500 μ L do tampão de ligação foi aplicada à coluna pertencente ao *kit* e centrifugada (1 minuto a 13000 rpm). O produto resultou em ácidos nucleicos adsorventes à membrana de sílica gel, assim o líquido contendo os resíduos foi descartado e adicionado à coluna de 750 μ L de tampão de lavagem. Após igual centrifugação, o líquido residual foi descartado e para a retirada do excesso de tampão realizou-se nova centrifugação.

Posteriormente, utilizando um novo tubo contendo a coluna, o DNA puro foi eluído com 30 μ L de tampão de eluição e submetido a uma centrifugação de 13000 rpm por um minuto. A partir da coluna final obtida foi possível coletar o DNA em tubo tipo *ependorf*, o qual foi armazenado a -20°C.

A quantificação do DNA foi realizada utilizando 4 μ L de cada produto purificado e do marcador de massa e peso molecular “*Low DNA Mass Ladder*” (Invitrogen) em gel de agarose a 2%. Por meio da eletroforese, foi possível visualizar e comparar a intensidade das bandas. Deste modo, a concentração foi calculada e definido o volume de DNA necessário para o sequenciamento, sendo considerada satisfatória a concentração de 40 a 60 ng/ μ L de DNA purificado.

3.6.2.3. Sequenciamento da Região S

As sequências de nucleotídeos da região S foram determinadas utilizando-se *Big Dye Terminator versão 3.01 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), com *primers* específicos S1, S4, S7, S2 e S22 (Quadro 2).

Inicialmente, utilizou-se 2 µL do DNA purificado adicionado a uma mistura contendo 6 µL de água MilliQ, 3 µL de tampão 5x, 3 µL de *primer* (2 pmol) e 1 µL de *Big Dye* (ddNTPs com marcadores fluorescentes, dNTPs e Taq DNA polimerase). A seguir, para a síntese da fita complementar e incorporação dos ddNTPs as amostras foram submetidas a ciclos de variação de temperatura em termociclador no seguinte programa: 25 ciclos de 95°C por 20 segundos, 50°C por 15 segundos e 60°C por 60 segundos. Os ddNTPs não incorporados após este procedimento foram retirados precipitando as amostras, através do uso de isopropanol a 65%, seguido de etanol 60% e centrifugação. Retirado o etanol, a placa foi colocada em termociclador para completar a secagem em 2 minutos a 95°C.

Para a próxima etapa, desnaturação da fita de DNA, foi necessário adicionar 10 µL de formamida Hi Di (*Applied Biosystems*) às amostras, e então encaminhar a placa para termociclador durante 5 minutos a 95°C. Seguidamente, as amostras foram colocadas em gelo (dois minutos), e a placa levada para o sequenciador automático ABI 3130 (*Applied Biosystems*, Foster City, CA, USA) para leitura dos eletroferogramas.

As sequências obtidas das fitas *sense* e *anti-sense* foram analisadas por meio do programa SeqMan II versão 5.01 (DNASTAR). Na etapa posterior, para a identificação do genótipo viral, as sequências consenso de cada amostra foram inicialmente alinhadas, utilizando-se o programa Clustal X (THOMPSON et al., 1997) juntamente com sequências dos diferentes genótipos do HBV (A-J) obtidas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). O programa BioEdit foi utilizado para edição do alinhamento.

A classificação dos genótipos foi feita por análise filogenética e para a construção da árvore filogenética utilizou-se o programa *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versão 4 (TAMURA et al., 2007). Ainda, as análises foram realizadas pelo método *Neighbor-Joining* e modelo de substituição de

nucleotídeos Kimura 2 parâmetros. A robustez dos grupos filogenéticos foi avaliada utilizando “*bootstrap*” de 1025 repetições.

3.7. Processamento e análise dos dados

Os dados das entrevistas e resultados dos testes sorológicos foram digitados em microcomputador e foram analisados empregando o programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 16.0. Foram calculadas proporções, média, desvio padrão e mediana. Prevalências foram estimadas com intervalo de confiança de 95%. Inicialmente, foi realizada análise univariada de potenciais fatores associados ao HBV (positividade para HBsAg e/ou anti-HBc). A seguir as variáveis que apresentaram valor de $p < 0,10$ e/ou potencial de confundimento foram incluídas em um modelo de regressão múltipla. Os testes *t* de *student* foram utilizados para comparar diferenças entre médias, enquanto os testes de χ^2 (qui-quadrado) e Exato de Fisher para comparar diferenças entre proporções. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

3.8. Aspectos éticos

O presente projeto foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, protocolo CEPMHA/HC/UFG nº 127/2010 (ANEXO F).

3.8.1. Entrega dos resultados

Após a realização dos testes sorológicos, a entrega dos resultados ocorreu nas sedes dos assentamentos. Previamente, foi anunciado para os participantes o dia e período de permanência da equipe para este fim, a divulgação ocorreu por membros do estudo via telefone e pelos líderes dos assentamentos durante reuniões recorrentes. O processo de aconselhamento, bem como a entrega dos resultados se deu em outubro de 2011 a todos que compareceram ao local estabelecido. O caráter confidencial e o sigilo das informações prestadas foram mantidos durante esta atividade.

Anteriormente a realização da coleta de dados, foi estabelecida uma parceria com representantes da Secretaria Municipal de Saúde de Jataí, para que em caso de positividade para hepatite B o indivíduo fosse encaminhado diretamente para seguimento da assistência. Assim, os participantes, cujos resultados revelaram infecção pelo HBV, foram orientados a procurarem o serviço regional localizado no Centro Médico de Jataí. Todos os casos positivos foram notificados aos serviços municipais.

Além disso, foi informado para a população presente, que aqueles que não puderam comparecer para o recebimento dos exames, esses estariam disponíveis no Centro Médico de Jataí, com profissional responsável para dar continuidade ao aconselhamento e divulgação dos resultados.

3.9. Financiamento

O apoio financeiro foi concedido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, edital/chamada: edital MCT/CNPq 14/2010 – Universal – Faixa C, número do processo: 479148/2010-4 e, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás: Chamada Pública 004/2010, projeto nº 1902 (ANEXO G).

4. RESULTADOS

No período de maio a julho de 2011, participaram do estudo 467 indivíduos assentados da região rural do sudoeste goiano.

4.1. Características da população

A Tabela 1 apresenta as características sociodemográficas dos participantes do estudo. Do total, 52,2% eram do sexo masculino e 57,8% casados. A maioria possuía mais de 19 anos de idade (73,7%) e relataram alguma religião (86,5%). Do total, 381 (81,6%) eram naturais de municípios da Região Centro-Oeste, e 193/381 eram de Jataí. Quanto aos anos de estudo, praticamente a metade (49%) possuía ensino fundamental incompleto, representando baixa escolaridade.

Tabela 1. Variáveis sociodemográficas de 467 assentados da região sudoeste de Goiás, 2011

Variáveis	Participantes n=467	%
Sexo		
Masculino	244	52,2
Feminino	223	47,8
Idade (anos)		
1 - 12	78	16,7
13 - 19	45	9,6
20 - 49	177	37,9
>=50	167	35,8
Estado Civil		
Casado/União consensual	270	57,8
Solteiro	173	37
Separado	15	3,2
Viúvo	9	2,0
Naturalidade		
Centro-Oeste	381	81,6
<i>Jataí (Goiás)</i>	193	
Nordeste	43	9,2
Sudeste	30	6,4
Sul	12	2,6
Norte	1	0,2

Tabela 1. Continuação. Variáveis sociodemográficas de 467 assentados da região sudoeste de Goiás, 2011

Variáveis	Participantes n=467	%
Escolaridade		
<=4	229	49
5 - 8	161	34,5
9 - 11	67	14,3
>=12	10	2,1
Religião		
Católica	236	50,5
Evangélica	157	33,6
Espírita	11	2,4
Sem religião	62	13,3
Sem informação	1	0,2

4.2. Marcadores sorológicos da infecção pelo vírus da hepatite B

Do total de assentados investigados, 51 apresentaram algum marcador sorológico de exposição para infecção pelo HBV, resultando em uma prevalência global de 10,9% (IC 95%: 8,4 - 14,1%). O Gráfico 1 apresenta a prevalência global do HBV, segundo cada assentamento.

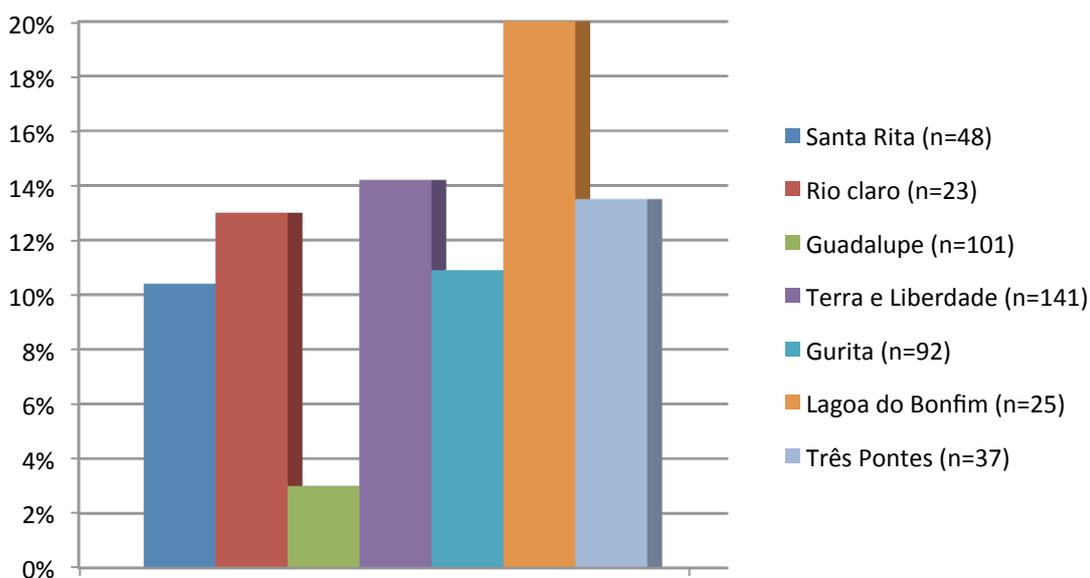


Gráfico 1. Prevalência global para o vírus da hepatite B, segundo o assentamento rural, 2011 ($\chi^2=10,65$; $p=0,10$)

O marcador anti-HBc foi detectado em 51 (10,9%; IC 95%: 8,4 - 14,1%) indivíduos, sendo 37 (7,9%; IC 95%: 5,8 - 10,7%) associados ao anti-HBs, e quatro (0,8%; IC 95%: 0,3 - 2,2%) ao HBsAg. Em 90 (19,3%; IC 95%: 15,9 - 23,1%) assentados, observou-se positividade isolada para o marcador anti-HBs, indicando vacinação prévia contra hepatite B (Tabela 2).

Tabela 2. Prevalência dos marcadores sorológicos do vírus da hepatite B em 467 assentados da região sudoeste de Goiás, 2011

Marcadores	Positivo		(IC 95%)*
	n	%	
HBsAg + anti-HBc	4	0,8	0,3 - 2,2
Anti-HBs + anti-HBc	37	7,9	5,8 - 10,7
Anti-HBc isolado	10	2,1	1,2 - 3,9
Algum marcador de exposição	51	10,9	8,4 - 14,1
Anti-HBs isolado	90	19,3	15,9 - 23,1

*IC 95%: Intervalo de confiança de 95%.

4.3. Análise das variáveis associadas ao vírus da hepatite B

Os potenciais fatores de risco para hepatite B (variáveis contínuas e categóricas) na população dos assentamentos investigados são apresentados nas Tabelas 3 e 4. Verificou-se que as variáveis contínuas idade, escolaridade, tempo de assentamento e número de pessoas residentes na mesma casa foram estatisticamente associadas à positividade para o HBV ($p \leq 0,01$) (Tabela 3).

Tabela 3. Potenciais variáveis contínuas associadas à positividade ao vírus da hepatite B em assentados da região sudoeste de Goiás, 2011

Variáveis	HBV	N	Média	Desvio Padrão	p
Idade (anos)	Não	325	37,6	19,2	0,000
	Sim	51	55,1	8,9	
Escolaridade (anos)	Não	303	5,1	3,3	0,006
	Sim	50	3,7	3,5	
Renda familiar mensal	Não	310	774,6	757,5	0,675
	Sim	49	727,5	509,3	
Tempo que viveu em acampamento (meses)	Não	221	56,7	43,2	0,968
	Sim	39	57	39,1	
Tempo que mora no assentamento (anos)	Não	322	4,8	3,3	0,005
	Sim	50	6,6	4,3	
Número de pessoas residentes na mesma casa	Não	322	3,8	1,8	0,011
	Sim	51	3,1	1,7	

A Tabela 4 mostra que ser do sexo masculino, possuir experiência em cárcere, história prévia de hemotransusão e internação hospitalar, bem como história de DST foram preditores de hepatite B nos assentamentos investigados ($p < 0,05$). Ainda, observou-se uma significância marginal em ter vivido em acampamento e positividade para HBV.

Tabela 4. Análise univariada dos fatores de risco para o vírus da hepatite B em 467 assentados da região sudoeste de Goiás, 2011

Variáveis	HBV		OR (IC 95%)*	p
	Pos/Total	(%)		
Sexo				
Feminino	14/181	7,7	1,0	0,001
Masculino	37/195	19	2,8 (1,4-5,4)	
História prévia de acampamento				
Não	10/111	9	1,0	0,095
Sim	41/265	15,5	1,8 (0,9-3,8)	
Compartilhamento de material cortante de higiene				
Não	25/160	15,6	1,0	0,224
Sim	24/212	11,3	0,7 (0,4-1,3)	
Tatuagem/piercing no corpo				
Não	50/289	17,3	-	0,143
Sim	0/15	0		
Experiência em cárcere				
Não	34/257	13,2	1,0	<0,001
Sim	17/46	37	3,8 (1,9-7,7)	
História de hemotransusão				
Não	37/323	11,5	1,0	0,001
Sim	14/48	29,2	3,2 (1,6-6,5)	
História de internação hospitalar				
Não	6/85	7,1	1,0	0,041
Sim	45/286	15,7	2,5 (1,0-6,0)	
Ingestão de bebida alcóolica				
Não	33/222	14,9	1,0	0,523
Sim	18/102	17,6	1,2(0,6-2,3)	
Uso de drogas ilícitas nos últimos 12 meses				
Não	1/9	11,1	-	0,439
Sim	0/5	0		
História de DST				
Não	30/221	13,6	1,0	0,016
Sim	20/79	25,3	2,2 (1,1-4,1)	
História de ferida em órgão genital nos últimos 12 meses				
Não	45/277	16,2	1,0	0,967
Sim	4/24	16,7	1,0 (0,3-3,2)	

*IC 95%: Intervalo de confiança de 95%.

As variáveis que apresentaram associação ao HBV, ou valor de p marginal foram incluídas em um modelo de regressão logística (Tabela 5). Após controle de possíveis variáveis confundidoras, observou-se que sexo masculino (OR ajustado: 2,65; $p= 0,007$), idade (OR ajustado: 1,07; $p= 0,000$), história de transfusão (OR ajustado: 2,52; $p= 0,025$) e maior tempo de moradia nos assentamentos (OR ajustado: 1,10; $p= 0,026$) foram variáveis associadas ao HBV. A variável experiência em cárcere apresentou associação marginal para o HBV (OR ajustado: 2,07; $p= 0,082$).

Tabela 5. Análise multivariada de variáveis sociodemográficas e comportamentos dos assentados associados ao vírus da hepatite B em assentamentos da região sudoeste de Goiás, 2011

Variáveis	Odds Ratio Ajustado (IC 95%)*	p
Sexo ¹	2,65 (1,30-5,38)	0,007
Escolaridade (anos) ¹	0,98 (0,88-1,09)	0,734
Idade (anos) ¹	1,07 (1,03-1,10)	0,000
História de vida em acampamento ²	1,78 (0,74-4,26)	0,195
Número de pessoas que residiam na mesma casa no assentamento ²	1,02 (0,82-1,29)	0,825
Tempo que vive no assentamento (anos) ²	1,10 (1,01-1,20)	0,026
Experiência em cárcere ³	2,07 (0,91-4,70)	0,082
História de DST ³	1,14 (0,55-2,35)	0,729
História de hemotransfusão ⁴	2,52 (1,12-5,66)	0,025

¹Ajustado por sexo, escolaridade, idade, história de acampamento, n° de pessoas que residem na mesma casa, tempo de assentamento, experiência em cárcere, história de DST e história de hemotransfusão; ²Ajustado por sexo, idade, escolaridade, história de acampamento, n° pessoas que residem na mesma casa, tempo de assentamento; ³Ajustado por sexo, escolaridade, idade, experiência em cárcere e história de DST; ⁴ Ajustado por sexo, escolaridade, idade e história de hemotransfusão. *IC 95%: Intervalo de confiança de 95%.

4.4. Caracterização das amostras HBsAg reagentes

Nas quatro amostras HBsAg reagentes foi detectado o HBV DNA. Todas foram submetidas ao sequenciamento da região S, obtendo sucesso na totalidade. Conforme a Figura 12, a partir da análise filogenética, foi possível identificar e caracterizar os genótipos/subgenótipos das amostras, sendo três classificadas como genótipo A, subgenótipo A1 e uma como genótipo D, subgenótipo D3.

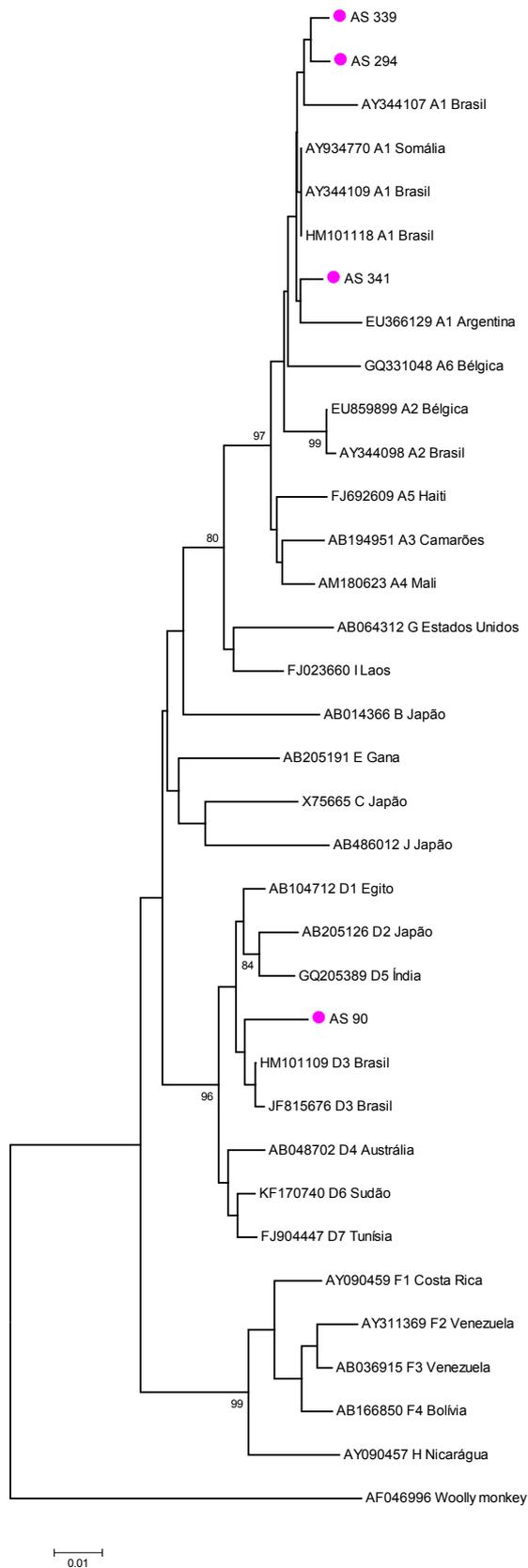


Figura 12. Árvore filogenética da região S do vírus da hepatite B, incluindo quatro isolados de assentados do sudoeste goiano (AS) e 30 sequências do GenBank dos genótipos A a J, indicando o número de acesso e o país de origem

Os indivíduos HBsAg/HBV DNA positivos eram adultos, do sexo masculino, casados e a maioria possuía baixa escolaridade. Todos os assentados naturais de Goiás estavam infectados com amostras do genótipo A1, enquanto o migrante do Sul do País com amostra do genótipo D3. Três informaram antecedentes de internações hospitalares (Tabela 6).

Em relação à ingestão de álcool, a metade referiu beber ao menos três vezes por semana, mas nenhum consumiu drogas ilícitas nos últimos 12 meses. Somente um assentado relatou história de DST, mas sem presença de ferida no órgão genital no último ano, como também somente um indivíduo vivenciou experiência em cárcere (Tabela 6).

A metade dos indivíduos relatou história de vida em acampamento e o tempo de vida nos assentamentos variou de 5 a 9 anos. As famílias eram compostas por três a quatro indivíduos, sendo que somente um assentado referiu compartilhar material cortante de higiene pessoal (Tabela 6).

Tabela 6. Características dos quatro indivíduos HBsAg positivos, 2011

Variáveis	Amostras HBsAg positivas			
	AS-90	AS-294	AS-339	AS-341
Genótipo	D3	A1	A1	A1
Assentamento	Lagoa do Bonfim	Guadalupe	Terra e Liberdade	Terra e Liberdade
Sexo	M	M	M	M
Idade (anos)	65	55	34	41
Natural	RS	GO	GO	GO
Escolaridade (anos)	SI*	5	2	2
Estado civil	Casado	Casado	Casado	Casado
Tabagista	Sim	Sim	Sim	Não
Tatuagem/ <i>piercing</i> no corpo	Não	Não	Não	Não
História de hemotransusão	Não	Não	Não	Não
História de internação hospitalar	Não	Sim	Sim	Sim
Ingestão de bebida alcoólica	Sim	Não	Sim	Não
Uso de drogas ilícitas nos últimos 12 meses	Não	Não	Não	Não
História de DST	Não	Sim	Não	Não
História de ferida em órgão genital nos últimos 12 meses	Não	Não	Não	Não
Experiência em cárcere	Não	Não	Sim	Não
História de vida em acampamento	Não	Sim	Não	Sim
Tempo que vive no assentamento (meses)	108	96	60	60
Número de pessoas na mesma casa no assentamento	4	3	3	4
Compartilhamento de material cortante de higiene	Não	Não	Sim	Não

*Sem informação

4.5. Cobertura vacinal contra hepatite B

Um total de 235 assentados era elegível para vacinação. Desses, 181 aceitaram a primeira dose da vacina, 150 (82,9%; 150/181) receberam as duas doses e 106 (58,6%; 106/181) completaram o esquema vacinal (Figura 13).

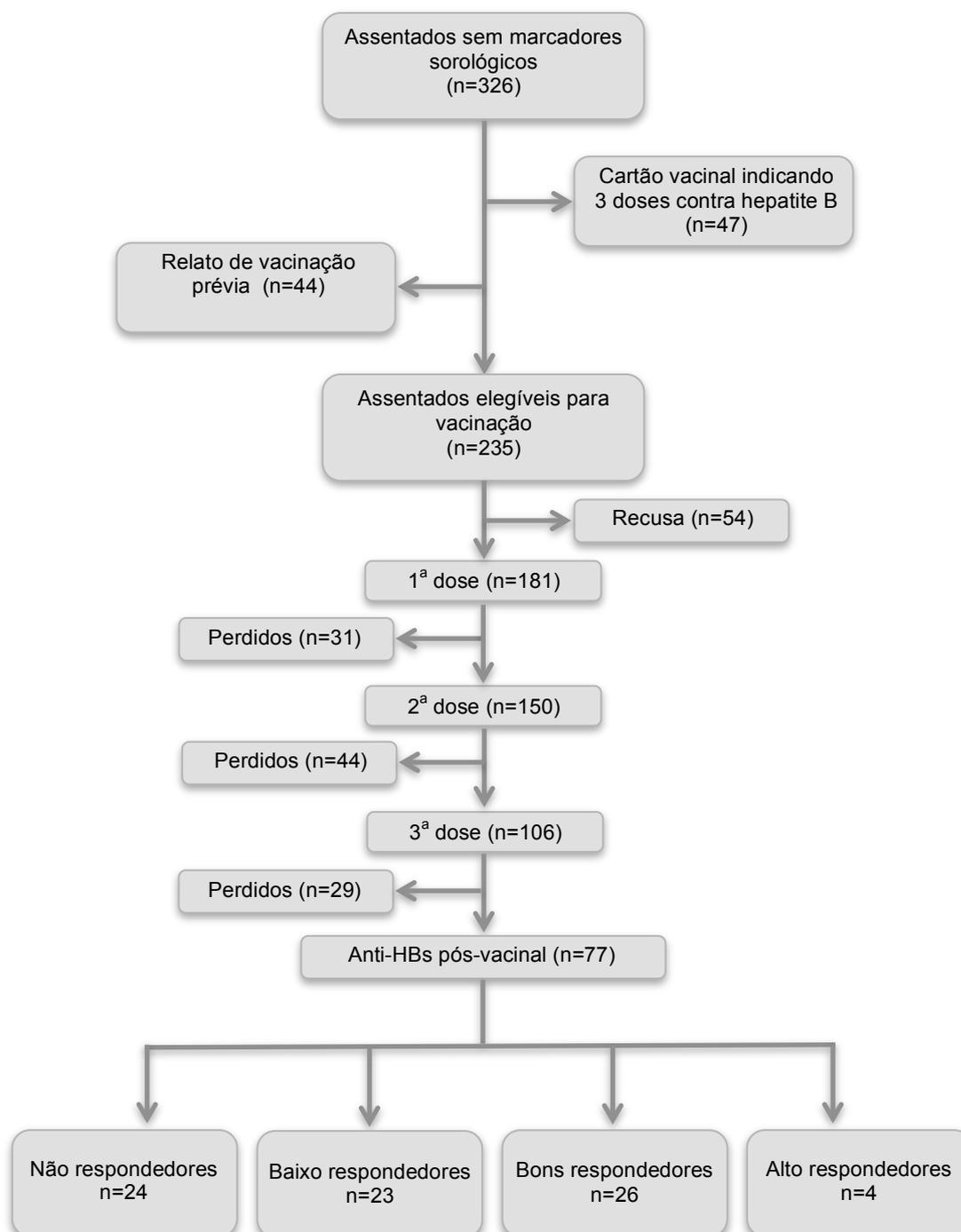


Figura 13. Fluxograma da vacinação contra hepatite B realizada em assentados do sudoeste goiano, 2011

A vacinação foi realizada nas sedes das associações dos assentamentos para facilitar o deslocamento dos assentamentos, e conseqüentemente, minimizar perdas. No período imediatamente anterior aos agendamentos das doses da vacina e coleta de sangue os assentados eram contatados, por meio dos agentes de saúde e/ou presidentes das associações, e alertados sobre os dias das ações, que eram realizadas pela equipe do projeto, em colaboração com as Secretarias Municipais de Saúde de Jataí e Perolândia. Apesar deste cuidado, houve perda de 31, 44 e 29 indivíduos entre a primeira e segunda dose da vacina, segunda e terceira dose, e entre a terceira e coleta de sangue, respectivamente. Em todos os casos, as perdas ocorreram pelo não comparecimento dos assentados nos agendamentos programados.

Dos 77 assentados que concluíram as três doses e foram avaliados quanto a resposta vacinal, 68,8% (53/77) apresentaram títulos protetores de anti-HBs e, destes, 30 desenvolveram títulos > 100 mUI/mL. A média geométrica dos títulos de anti-HBs foi 27,92 mUI/mL.

A Tabela 7 apresenta as características dos assentados respondedores e não respondedores à vacina contra hepatite B. Pode-se observar que houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,001$) considerando sexo, idade e tabagismo.

Tabela 7. Características dos assentados (n=77) respondedores e não respondedores à vacina contra hepatite B, sudoeste goiano, 2011

Variáveis	Respondedores (%)	Não Respondedores (%)	Total (%)	χ^2	p
	n=53	n=24			
Sexo					
Feminino	33 (62,3)	7 (29,2)	40 (51,9)	7,2	0,007
Masculino	20 (37,7)	17 (70,8)	37 (48,1)		
Idade (anos)					
≤ 40	22 (41,5)	1 (4,2)	23 (29,9)	11,8	0,003
41-50	17 (31,1)	10 (41,7)	27 (35,1)		
≥ 51	14 (26,4)	13 (54,2)	27 (35,1)		
Tabagista					
Não	42 (79,2)	12 (50)	54 (70,1)	6,7	0,009
Sim	11 (20,8)	12 (50)	23 (29,9)		

4.6. Marcador sorológico da infecção pelo vírus da hepatite D

Todas as quatro amostras HBsAg foram testadas para detecção de anti-HDV. Nenhuma apresentou positividade para este marcador.

5. DISCUSSÃO

Situações de pobreza e isolamento fazem das áreas rurais do Brasil zonas de desigualdades e vulnerabilidades sociais, que contribuem para a aquisição de doenças (CARNEIRO et al., 2008; SCOPINHO, 2010). Nesse contexto, as famílias acampadas e assentadas apresentam características ímpares que favorecem a aquisição e transmissão de doenças infecciosas, como a hepatite B (BERGAMASCHI, 2013; SOUTO et al., 2004). Apesar disso, do nosso conhecimento somente dois assentamentos rurais do Brasil (BERGAMASCHI, 2013; SOUTO et al., 2004) foram alvos de investigação de hepatite B, sendo o presente estudo o primeiro em Goiás.

No Brasil, os assentamentos rurais são considerados expressão de luta social dos trabalhadores do campo e de suas famílias (SCOPINHO, 2010). De fato, nesta investigação, bem como em outras conduzidas em assentamentos do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul verifica-se uma distribuição homogênea entre homens e mulheres, sendo que a maioria dos indivíduos é adulta e casada (BERGAMASCHI, 2013; SOUTO et al., 2004). Também, a baixa escolaridade observada nos assentados do sudoeste goiano evidencia a baixa condição socioeconômica dessa população (CASTRO, FERREIRA e MATTOS, 2011; CÓRDOVA, 2010; FERREIRA et al., 2012). Infelizmente, um estudo conduzido por Lima e Lopes (2012) em 33 assentamentos rurais do Rio Grande do Norte mostrou que o tempo de existência dessas unidades agrícolas não beneficiou os indicadores sociais (escolaridade e condições de moradia) e econômicos (renda e produtividade agropecuária) desses indivíduos, sugerindo que só o acesso a terra não é suficiente para reverter a situação social dessa população, mas há a necessidade de políticas públicas efetivas que os auxiliem a superar suas adversidades.

Interessante, ao contrário de outros assentamentos da Região Centro-Oeste e até mesmo de Goiás, onde a migração tem sido uma característica marcante (BERGAMASCHI, 2013; OLIVEIRA, 2012; SOUTO et al., 2004), nos assentamentos estudados quase a metade dos indivíduos eram naturais do próprio município de Jataí (41,3%) e do total de participantes, 81,6% eram provenientes da Região Centro-Oeste. Por outro lado, em Minas Gerais, em assentamentos do

município de Unaí verificou-se também um baixo fluxo migratório, corroborando com os dados do presente estudo. Metade dos assentados tinha origem no próprio município, e 43,8% eram de outros municípios mineiros. Somente 6,3% migraram de outros estados (ALTAFIN et al., 2011).

Investigações sobre a epidemiologia da infecção pelo HBV em populações rurais do Brasil mostram prevalências elevadas dessa infecção (BERGAMASCHI, 2013; CASTILHO et al., 2012; DE PAULA et al., 2001; MATOS et al., 2009; SOUTO et al., 1996). Os primeiros relatos de níveis elevados de endemicidade em populações nativas interioranas e rurais foram descritos na Amazônia brasileira, nas décadas de 70 e 80 (ALECRIM et al., 1986; BENSABATH e BOSHELL, 1973). Nessa região, taxas de prevalência de 70% de infecção passada (anti-HBc IgG) e 15% de infecção presente (HBsAg) foram descritas por Bensabath e Boshell (1973). Curiosamente, mesmo após a implementação da vacina contra hepatite B no PNI, prevalências elevadas para a infecção pelo HBV em populações rurais, ainda são encontradas (BRAGA, et al., 2012b; CASTILHO et al., 2012; KATSURAGAWA et al., 2010; MOTTA-CASTRO et al., 2005), contrariando os dados representativos da população urbana do Brasil (PEREIRA et al., 2010).

De fato, o inquérito de base populacional conduzido em populações urbanas revelou uma taxa global de prevalência de 7,4% (IC 95%: 6,8 - 8,0%), caracterizando o País como de baixa endemicidade para hepatite B (PEREIRA et al., 2010). Apesar disso, com exceção do estudo de Oliveira et al. (2011) em moradores da Ilha de Pacuí (Pará), tem sido observadas taxas de prevalência para o HBV (anti-HBc) superiores as encontradas nas populações urbanas, variando de 28% a 79,1% em ribeirinhos do Pará e Amazonas, respectivamente (vs. 10,9% na população urbana da Região Norte) (ALMEIDA, 2012; BRAGA, et al., 2012b; CASTILHO et al., 2012; KATSURAGAWA et al., 2010; PEREIRA et al., 2010). Na Região Centro-Oeste, onde a prevalência global para o HBV foi estimada em 4,3% na população urbana (PEREIRA et al., 2010), foram encontradas prevalências de 35,4% em quilombolas de Goiás (MATOS et al., 2009) e de 19,8% em quilombolas do Mato Grosso do Sul (MOTTA-CASTRO et al., 2005). Considerando os assentados, Bergamaschi (2013) encontrou uma prevalência de 24,1% (IC 95%: 20,4 - 28,2%) em indivíduos de um assentamento de Ponta Porã, Mato Grosso do Sul.

Nas famílias assentadas do sudoeste de Goiás, apesar da positividade para o HBV ter sido inferior ao encontrado em outras populações rurais da mesma

região, deve-se salientar que essa foi ainda 2,5 vezes maior do que a estimada para população urbana da Região Centro-Oeste (4,3%; IC 95%: 3,71 - 4,88%) (PEREIRA et al., 2010). Também, verificou-se uma estreita associação entre tempo de assentamento e positividade para o HBV. De acordo com o modelo multivariável ajustado, a cada ano de assentamento, os indivíduos teriam um incremento de 10% de adquirir hepatite B (OR= 1,10; $p= 0,026$).

Quatro indivíduos estavam infectados pelo HBV, considerando a positividade para o HBsAg, evidenciando, assim, a circulação do vírus nos assentamentos investigados. Todos eram adultos, possuíam mais de 30 anos e viviam no assentamento há pelo menos cinco anos. Três desses indivíduos estavam infectados com HBV subgenótipo A1, comum no Brasil (ARAUJO et al., 2014) e no Centro-Oeste (AIRES et al., 2012; MATOS et al., 2009; MOTTA-CASTRO et al., 2005). Curiosamente, o quarto indivíduo, um migrante do Rio Grande do Sul, estava infectado com amostra do subgenótipo D3, um subgrupo encontrado no Brasil, mais frequentemente em indivíduos da Região Sul (BECKER et al., 2013), provavelmente devido a forte colonização europeia nessa região (BERTOLINI et al., 2012).

Indivíduos do sexo masculino apresentaram 2,6 vezes mais chance de ter sido exposto ao HBV, quando comparados aos do sexo feminino. Alguns estudos sugerem que fatores biológicos e sociais contribuem para uma maior prevalência da infecção em homens (DURAZZO et al., 2014; VAN LUNZEN e ALTFELD, 2014). Diferenças genéticas e hormonais entre os gêneros apontam para uma menor resposta imunológica na eliminação do vírus em indivíduos do sexo masculino (DURAZZO et al., 2014; VAN LUNZEN e ALTFELD, 2014). Também, questões culturais e comportamentais desempenham um papel na exposição a doenças infecciosas, como a hepatite B (VAN LUNZEN e ALTFELD, 2014).

A idade, igualmente, foi um preditor de exposição ao HBV, indicando aumento cumulativo de risco de infecção ao longo da vida. Em regiões de baixa ou moderada endemicidade, a transmissão do HBV geralmente ocorre por via sexual ou parenteral, sendo associada a comportamentos e estilos de vida (PEREIRA et al., 2009; SOUTO et al., 2004).

A experiência em cárcere foi marginalmente associada à exposição ao HBV ($p= 0,082$). O caminho percorrido pelos trabalhadores rurais sem-terra, desde as ocupações de fazendas a posse legal dos assentamentos, é marcado por lutas, protestos, violência e repressão política, esta última representada pela ordem

prisional, a qual muitos sem-terra são submetidos (ESCRIVÃO FILHO e FRIGO, 2010; MANIGLIA e FIORATI, 2012). Muitos estudos em várias regiões do mundo (ADJEI et al., 2008; DANA et al., 2013; REEKIE et al., 2014) e no Brasil (BARROS et al., 2013; COELHO et al., 2009; EL MAERRAWI e CARVALHO, 2014) mostram que a prisão é um importante preditor de infecção pelo HBV. Em situação de cárcere, vários fatores e comportamentos de riscos expõem os indivíduos ao vírus, como comportamentos sexuais inseguros, compartilhamento de seringas/agulhas para uso de drogas injetáveis (BARROS et al., 2013; COELHO et al., 2009; STIEF et al., 2010), compartilhamento de objetos de uso pessoal (ALMASIO et al., 2011) e a realização de tatuagem com instrumentos improvisados, não esterilizados (ALMASIO et al., 2011; JAFARI et al., 2012).

Indivíduos que relataram antecedentes de transfusão de sangue apresentaram 2,5 vezes mais chance de positividade para o HBV. No Brasil, a triagem para o HBsAg tornou-se obrigatória em 1989 e para o anti-HBc em 1993 (BRASIL, 1988, 1993). Um estudo conduzido em Santa Catarina, após a implementação dessas medidas, estimou em 1:10.700 doações (IC 95%, 1:4.900 - 1:28.200) o risco residual de hepatite B pós-trasnfusional (MARESCH et al., 2008). Nesta investigação, dos 14 indivíduos anti-HBc positivos que referiram antecedentes de hemotransfusão, 10 foram transfundidos antes de 1993.

A vacina contra hepatite B é a ferramenta mais eficaz para a prevenção da infecção. Porém, mesmo após 2001, período que a distribuição gratuita da vacina contra hepatite B foi estendida para todos os indivíduos menores que 20 anos, baixos níveis de imunização são encontrados em populações rurais do Brasil (ALMEIDA et al., 2006; ALMEIDA, 2012; OLIVEIRA et al., 2011). Estudos desenvolvidos nessas populações têm mostrado taxas de imunização contra hepatite B variando de 10,5% a 34,3%, considerando o perfil sorológico anti-HBs isolado para definição de antecedentes de vacinação (ALMEIDA et al., 2006; BERGAMASCHI, 2013; KATSURAGAWA et al., 2010; MATOS et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011). Nos assentados do sudoeste goiano, 19,3% estavam imunizados pela vacina, utilizando a mesma definição. Por outro lado, dados do inquérito nacional, considerando o relato de vacinação, revelaram uma proporção maior de vacinados (41,5%) em população urbana da Região Centro-Oeste (PEREIRA et al., 2010).

Assim, independente dos critérios utilizados para definir a situação vacinal, os resultados mostram uma baixa cobertura vacinal contra hepatite B, em especial na população rural. Em 2010, o Ministério da Saúde incluiu os assentados e acampados como populações elegíveis para vacinação contra hepatite B, independentemente da faixa etária (BRASIL, 2010a). Assim, estudos futuros serão necessários para avaliar a efetividade desta política pública de ampliação da cobertura vacinal e a sua real contribuição para a prevenção e controle desta infecção nestes grupos mais vulneráveis.

A vacina contra hepatite B foi oferecida a todos os assentados elegíveis (n=235) e 77% iniciaram o esquema vacinal. Dos que receberam a primeira dose, 83% cumpriram o agendamento da segunda dose e 45,1% completaram o esquema vacinal. Esses achados ratificam que o longo intervalo entre a segunda e terceira dose da vacina contra hepatite B tem dificultado a conclusão do esquema vacinal (NELSON et al., 2009; SACCHETTO et al., 2013). De fato, principalmente em populações de difícil acesso, seja pelo isolamento territorial, como os assentados (BERGAMASCHI, 2013) e quilombolas (MOTTA-CASTRO et al., 2009) ou pela grande mobilidade, como profissionais do sexo (CARNEIRO et al., 2013) e usuários de drogas ilícitas (WINTER et al., 2013), percebe-se uma maior dificuldade para se completar as três doses da vacina, seguindo o esquema convencional.

Para suplantar estas dificuldades, em especial, para populações rurais, esforços devem ser feitos pelos profissionais de saúde. No Brasil, a ESF visa priorizar as ações de prevenção, promoção e recuperação da saúde dos indivíduos, compreendendo o contexto social e familiar ao qual estão inseridos, ampliando assim a relação com os serviços de saúde (FERNANDES e BOEHS, 2011). Em áreas rurais, principalmente para famílias assentadas, a implantação desta estratégia e o desenvolvimento de atividades de prevenção da hepatite B (vacinação) *in loco* poderia contribuir para uma maior adesão ao esquema vacinal completo. Realmente, Bueno e Matijasevich (2011) verificaram uma associação positiva entre o aumento do número de famílias assistidas pela ESF e cobertura vacinal.

Nos assentados que receberam as três doses da vacina, foi avaliada a resposta vacinal, sendo que quase um terço (31,2%; n= 24/77) não desenvolveu títulos protetores. As variáveis ser do sexo masculino, possuir idade avançada e fumar foram associadas a não resposta à vacina ($p < 0,01$). Essas características

têm sido consideradas preditoras para indivíduos não respondedores, considerando estudos desenvolvidos em várias regiões do mundo (CHATHURANGA, NOORDEEN e ABEYKOON, 2013; VERMEIREN, HOEBE e DUKERS-MUIJRERS, 2013; WOOD et al., 1993). No Brasil, Motta-Castro et al. (2009) mostraram, por meio de uma coorte de quilombolas vacinados do Mato Grosso do Sul, que ser homem e apresentar idade igual ou superior a 40 anos também foram preditores de não resposta vacinal, corroborando com o estudo atual.

A vacina de segunda geração contra hepatite B brasileira tem uma concentração de HBsAg recombinante superior a padrão-ouro, Engerix-B (25 µg vs 20 µg) (GILBERT et al., 2011; MORAES, LUNA e GRIMALDI, 2010). Acredita-se que com esta concentração, a imunogenicidade da vacina para adultos de 30 a 40 anos seja equivalente a padrão-ouro (MORAES, LUNA e GRIMALDI, 2010). De fato, neste estudo, 95,7% dos indivíduos com idade igual ou inferior a 40 anos responderam a vacina com título protetores. Contudo, na faixa etária de 41 a 50 anos e acima de 50 anos, somente 63% e 51,9% foram respondedores, respectivamente.

Investigações utilizando a vacina Engerix-B mostram taxas um pouco maiores de adultos mais velhos respondedores (GILBERT et al., 2011; VERMEIREN, HOEBE e DUKERS-MUIJRERS, 2013). Em um estudo multicêntrico realizado em 144 indivíduos com 50 anos ou mais que receberam as três doses da Engerix-B, 84% desenvolveram títulos protetores (GILBERT et al., 2011). Na Holanda, foram avaliados 11.439 indivíduos após esquema vacinal, sendo encontrado uma taxa de 90% de respondedores em homens e mulheres com idade de 41 anos e 53 anos, respectivamente, e de 80% em homens e mulheres com 54 anos e 68 anos, respectivamente (VERMEIREN, HOEBE e DUKERS-MUIJRERS, 2013).

O envelhecimento do sistema imunológico, também chamado imunossenescência, afeta a resposta à vacina contra hepatite B (ROSENBERG et al., 2013), por isso, em indivíduos mais velhos a taxa de soroproteção é geralmente menor. Contudo, os achados deste estudo sugerem que a imunogenicidade da vacina recombinante brasileira ainda é mais baixa em indivíduos acima de 40 anos, quando comparada à vacina padrão-ouro.

Estratégias bem sucedidas são relatadas na literatura para induzir títulos protetores, entre elas a administração de doses adicionais da vacina (ROUKENS et

al., 2010; STRUVE et al., 1994) e/ou doses mais concentradas (ROUKENS e VISSER, 2011). Realmente, em indivíduos imunodeprimidos, como portadores de doença renal crônica e HIV, devido ao caráter hiporresponsivo à vacina contra hepatite B, estudos mostram que essas estratégias induzem resposta vacinal protetora (AGARWAL, IRSHAD e DASH, 1999; AL SARAN et al., 2014; FONSECA et al., 2005; RAMEZANI et al., 2008; ROCKSTROH et al., 2008).

No Brasil, esquema mais reforçado (quatro doses duplas) já integra o PNI, sendo aplicado a grupos específicos como os portadores de doença renal e HIV (BRASIL, 2013a; DIVISÃO DE IMUNIZAÇÃO, 2006). Assim, mais estudos serão necessários para avaliar a real imunogenicidade do esquema convencional da vacina brasileira em indivíduos acima de 40 anos. De fato, considerando que a implementação da vacinação universal contra hepatite B em crianças e adolescentes desviará gradativamente a carga de portadores de hepatite B para faixas etárias mais velhas, deve-se garantir para essa população suscetível esquemas mais imunogênicos, que induzam uma resposta vacinal efetiva.

Alguns autores apresentam taxas de prevalência para o anti-HDV variando de 11,1% a 66,7%, em amostras HBsAg reagentes de populações rurais do norte do Mato Grosso e Acre, respectivamente (BRAGA, et al., 2012a; CASTILHO et al., 2012; DE PAULA et al., 2001; SOUTO et al., 1996; SOUTO et al., 2004). Porém, nos assentados do sudoeste goiano não foi observada positividade para esse marcador, sugerindo que a endemicidade para o HDV em populações rurais do Brasil é restrita à Região Amazônica.

Este estudo possui algumas limitações que devem ser consideradas. Os questionamentos de base comportamental podem estar subestimados, haja vista que numa população de vínculos familiares fortes, respostas socialmente aceitas são mais facilmente reportadas. Ainda, a estratégia de coleta de dados, por meio de amostra de conveniência (feira da saúde), pode ter favorecido a participação de indivíduos mais ativos e preocupados com a saúde. Por outro lado, o tamanho amostral e as características dos indivíduos estudados, que foram semelhantes as encontradas em outros assentamentos (BERGAMASCHI, 2013; FERREIRA et al., 2012; SOUTO et al., 2004), favorecem a validade externa dos resultados.

6. CONCLUSÃO

- Os assentados do sudoeste goiano são predominantemente adultos, casados, naturais do Centro-Oeste, cristãos e apresentam baixa escolaridade.
- A prevalência global para o HBV foi de 10,9%, caracterizando esta população como de baixa endemicidade para hepatite B. Contudo, essa prevalência foi 2,5 vezes maior do que a estimada para população urbana da Região Centro-Oeste (PEREIRA et al., 2010). Não foi identificado o marcador anti-HDV entre as amostras HBsAg reagentes.
- Verificou-se que sexo masculino, aumento da idade, história de transfusão sanguínea e maior tempo de moradia nos assentamentos foram preditores de infecção pelo HBV. Também, antecedente de cárcere foi marginalmente associado ao HBV.
- HBV DNA foi detectado no soro das quatro amostras HBsAg reagentes, evidenciando a circulação viral nos assentados do sudoeste goiano. Destas, três foram classificadas como subgenótipos A1 e uma como subgenótipo D3.
- Somente 19,3% dos assentados estudados apresentaram perfil sorológico de vacinação prévia contra hepatite B, sugerindo uma baixa cobertura vacinal nessa população.
- Um total de 181 assentados suscetíveis à hepatite B aceitaram a primeira dose da vacina contra hepatite B, e apenas 106 (58,6%; 106/181) completaram o esquema vacinal. A baixa adesão às três doses aponta para necessidade de estratégias diferenciadas de esquemas vacinais nesse grupo rural emergente.
- Verificou-se uma baixa resposta à vacina contra hepatite B nos assentados investigados, sendo idade acima de 40 anos, sexo masculino e tabagismo preditores de não respondedores.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ficou evidente durante o desenvolvimento deste estudo que obstáculos existem para uma assistência à saúde holística e individualizada às famílias rurais assentadas e mesmo a presença da ESF nos assentamentos, não representa uma solução imediata deste cenário. É preciso que as políticas públicas reconheçam as diversidades e características culturais do povo rural, para assim ser capaz de traçar medidas realistas de promoção, proteção e recuperação da saúde.

A consolidação dessa estratégia para a assistência a estes assentados precisa, portanto, ser sustentada por indicadores de saúde e de qualidade de vida. As carências existem, principalmente no que tange à prevenção da hepatite B, logo os dados apresentados por este estudo poderão subsidiar os futuros planejamentos deste projeto dinamizador, representado pela ESF.

Por outro lado, observa-se a necessidade da formação e atualização dos trabalhadores da saúde que assistem estas famílias dentro deste programa, garantindo assim a efetivação desta política nacional de saúde a todos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, Z.; AFZAL, R. Life cycle and pathogenesis of hepatitis D virus: a review. **World journal of hepatology**, v. 5, n. 12, p. 666-675, 2013.
- ABRAHAM, P. et al. Evaluation of a new recombinant DNA hepatitis B vaccine (Shanvac-B). **Vaccine**, v. 17, n. 9-10, p. 1125-1129, 1999.
- ADJEI, A. A. et al. Correlates of HIV, HBV, HCV and syphilis infections among prison inmates and officers in Ghana: A national multicenter study. **BMC infectious diseases**, v. 8, n. 33, 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2311310/> >. Acesso em: 2 jul. 2014.
- AGARWAL, S. K.; IRSHAD, M.; DASH, S. C. Comparison of two schedules of hepatitis B vaccination in patients with mild, moderate and severe renal failure. **The journal of the association of physicians of India**, v. 47, n. 2, p. 183-185, 1999.
- AIRES, R. S. et al. Prevalence of hepatitis B virus infection among tuberculosis patients with or without HIV in Goiânia City, Brazil. **Journal of clinical virology**, v. 54, n. 4, p. 327-331, 2012.
- AL SARAN, K. et al. Factors affecting response to hepatitis B vaccine among hemodialysis patients in a large Saudi Hemodialysis Center. **Saudi journal of kidney diseases and transplantation: an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia**, v. 25, n. 1, p. 185-191, 2014.
- ALECRIM, W. D. et al. Inquérito sobre presença de HBsAg em habitantes de Lábrea, Amazonas. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 19, n. 1, p. 58-59, 1986.
- ALMASIO, P. L. et al. Recommendations for the prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B and C in special population groups (migrants, intravenous drug users and prison inmates). **Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver**, v. 43, n. 8, p. 589-595, 2011.
- ALMEIDA, D. et al. Serological markers of hepatitis A, B and C viruses in rural communities of the semiarid Brazilian Northeast. **The Brazilian journal of infectious diseases**, v. 10, n. 5, p. 317-321, 2006.
- ALMEIDA, M. K. C. **Soroepidemiologia das hepatites virais B e C nas comunidades ribeirinhas residentes na região do lago da usina hidrelétrica de Tucuruí, estado do Pará**. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Universidade Federal do Pará, Belém, 2012.
- ALTAFIN, I. et al. Produção familiar de leite no Brasil: um estudo sobre os assentamentos de reforma agrária no município de Unaí (Mg). **Revista UNI**, v. 1, n. 1, p. 31-49, 2011.

ALTER, M. J. Epidemiology and prevention of hepatitis B. **Seminars in liver disease**, v. 23, n. 1, p. 39-46, 2003.

ALVARADO-MORA, M. V.; PINHO, J. R. Epidemiological update of hepatitis B, C and delta in Latin America. **Antiviral therapy**, v. 18, n. 3, p. 429-433, 2013.

ARAUJO, O. C. et al. Genetic variability of hepatitis B and C viruses in Brazilian patients with and without hepatocellular carcinoma. **Journal of medical virology**, v. 86, n. 2, p. 217-223, 2014.

ASHRAF, H. et al. Prevalence and risk factors of hepatitis B and C virus infections in an impoverished urban community in Dhaka, Bangladesh. **BMC infectious diseases**, v. 10, n. 208, p. 1-8, 2010.

ASPINALL, E. J. et al. Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. **Occupational medicine**, v. 61, n. 8, p. 531-540, 2011.

ASSAD, S.; FRANCIS, A. Over a decade of experience with a yeast recombinant hepatitis B vaccine. **Vaccine**, v. 18, n. 1-2, p. 57-67, 1999.

BACKMUND, M. et al. Factors associated with exposure to hepatitis B virus in injection drug users. **Drug and alcohol dependence**, v. 84, n. 2, p. 154-159, 2006.

BARBINI, L. et al. Molecular characterization of hepatitis B virus X gene in chronic hepatitis B patients. **Virology journal**, v. 9, n. 131, p. 1-14, 2012.

BARROS, L. A. S. et al. Epidemiology of the viral hepatitis B and C in female prisoners of Metropolitan Regional Prison Complex in the State of Goiás, Central Brazil. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 46, n. 1, p. 24-29, 2013.

BARROS, L. M. et al. Hepatitis Delta virus genotype 8 infection in Northeast Brazil: Inheritance from African slaves? **Virus research**, v. 160, n. 1-2, p. 333-339, 2011.

BARROS, L. M. et al. High prevalence of hepatitis B virus subgenotypes A1 and D4 in Maranhão state, Northeast Brazil. **Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases**, v. 16, n. 24, p. 68-75, 2014.

BAUER, T.; JILG, W. Hepatitis B surface antigen-specific T and B cell memory in individuals who had lost protective antibodies after hepatitis B vaccination. **Vaccine**, v. 24, n. 5, p. 572-577, 2006.

BECKER, C. E. et al. Melting curve analysis for the screening of hepatitis B virus genotypes A, D and F in patients from a general hospital in southern Brazil. **Arquivos de gastroenterologia**, v. 50, n. 3, p. 219-225, 2013.

BENSABATH, G.; BOSHELL, J. Presence of Australian (Au) antigen in population groups of the interior of the State of Amazonas, Brazil. **Revista do instituto de medicina tropical de São Paulo**, v. 15, n. 5, p. 284-288, 1973.

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

BERGAMASCO, S. M. P. P.; NORDER, L. A. C. **O que são assentamentos rurais**. São Paulo: Brasiliense, 1996. 88 p.

BERTOLINI, D. A. et al. Hepatitis B virus genotypes from European origin explains the high endemicity found in some areas from southern Brazil. **Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases**, v. 12, n. 6, p. 1295-1304, 2012.

BLUMBERG, B. S.; ALTER, H. J.; VISNICH, S. A "new" antigen in leukemia sera. **JAMA: the journal of the american medical association**, v. 15, n. 191, p. 541-546, 1965.

BLUMBERG, B. S. **Hepatitis B: the hunt for a killer virus**. New Jersey: Princeton University Press, 2003 p.

BLUMBERG, B. S. et al. A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia, and hepatitis. **Annals of internal medicine**, v. 66, n. 5, p. 924-931, 1967.

BOND, W. W. et al. Inactivation of hepatitis B virus by intermediate-to-high-level disinfectant chemicals. **Journal of clinical microbiology**, v. 18, n. 3, p. 535-538, 1983.

BORGES, A. M. T. et al. Hepatitis B in dialysis center in Goiânia - Goiás. **Revista de patologia tropical**, v. 26, n. 1, p. 9-16, 1997.

BOWYER, S. M. et al. A unique segment of the hepatitis B virus group A genotype identified in isolates from South Africa. **The Journal of general virology**, v. 78, n. 7, p. 1719-1729, 1997.

BRAGA, W. S. M. et al. Prevalência de marcadores sorológicos dos vírus da hepatite B e Delta em população assintomática: estudo do impacto do uso da vacina contra hepatite B em áreas hiperendêmicas, Itamarati- Amazonas, Vale do rio Juruá. **Revista da sociedade brasileira de medicina**, v. 31, p. 31, 1998.

BRAGA, W. S. M. Hepatitis B and D virus infection within Amerindians ethnic groups in the Brazilian Amazon: epidemiological aspects. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 37, n. S2, p. 9-13, 2004.

BRAGA, W. S. M. et al. Hepatitis D virus infection in the Western Brazilian Amazon - far from a vanishing disease. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 45, n. 6, p. 691-695, 2012a.

BRAGA, W. S. M. et al. Prevalence of hepatitis B virus infection and carriage after nineteen years of vaccination program in the Western Brazilian Amazon. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 45, n. 1, p. 13-17, 2012b.

BRASIL. Lei Federal nº 7.649 de 25 de Janeiro de 1988. Estabelece a obrigatoriedade do cadastramento dos doadores de sangue, bem como a realização de exames laboratoriais no sangue coletado, visando a prevenir a propagação de doenças, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 jan. 1988. Disponível em: < <http://legis.senado.gov.br/legislacao/ListaPublicacoes.action?id=131929> >. Acesso em: 02 jun. 2014.

_____. Portaria Nº. 1.376, de 19 de novembro de 1993. Normas técnicas em hemoterapia. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF, 2 dez. 1993. Disponível em: < https://http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CCcQFjAA&url=http%3A%2F%2Fsna.saude.gov.br%2Flegisla%2Flegisla%2Fhemo%2FGM_P1376_93hemo.doc&ei=Mc2NU972B8ybqAbwjoHgAQ&usg=AFQjCNHJ4Rk_x4cQWHQ_4L9HWfemVXpqqQ&sig2=tVhnxF8lhwsunly5DUaXQA&bvm=bv.68191837,d.b2k >. Acesso em: 23 abr. 2014.

_____. Ministério da Saúde. **Saúde dos trabalhadores rurais de assentamento e acampamentos da reforma agrária**. Brasília: Universidade de Brasília, 2001. 179 p.

_____. Ministério do Trabalho e Emprego. Departamento de Segurança e Saúde no Trabalho. **Norma Regulamentadora 32 - segurança e saúde no trabalho em serviços de saúde**. Brasília: Ministério do Trabalho e Emprego, 2002.

_____. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST e Aids. **A política do ministério da saúde para a atenção integral a usuários de álcool e outras drogas**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 60 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de aconselhamento em hepatites virais**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005a. 52 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Hepatites Virais: o Brasil está atento**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005b. 40 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Pré-natal e Puerpério: atenção qualificada e humanizada**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 163 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. **Política nacional de saúde integral das populações do campo e da floresta**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 30 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Parecer técnico n. 4 - 2010 CGPNI/DEVEP/SUS/MS e DST/AIDS e Hepatites Virais/SVS/MS. **Atualização da indicação da vacina hepatite B no serviços de saúde do SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010a.

_____. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Censo Demográfico 2010**. Brasília: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2010b.

_____. Ministério do Desenvolvimento Agrário. Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA). **Pesquisa sobre a qualidade de vida, produção e renda dos assentamentos da Reforma Agrária**. Brasília: Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA), 2010c.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. **Política Nacional de Saúde Integral das Populações do Campo e da Floresta**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011a. 54 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o tratamento da hepatite viral crônica B e coinfeções**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011b. 132 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais. **Manual de treinamento para teste rápido hepatites B (HBsAg) e C (anti-HCV)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011c. 31 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Ano III. **Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 176 p.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013a. 214 p.

_____. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Nota Técnica Conjunta n. 2/2013. **Ampliação da oferta da vacina hepatite B para a faixa etária de 30 a 49 anos em 2013**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013b.

_____. Ministério do Desenvolvimento Agrário. Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA). **Número Total de Famílias Assentadas - SR04**. Goiânia: Superintendência Regional do Estado de Goiás - SR04, 2014.

BRUSS, V. Hepatitis B virus morphogenesis. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 13, n. 1, p. 65-73, 2007.

BUENO, M. M.; MATIJASEVICH, A. Avaliação da cobertura vacinal contra hepatite B nos menores de 20 anos em municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 20, n. 3, p. 345-354, 2011.

CARNEIRO, F. F. et al. Saúde de famílias do Movimento dos Trabalhadores Sem Terra e de bóias-frias, Brasil, 2005. **Revista de saúde pública**, v. 42, n. 4, p. 757-763, 2008.

CARNEIRO, L. M. et al. Outreach Hepatitis B Vaccination of Female Sex Workers in Central-West Brazil: Immunization Status, Compliance, and Immune Response. **Journal of public health management and practice: JPHMP**, v. 27, 2013.

- CASTILHO, M. C. et al. Epidemiology and molecular characterization of hepatitis B virus infection in isolated villages in the Western Brazilian Amazon. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 87, n. 4, p. 768-774, 2012.
- CASTRO, M. G. G. M. D.; FERREIRA, A. P.; MATTOS, I. E. Uso de agrotóxicos em assentamentos de reforma agrária no Município de Russas (Ceará, Brasil): um estudo de caso. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 20, n. 2, p. 245-254, 2011.
- CDC. Hepatitis B. In: CDC. **Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases**. 12 ed. Washington: Public Health Foundation, 2012. 115-138 p.
- CHATHURANGA, L. S.; NOORDEEN, F.; ABEYKOON, A. M. Immune response to hepatitis B vaccine in a group of health care workers in Sri Lanka. **International journal of infectious diseases: IJID**, v. 17, n. 11, p. 1078-1079, 2013.
- CHEVALIEZ, S.; PAWLOTSKY, J. M. Diagnosis and management of chronic viral hepatitis: antigens, antibodies and viral genomes. **Best practice & research. Clinical gastroenterology**, v. 22, n. 6, p. 1031-1048, 2008.
- CHEVALIEZ, S.; RODRIGUEZ, C.; PAWLOTSKY, J. M. New virologic tools for management of chronic hepatitis B and C. **Gastroenterology**, v. 142, n. 6, p. 1303-1313, 2012.
- CLEMENTS, C. J. et al. Global control of hepatitis B virus: does treatment-induced antigenic change affect immunization? **Bulletin of the World Health Organization**, v. 88, p. 66-73, 2010.
- COELHO, H. C. et al. Soroprevalência da infecção pelo vírus da Hepatite B em uma prisão brasileira. **Revista brasileira de epidemiologia**, v. 12, n. 2, p. 124-131, 2009.
- CÓRDOVA, T. A. B. **A realidade da saúde dos Sem Terra: o caso do Assentamento Butiá, Santa Catarina, Brasil**. 2010. 180 f. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- COSTA, B. M.; OLIVEIRA, R. M.; RIBEIRO, D. D. Uso de indicadores sócioambientais para avaliação do assentamento Santa Rita, em Jataí-GO. In: 5º Encontro da Rede de Estudos Rurais - UFPA, 2012, Belém, Pará. **Anais...** Belém: UFPA, 2012.
- CRISPIM, M. A. et al. Molecular epidemiology of hepatitis B and hepatitis delta viruses circulating in the Western Amazon region, North Brazil. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 94, p. 1-9, 2014.
- DA BENINCÁ, M. C.; DE OLIVEIRA, R. M.; RIBEIRO, D. D. Uso de indicadores sócioambientais para avaliação do assentamento Santa Rita, em Jataí-GO. In: 5º Encontro da Rede de Estudos Rurais - UFPA, 2012, Belém, Pará. **Anais...** Belém: UFPA, 2012.
- DANA, D. et al. Risk prison and hepatitis B virus infection among inmates with history of drug injection in Isfahan, Iran. **The scientific world journal**, v. 2013, 2013.

Disponível em: < <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/735761/> >. Acesso em: 2 jul. 2014.

DANDRI, M.; LOCARNINI, S. New Insight in the Pathobiology of Hepatitis B Virus Infection. **Gut**, v. 61, n. S1, p. 6-17, 2012.

DANE, D. S.; CAMERON, C. H.; BRIGGS, M. Virus-like particles in serum of patients with australia-antigen-associated hepatitis. **Lancet**, v. 295, n. 7649, p. 695-698, 1970.

DE LA HOZ, F. et al. Vaccine coverage with hepatitis B and other vaccines in the Colombian Amazon: do health worker knowledge and perception influence coverage? **Tropical medicine & international health: TM & IH**, v. 10, n. 4, p. 322-329, 2005.

DE OLIVEIRA, P. R. et al. Hepatitis B viral markers in banked human milk before and after Holder pasteurization. **Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, v. 45, n. 4, p. 281-284, 2009.

DE PAULA MACHADO, D. F. et al. Prevalence and factors associated with hepatitis B virus infection among senior citizens in a southern brazilian city. **Hepatitis monthly**, v. 13, n. 5, p. 7874, 2013.

DE PAULA, V. S. et al. Seroprevalence of Viral Hepatitis in Riverine Communities from the Western Region of the Western Region of the Brazilian Amazon Basin. **Memórias do instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 8, p. 1123-1128, 2001.

DENY, P.; ZOULIM, F. Hepatitis B virus: from diagnosis to treatment. **Pathologie-biologie**, v. 58, n. 4, p. 245-253, 2010.

DIAS, A. L. et al. Molecular characterization of the hepatitis B virus in autochthonous and endogenous populations in the Western Brazilian Amazon. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 45, n. 1, p. 9-12, 2012.

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

DOS ANJOS, G. R. et al. Epidemiology of hepatitis B virus infection in first-time blood donors in the southwestern region of Goiás, central Brazil. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 33, n. 1, p. 38-42, 2011.

DURAZZO, M. et al. Gender specific medicine in liver diseases: a point of view. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 20, n. 9, p. 2127-2135, 2014.

EASL. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. **Journal of hepatology**, v. 57, p. 167-185, 2012.

EL MAERAWI, I.; CARVALHO, H. B. Prevalence and risk factors associated with HIV infection, hepatitis and syphilis in a state prison of Sao Paulo. **International journal of STD & AIDS**, v. 14, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24733152> >. Acesso em: 2 jul. 2014.

ESCRIVÃO FILHO, A. S.; FRIGO, D. A luta por direitos e a criminalização dos movimentos sociais: a qual Estado de Direito serve o sistema de justiça? **Terra de Direitos - Organização de Direitos Humanos**, Curitiba, 2010. Disponível em: < <http://terradedireitos.org.br/wp-content/uploads/2010/05/Artigo-CPT-2010-Frigo-e-Escriv%C3%A3o.pdf> >. Acesso em: 2 jul. 2014.

FEITELSON, M. A.; DUAN, L. X. Hepatitis B virus X antigen in pathogenesis of chronic infections and the development of hepatocellular carcinoma. **The American journal of pathology**, v. 150, n. 4, p. 1141-1157, 1997.

FERNANDES, G. C. M.; BOEHS, A. E. Contribuições da literatura para a enfermagem de família no contexto rural. **Texto e contexto - Enfermagem**, v. 20, n. 4, p. 803-811, 2011.

FERREIRA, I. M. et al. Factors associated with the incidence of malaria in settlement areas in the district of Juruena, Mato Grosso state, Brazil. **Ciência & saúde coletiva**, v. 17, n. 9, p. 2415-2424, 2012.

FLAUM, A. et al. Eine nosocomiale Ikterus epidemie. **Acta medica scandinavica**, v. 64, n. S16, p. 544-553, 1926.

FONSECA, J. C. F. Hepatite D. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 35, n. 2, p. 181-190, 2002.

FONSECA, J. C. F. D. Histórico das hepatites virais. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 43, n. 3, p. 322-330, 2010.

FONSECA, M. O. et al. Randomized trial of recombinant hepatitis B vaccine in HIV-infected adult patients comparing a standard dose to a double dose. **Vaccine**, v. 23, n. 22, p. 2902-2908, 2005.

FRANCO, E. et al. Hepatitis B: Epidemiology and prevention in developing countries. **World journal of hepatology**, v. 4, n. 3, p. 74-80, 2012.

FRANCO, O. **História da Febre Amarela no Brasil**. 1 ed. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 1969 p.

FREITAS, S. Z. et al. Prevalence, risk factors and genotypes of hepatitis B infection among HIV-infected patients in the State of Mato Grosso do Sul, Central Brazil. **The Brazilian journal of infectious diseases**, v. 8670, n. S14, p. 1413, 2014.

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

GILBERT, C. L. et al. Safety and immunogenicity of a modified process hepatitis B vaccine in healthy adults ≥ 50 years. **Human vaccines**, v. 7, n. 12, p. 1336-1342, 2011.

GORGOS, L. Sexual transmission of viral hepatitis. **Infectious disease clinics of North America**, v. 27, n. 4, p. 811-836, 2013.

GOTTLIEB, S. L. et al. Toward global prevention of sexually transmitted infections (STIs): The need for STI vaccines. **Vaccine**, v. 32, n. 14, p. 1527-1535, 2014.

GRIMM, D.; THIMME, R.; BLUM, H. E. HBV life cycle and novel drug targets. **Hepatology international**, v. 5, n. 2, p. 644-653, 2011.

GULSEN, M. T. et al. Testing for hepatitis B and C virus infection before upper gastrointestinal endoscopy: justification for dedicated endoscope and room for hepatitis patients. **Clinics in liver disease**, v. 14, n. 1, p. 61-68, 2010.

HATZAKIS, A.; MAGIORKINIS, E.; HAIDA, C. HBV Virological Assessment. **Journal of hepatology**, v. 44, n. S1, p. 71-76, 2006.

HOPE, V. D. et al. Prevalence and estimation of hepatitis B and C infections in the WHO European Region: a review of data focusing on the countries outside the European Union and the European Free Trade Association. **Epidemiology and infection**, v. 142, n. 2, p. 270-286, 2014.

HOU, J.; LIU, Z.; GU, F. Epidemiology and Prevention of Hepatitis B Virus Infection. **International journal of medical sciences**, v. 2, n. 1, p. 50-54, 2005.

HUGHES, S. A.; WEDEMEYER, H.; HARRISON, P. M. Hepatitis delta virus. **Lancet**, v. 378, n. 9785, p. 73-85, 2011.

ICTV. Virus taxonomy: 2013 release. **International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)**, Edinburgh, 2013. Disponível em: < http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?taxnode_id=20132047 >. Acesso em: 24 mar. 2014.

INCRA. Incra é imitado na posse da fazenda Nossa Senhora de Guadalupe (GO). **Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA)**, Brasília, 2007. Disponível em: < <http://incra.gov.br/index.php/noticias-sala-de-imprensa/noticias/6313-incra-a-imitado-na-posse-da-fazenda-nossa-senhora-de-guadalupe-go> >. Acesso em: 23 abr. 2014.

_____. Histórico da questão agrária. **Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA)**, Brasília, 2011. Disponível em: < <http://www.incra.gov.br/index.php/reforma-agraria-2/questao-agraria/historico-da-questao-agraria> >. Acesso em: 01 abr. 2014.

_____. Assentamentos de trabalhadores (as) rurais - números oficiais. **Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA)**, Brasília, 2013. Disponível em: < file:///Users/usuario/Downloads/02-ASSENTAMENTOS.pdf >. Acesso em: 04 abr. 2014.

IOSHIMOTO, L. M. et al. Safety and immunogenicity of hepatitis B vaccine Butang in adults. **Revista do instituto de medicina tropical de São Paulo**, v. 41, n. 3, p. 191-193, 1999.

JAFARI, S. et al. Tattooing and risk of hepatitis B: a systematic review and meta-analysis. **Canadian journal of public health**, v. 103, n. 3, p. 207-212, 2012.

- JILG, W. et al. Clinical evaluation of a recombinant hepatitis B vaccine. **Lancet**, v. 2, n. 8413, p. 1174-1175, 1984.
- JINDAL, A.; KUMAR, M.; SARIN, S. K. Management of acute hepatitis B and reactivation of hepatitis B. **Liver International**, v. 33, n. S1, p. 164-175, 2013.
- JULIO, R. S.; FILARDI, M. B. S.; MARZIALE, M. H. P. Acidentes de trabalho com material biológico ocorridos em municípios de Minas Gerais. **Revista brasileira de Enfermagem**, v. 67, n. 1, p. 119-126, 2014.
- KANIA, D. et al. Performance of two real-time PCR assays for hepatitis B virus DNA detection and quantitation. **Journal of virological methods**, v. 201, p. 24-30, 2014.
- KATSURAGAWA, T. H. et al. Alta Soroprevalência dos Marcadores das Hepatites B e C na Região do Alto Rio Madeira, Porto Velho, Rondônia, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de saúde**, v. 1, n. 2, p. 91-96, 2010.
- KHODADOOSTAN, M. et al. The assessment of hepatitis B seroprevalence in persons with intravenous drug use history in the Isfahan province: Community-based study. **Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences**, v. 19, n. 1, p. 65-68, 2014.
- KIDD-LJUNGGREN, K. et al. High levels of hepatitis B virus DNA in body fluids from chronic carriers. **The Journal of hospital infection**, v. 64, n. 4, p. 352-357, 2006.
- KOFF, R. S. Immunogenicity of hepatitis B vaccines: implications of immune memory. **Vaccine**, v. 20, n. 31-32, p. 3695-3701, 2002.
- KOMAS, N. P. et al. Cross-sectional study of hepatitis B virus infection in rural communities, Central African Republic. **BMC infectious diseases**, v. 13, n. 286, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3694350/> >. Acesso em: 19 mar. 2014.
- KONG, L. N. et al. The relationship between hepatitis B virus genotype B and C and response to interferon therapy in HBeAg positive chronic hepatitis B patients: a meta-analysis. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 18, p. 1-12, 2014.
- KRAMVIS, A.; KEW, M.; FRANÇOIS, G. Hepatitis B virus genotypes. **Vaccine**, v. 23, n. 19, p. 2409-2423, 2005.
- KRUGMAN, S.; GILES, J. P.; HAMMOND, J. Viral hepatitis, type B (MS-2 strain). Studies on active immunization. **JAMA: the journal of the american medical association**, v. 217, n. 1, p. 41-45, 1971.
- KRUGMAN, S. Hepatitis B: historical aspects. **American journal of infection control**, v. 1989, n. 3, p. 165-167, 1989.
- KURBANOV, F.; TANAKA, Y.; MIZOKAMI, M. Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus. **Hepatology Research**, v. 40, n. 1, p. 14-30, 2010.
- LAI, M. M. C. Hepatitis Delta virus. In: WEBSTER, R. G. e GRANOFF, A. **Encyclopedia of virology**. London: Academic Press Ltda, 1994. 574-580 p.

- LEITE JÚNIOR, C. B. et al. Indicadores social-econômico e ambiental em assentamentos de reforma agrária no cerrado goiano. **CAMPO-TERRITÓRIO: revista de geografia agrária**, v. 8, n. 16, p. 342-378, 2013.
- LIANG, T. J. Hepatitis B: the virus and disease. **Hepatology**, v. 49, n. S5, p. 13-21, 2009.
- LIMA, B. F. R. et al. Occupational infection by the hepatitis B virus: risk and prevention measures. **Journal of human growth and development**, v. 23, n. 2, p. 184-189, 2013.
- LIMA, J. R. S. **Etnobotânica no cerrado: um estudo no assentamento Santa Rita, Jataí (GO)**. 2013. 87 f. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Geografia, Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2013.
- LIMA, K. K. S. D.; LOPES, P. F. M. A qualidade sócioambiental em assentamentos rurais do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência rural**, v. 42, n. 12, p. 2295-2300, 2012.
- LIU, C. J.; KAO, J. H. Global perspective on the natural history of chronic hepatitis B: role of hepatitis B virus genotypes A to J. **Seminars in liver disease**, v. 33, n. 2, p. 97-102, 2013.
- LOBATO, C. et al. Intrafamilial prevalence of hepatitis B virus in Western Brazilian Amazon region: epidemiologic and biomolecular study. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 21, n. 5, p. 863-868, 2006.
- LOCARNINI, S.; OMATA, M. Molecular virology of hepatitis B virus and the development of antiviral drug resistance. **Liver International**, v. 2, n. S2, p. 11-22, 2006.
- LOCARNINI, S.; ZOULIM, F. Molecular genetics of HBV infection. **Antiviral therapy**, v. 15, n. S3, p. 3-14, 2010.
- LOK, A. S.; MCMAHON, B. J. Chronic hepatitis B. **Hepatology**, v. 45, n. 6, p. 1347, 2007.
- LOZANO, R. et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **Lancet**, v. 380, n. 9859, p. 2095-2128, 2012.
- LUNA, E. J. A. et al. Eficácia e segurança da vacina brasileira contra hepatite B em recém-nascidos. **Revista de saúde pública**, v. 43, n. 6, p. 1014-1020, 2009.
- LURMAN, A. Eine icterus epidemic. **Berlin Klinische Wochenschrift**, v. 22, p. 20-23, 1885.
- MACCALLUM, F. O. Homologous Serum Jaundice. **Lancet**, v. 2, p. 691-692, 1947.
- MADAN, K.; TYAGI, P. Hepatitis B Virus Genotyping: Is the Time Ripe for Routine Clinical Use? **Journal of clinical and experimental hepatology**, v. 2, p. 174-180, 2012.

MAHTAB, M. A. et al. Hepatitis B virus genotypes: an overview. **Hepatobiliary & pancreatic diseases international: HBPD INT**, v. 7, n. 5, p. 457-464, 2008.

MANIGLIA, E.; FIORATI, J. J. Criminalidade e violência no âmbito rural: críticas e reflexões. **Revista Jurídica do Curso de Direito da Faculdade de Educação São Luís**, São Paulo, 2012. Disponível em: < <http://www.saoluis.br/revistajuridica/arquivos/012.pdf> >. Acesso em: 2 jul. 2014.

MANSOUR-GHANAIEI, F. et al. Intrafamilial spread of hepatitis B virus in Guilan Province-North of Iran. **International journal of molecular epidemiology and genetics**, v. 4, n. 4, p. 250-257, 2013.

MARESCH, C. et al. Residual infectious disease risk in screened blood transfusion from a high-prevalence population: Santa Catarina, Brazil. **Transfusion**, v. 48, n. 2, p. 273-281, 2008.

MARTINS, R. M. et al. Estudo multicêntrico de imunogenicidade e reatogenicidade de vacinas contra hepatite B: informe preliminar. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 12, n. 3, p. 165-166, 2003.

MARTINS, R. M. et al. Multicenter Study on the Immunogenicity and Safety of Two Recombinant Vaccines Against Hepatitis B. **Memórias do instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 8, p. 865-871, 2004.

MAST, E. E. et al. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children, and adolescents. **MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports / Centers for Disease Control**, v. 55, n. 6, p. 158-159, 2005.

MAST, E. E.; WARD, J. W. Hepatitis B vaccine. In: PLOTKIN, S.; ORENSTEIN, W. e OFFIT, P. **Vaccines**. 5th ed. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders Company, 2008. 205-242 p.

MATOS, M. A. et al. Epidemiological study of hepatitis A, B and C in the largest Afro-Brazilian isolated community. **Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene**, v. 103, n. 9, p. 899-905, 2009.

MCCMAHON, B. J. Chronic hepatitis B virus infection. **The Medical clinics of North America**, v. 98, n. 1, p. 39-54, 2014.

MEDEIROS, L. S. As novas faces do rural e a luta por terra no Brasil contemporâneo. **Nômadias**, n. 20, p. 210-218, 2004.

MELLO, F. C. et al. Hepatitis B virus genotypes circulating in Brazil: molecular characterization of genotype F isolates. **BMC microbiology**, v. 23, n. 7, p. 103, 2007.

MELLO, F. C. et al. Phylogeography and evolutionary history of hepatitis B virus genotype F in Brazil. **Virology journal**, v. 16, n. 10, p. 236, 2013.

- MICHEL, M. L.; TIOLLAIS, P. Hepatitis B vaccines: protective efficacy and therapeutic potential. **Pathologie-biologie**, v. 58, n. 4, p. 288-295, 2010.
- MORAES, J. C.; LUNA, E. J. A.; GRIMALDI, R. A. Imunogenicidade da vacina brasileira contra hepatite B em adultos. **Revista de saúde pública**, v. 44, n. 2, p. 353-359, 2010.
- MOREIRA, V. D.; SIQUEIRA, A. M.; SILVA, J. R. C. O movimento sindical dos trabalhadores rurais na década de 1990 em Goiás: encontros e desencontros. In: III Simpósio Nacional de História da UEG, 2013, Iporá, Goiás. **Anais...** Iporá: UEG, 2013, p. 570-578.
- MOTTA-CASTRO, A. R. et al. Hepatitis B virus infection in isolated Afro-Brazilian communities. **Journal of medical virology**, v. 77, n. 2, p. 188-193, 2005.
- MOTTA-CASTRO, A. R. C. et al. Seroprevalence of Hepatitis B vírus Infection among an Afrodescendant Community. **Memórias do instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 1, p. 13-17, 2003.
- MOTTA-CASTRO, A. R. C. et al. Compliance with and response to hepatitis B vaccination in remaining quilombo communities in Central Brazil. **Cadernos de saúde pública**, v. 25, n. 4, p. 738-742, 2009.
- NELSON, J. C. et al. Compliance with multiple-dose vaccine schedules among older children, adolescents, and adults: results from a vaccine safety datalink study. **American journal of public health**, v. 99, n. S2, p. 389-397, 2009.
- NIEL, C. et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains isolated in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of medical virology**, v. 44, n. 2, p. 180-186, 1994.
- NORDER, H. et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. **Intervirolgy**, v. 47, n. 6, p. 289-309, 2004.
- OKAMOTO, H. et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. **The Journal of general virology**, v. 69, n. 10, p. 2573-2583, 1988.
- OLINGER, C. M. et al. Possible new hepatitis B virus genotype, Southeast Asia. **Emerging infectious diseases**, v. 14, n. 11, p. 1777-1780, 2008.
- OLIVEIRA, C. S. F. et al. Hepatitis B and C virus infection among Brazilian Amazon riparians. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 44, n. 5, p. 546-550, 2011.
- OLIVEIRA, M. D. et al. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection and high rate of response to hepatitis B virus Butang vaccine in adolescents from low income families in Central Brazil. **Memórias do instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 3, p. 251-256, 2006.
- OLIVEIRA, M. L. R. D. Migrações para assentamentos rurais: analisando as trajetórias de assentados no município de Padre Bernardo no Estado de Goiás

Brasil. **Mundo agrário**, v. 12, n. 24, 2012. Disponível em: < <http://www.mundoagrario.unlp.edu.ar/article/view/v12n24a07/2235> >. Acesso em: 20 jun. 2014.

ORSÁGOVÁ, I. et al. Evaluation of prophylactic precautions after exposure to biological materials. **Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie: casopis Spolecnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti J.E. Purkyne**, v. 63, n. 1, p. 50-55, 2014.

OTT, J. J. et al. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. **Vaccine**, v. 30, n. 12, p. 2212-2219, 2012.

PASSOS, A. D. C. et al. Prevalência de marcadores sorológicos de hepatite B numa pequena comunidade rural do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de saúde pública**, v. 26, n. 2, p. 119-124, 1993.

PEREIRA, L. M. M. B. et al. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 81, n. 2, p. 240-247, 2009.

PEREIRA, L. M. M. B. et al. Universidade de Pernambuco. Núcleo de Pós-Graduação. **Estudo de prevalência de base populacional das infecções pelos Vírus das Hepatites A, B e C nas capitais do Brasil**. Recife: Ministério da Saúde - Organização Pan-Americana de Saúde, 2010. 295 p.

PERKINS, J. A. Hepatitis B virus. 2002. Disponível em: < <http://www.ibibiobase.com/projects/hepatitis/hepatitis-aB.html> >. Acesso em: 20 mar. 2014.

PHUNG, T. B. et al. Genotype X/C recombinant (putative genotype I) of hepatitis B virus is rare in Hanoi, Vietnam--genotypes B4 and C1 predominate. **Journal of medical virology**, v. 82, n. 8, p. 1327-1333, 2010.

PORTAL BRASIL. Brasil promove campanha para testagem de hepatites. 2013. Disponível em: < <http://www.brasil.gov.br/saude/2013/07/brasil-realiza-mobilizacao-para-testagem-de-hepatites> >. Acesso em: 12 abr. 2014.

PRICE, J. An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. **Topics in antiviral medicine**, v. 21, n. 5, p. 157-63, 2014.

PRINCE, A. M. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, v. 60, n. 3, p. 814-821, 1968.

QIAN, W. P. et al. Rapid quantification of semen hepatitis B virus DNA by real-time polymerase chain reaction. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 11, n. 34, p. 5385-5389, 2005.

RADCLIFFE, R. A. et al. Hepatitis B virus transmissions associated with a portable dental clinic, West Virginia, 2009. **Journal of the american dental association**, v. 144, n. 10, p. 1110-1118, 2013.

RAMEZANI, A. et al. Persistence of hepatitis B vaccine immunity in hemodialysis patients. **Therapeutic apheresis and dialysis**, v. 12, n. 2, p. 143-146, 2008.

REEKIE, J. M. et al. Trends in HIV, hepatitis B and hepatitis C prevalence among Australian prisoners - 2004, 2007, 2010. **The Medical journal of Australia**, v. 200, n. 5, p. 277-280, 2014.

REUBEN, A. Landmarks in hepatology: the thin red line. **Hepatology**, v. 36, p. 770-776, 2002.

REZAEI-ZAVAREH, M. S.; EINOLLAHI, B. Hepatitis B Vaccination: Needs a Revision. **Hepatitis monthly**, v. 14, n. 3, p. 17461, 2014.

RIBEIRO, D. D.; GUIMARÃES, J. C. Análise de trajetórias socioespaciais no processo de recriação camponesa por meio de assentamentos de reforma agrária. **CAMPO-TERRITÓRIO: revista de geografia agrária**, v. 7, n. 14, p. 1-25, 2012.

RIZZETTO, M. et al. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. **Gut**, v. 18, n. 12, p. 997-1003, 1977.

RIZZETTO, M.; CIANCIO, A. Epidemiology of hepatitis D. **Seminars in liver disease**, v. 32, n. 3, p. 211-219, 2012.

RIZZETTO, M. Current management of delta hepatitis. **Liver international**, v. 33, n. S1, p. 195-197, 2013.

RIZZETTO, M.; ALAVIAN, S. M. Hepatitis delta: the rediscovery. **Clinics in liver disease**, v. 17, n. 3, p. 475-487, 2013.

ROCKSTROH, J. K. et al. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of chronic hepatitis B and C coinfection in HIV-infected adults. **HIV medicine**, v. 9, n. 2, p. 82-88, 2008.

ROMANO, L. et al. The worldwide impact of vaccination on the control and protection of viral hepatitis B. **Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver**, v. 43, n. S1, p. 2-7, 2011.

ROSENBERG, C. et al. Age is an important determinant in humoral and T cell responses to immunization with hepatitis B surface antigen. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 9, n. 7, p. 1466-1476, 2013.

ROUKENS, A. H. et al. Intradermal hepatitis B vaccination in non-responders after topical application of imiquimod (Aldara). **Vaccine**, v. 28, n. 26, p. 4288-4293, 2010.

ROUKENS, A. H.; VISSER, L. G. Hepatitis B vaccination strategy in vaccine low- and non-responders: A matter of quantity of quality? **Human vaccines**, v. 7, n. 6, p. 654-657, 2011.

SACCHETTO, M. S. et al. Hepatitis B: knowledge, vaccine situation and seroconversion of dentistry students of a public university. **Hepatitis monthly**, v. 13,

n. 10, 2013. Disponível em: < file:///Users/usuario/Downloads/hepatmon-13-10-13670.pdf >. Acesso em: 2 jul. 2014.

SALZANO, F. M.; BLUMBERG, B. S. The Australia antigen in Brazilian healthy persons and in leprosy and leukaemia patients. **Journal of clinical pathology**, v. 23, n. 1, p. 39-42, 1970.

SCOPINHO, R. A. Condições de vida e saúde do trabalhador em assentamento rural. **Ciência & saúde coletiva**, v. 15, n. S1, p. 1575-1584, 2010.

SHEPARD, C. W. et al. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. **Epidemiologic reviews**, v. 28, p. 112-125, 2006.

SHI, W. et al. Hepatitis B virus subgenotyping: history, effects of recombination, misclassifications, and corrections. **Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases**, v. 16, p. 355-361, 2013.

SHOUVAL, D. et al. Improved immunogenicity in mice of a mammalian cell-derived recombinant hepatitis B vaccine containing pre-S and pre-S2 antigens as compared with conventional yeast-derived vaccines. **Vaccine**, v. 12, n. 15, p. 1453-1459, 1994.

SITNIK, R. et al. Hepatitis B virus genotypes and precore and core mutants in Brazilian patients. **Journal of clinical microbiology**, v. 42, n. 6, p. 2455-2460, 2004.

SOUTO, F. J. et al. Epidemiological Survey of Infection with Hepatitis B Virus in the Savanna and Wetlands (Pantanal) of Central Brazil. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v. 91, n. 4, p. 411-416, 1997.

SOUTO, F. J.; FONTES, C. J.; COIMBRA GASPARGAR, A. M. Outbreak of hepatitis B virus in recent arrivals to the Brazilian Amazon. **Journal of medical virology**, v. 56, n. 1, p. 4-9, 1998.

SOUTO, F. J. D. et al. Concomitant high prevalence of hepatitis C virus antibodies and hepatitis B virus markers in a small village of the Amazon region, Mato Grosso state, Brazil. **Revista do instituto de medicina tropical de São Paulo**, v. 38, n. 3, p. 221-223, 1996.

SOUTO, F. J. D. et al. Prevalência e fatores associados a marcadores do vírus da hepatite B em população rural do Brasil central. **Revista panamericana de saúde pública**, v. 10, n. 6, p. 388-394, 2001.

SOUTO, F. J. D. et al. Prevalência da hepatite B em área rural de município hiperendêmico na Amazônia Mato-grossense: situação epidemiológica. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 13, n. 2, p. 93-102, 2004.

SPRADLING, P. R. et al. Immunity to hepatitis B virus (HBV) infection two decades after implementation of universal infant HBV vaccination: association of detectable residual antibodies and response to a single HBV challenge dose. **Clinical and vaccine immunology: CVI**, v. 20, n. 4, p. 559-561, 2013.

STIEF, A. C. F. et al. Seroprevalence of hepatitis B virus infection and associated factors among prison inmates in state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, v. 43, n. 5, p. 512-515, 2010.

STRUVE, J. et al. Seroconversion after additional vaccine doses to non-responders to three doses of intradermally or intramuscularly administered recombinant hepatitis B vaccine. **Scandinavian journal of infectious diseases**, v. 26, n. 4, p. 468-470, 1994.

SUN, A. W. et al. Study on the risk of HBV infection among spouses of HBsAg carriers. **Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi**, v. 34, n. 3, p. 214-217, 2013.

SZMUNESS, W. et al. Hepatitis B vaccine: demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a high-risk population in the United States. **The New England journal of medicine**, v. 303, n. 15, p. 833-841, 1980.

TAMURA, K. et al. MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular biology and evolution**, v. 24, n. 8, p. 1596-1599, 2007.

TATEMATSU, K. et al. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. **Journal of virology**, v. 83, n. 20, p. 10538-10547, 2009.

THOMPSON, J. D. et al. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic acids research**, v. 25, n. 24, p. 4876-4882, 1997.

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

TOH, H.; HAYASHIDA, H.; MIYATA, T. Sequence homology between retroviral reverse transcriptase and putative polymerases of hepatitis B virus and cauliflower mosaic virus. **Nature**, v. 305, n. 5937, p. 827-829, 1983.

VALENZUELA, P. et al. Synthesis and assembly of hepatitis B virus surface antigen particles in yeast. **Nature**, v. 298, n. 5872, p. 347-350, 1982.

VAN DEURSEN, F. J. et al. Use of PCR in resolving diagnostic difficulties potentially caused by genetic variation of hepatitis B virus. **Journal of clinical pathology**, v. 51, n. 2, p. 149-153, 1998.

VAN LUNZEN, J.; ALTFELD, M. Sex differences in infectious diseases-common but neglected. **The Journal of infectious diseases**, v. 209, n. S3, p. 79-80, 2014.

VERMEIREN, A. P.; HOEBE, C. J.; DUKERS-MUIJRS, N. H. High non-responsiveness of males and the elderly to standard hepatitis B vaccination among a large cohort of healthy employees. **Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, v. 58, n. 1, p. 262-264, 2013.

WANG, K. S. et al. Structure, sequence and expression of the hepatitis delta (delta) viral genome. **Nature**, v. 328, n. 6129, p. 456, 1987.

WERLANG, R. **Pra que mexer nisso? Suicídio e sofrimento social no meio rural**. 2013. 250 f. Tese (Doutorado)-Instituto de Psicologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2013.

WHO. Executive Board 134th session. **Hepatitis: Improving the health of patients with viral hepatitis**. Geneva: World Health Organization, 2013a.

_____. Hepatitis – prevention and control. Health policy. **Global policy report on the prevention and control of viral hepatitis in WHO Member States**. Geneva: World health organization, 2013b. 220 p.

_____. Hepatitis B. **World Health Organization** 2013c. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/> >. Acesso em: 19 abr. 2014.

_____. Immunization coverage. **World Health Organization**, Genebra, Suíça, 2014. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs378/en/> >. Acesso em: 25 abr. 2014.

WIKIPÉDIA. Jataí. 2014. Disponível em: < [http://pt.wikipedia.org/wiki/Jata%C3%AD_\(Goi%C3%A1s\)](http://pt.wikipedia.org/wiki/Jata%C3%AD_(Goi%C3%A1s)) >. Acesso em: 30 maio 2014.

WINTER, R. J. et al. Hepatitis B virus exposure and vaccination in a cohort of people who inject drugs: what has been the impact of targeted free vaccination? **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 28, n. 2, p. 314-322, 2013.

WONG, F. et al. Hepatitis B in pregnancy: a concise review of neonatal vertical transmission and antiviral prophylaxis. **Annals of hepatology**, v. 13, n. 2, p. 187-195, 2014.

WOOD, R. C. et al. Risk factors for lack of detectable antibody following hepatitis B vaccination of Minnesota health care workers. **JAMA: the journal of the american medical association**, v. 270, n. 24, p. 2935-2939, 1993.

XU, C. et al. Hepatitis B Virus-Induced Hepatocellular Carcinoma. **Cancer letters**, v. 345, n. 2, p. 216-222, 2014.

ZANETTI, A. R.; VAN DAMME, P.; SHOUVAL, D. The global impact of vaccination against hepatitis B: a historical overview. **Vaccine**, v. 26, n. 49, p. 6266-6273, 2008.

ZILLMER, J. G. V. et al. A família rural na contemporaneidade: um desafio para a enfermagem. **Revista de Enfermagem UFPE Online**, v. 3, n. 2, p. 749-754, 2009.