

# Análise quantitativa dos antígenos de superfície do vírus da hepatite B em portadores de hepatite B em associação com vírus da hepatite D no Amazonas.



Ana Ruth Silva de Araújo<sup>1</sup>, Anthony Reis Mello de Souza<sup>2</sup>, Edson da Fonseca de Lira<sup>3</sup>, Maria Auxiliadora Monteiro Novais<sup>4</sup>.

1-Universidade Federal do Amazonas,

2- Fundação Hospital Adriano Jorge,

3- Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas,

4- Laboratório Central de Saúde Pública.

Endereço para correspondência: anaruthsa@gmail.com

## Resumo

Trata-se de um estudo de análise quantitativa do HBsAg em portadores de Hepatite B em associação com o vírus da Hepatite D na Amazônia. A estimativa mundial é de 400 milhões de portadores crônicos do vírus da hepatite B, e, no Brasil, principalmente na região amazônica, a prevalência varia de 5 a 15% de infecção pelo HBV. Estima-se que 15-20 milhões destes indivíduos sejam co-infectadas ou super-infectadas com o HDV. Estudos sugerem que a combinação do HBsAg quantitativo com HBV-DNA possa ser uma ferramenta de diagnóstico, prognóstico e um marcador preditivo para a terapia antiviral. Estudo transversal, descritivo de série de casos a fim de avaliar as concentrações de HBsAg quantitativo em pacientes com infecção pelo HBV em associação com HDV. Foram analisados dados demográficos e exames laboratoriais para determinar as concentrações de ALT, carga viral, status do HBeAg e HBsAg quantitativo de 48 pacientes. Não houve diferença entre os sexos e houve predominância de jovens adultos. Os estágios da doença onde ocorreu maior incidência foram o de baixa replicação e fase de tolerância imunológica, onde houve maior quantidade média de HBsAg. Há uma associação estatisticamente significativa entre o HBeAg e anti-HDV. Havia mais pacientes HBeAg-negativos entre os co-infectados do que em monoinfectados. Não houve associação estatisticamente significativa entre HBsAg quantitativo e ALT, HBsAg quantitativo e carga viral e HBsAg quantitativo e status do HBeAg. Foi encontrada associação significativa entre o anti-HDV e os níveis de carga viral do HBV, e o HBsAg quantitativo foi superior na fase de imunotolerância. Existe alta prevalência de co-infecção HBV / HDV no estado do Amazonas, parecendo estar relacionado com a inibição da replicação do HBV e com os níveis de HBsAg quantitativo.

Palavras-chave: HBeAg; HBsAg quantitativo; Hepatite Delta; Amazonas.



## Abstract

This is a study to examine the HBsAg levels in patients with Hepatitis B in association with the hepatitis D virus in the Amazon Background & Aims. There are an estimated 400 million chronic carriers of hepatitis B virus in the world, and in Brazil, mostly in the amazon region with 5 to 15% prevalence of HBV infection, and 15-20 million of these individuals may be co-infected or super-infected with HDV. Studies suggest quantitative HBsAg in combination with HBV-DNA as a diagnostic tool, prognostic and a predictive marker for antiviral therapy. It is a cross-sectional study, a descriptive case series evaluating the concentrations of quantitative HBsAg in the natural history of patients with HBV infection in association with HDV. We analyzed demographic data and laboratory tests performed to determine the concentrations of ALT, viral load, HBeAg status and HBsAg quantitative of 48 patients. There was no difference between the sexes. There was a predominance of young adults. The stage of the disease had a higher incidence was low replication, and immune tolerance phase that was held the highest average quantity of HBsAg. There is statistically significant association between the HBeAg and anti-HDV. There were more among HBeAg-negative patients co-infected than in mono-infected. There was no statistically significant association between quantitative HBsAg and ALT, HBsAg quantitative and viral load and HBsAg quantitative and HBeAg status. There is a significant association between anti-HDV. and HBV viral load levels. The HBsAg quantitative is higher in the phase of immunotolerance. There is high prevalence of co-infection HBV/HDV in the state of Amazonas. This disease seems to be related to inhibition of HBV replication and the quantitative HBsAg level.

Keywords: HBeAg; Quantitative HBsAg; Hepatitis Delta; Amazonas.



## Introdução

A infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) afeta de 350 a 400 milhões de pessoas no mundo e é responsável por 1 milhão de mortes a cada ano; estima-se que 15-20 milhões desses indivíduos possam estar co-infectados ou super-infectado com HDV<sup>1</sup>.

Um estudo de perfil clínico e epidemiológico de portadores do HBV de 1.509 pacientes em Manaus, Amazonas mostrou prevalência absoluta de formas crônicas: Hepatite Crônica - 26,8% e Cirrose Hepática - 54,8%. Neste estudo, a hepatite B ocorreu mais comumente em homens que em mulheres 67,9% e 32,1% e as faixas etárias mais afetadas foram entre 20 e 39 anos<sup>2</sup>.

A transmissão do VHB se dá através de exposição percutânea por solução de continuidade da pele e membranas mucosas, relação sexual, uso de drogas injetáveis com agulhas contaminadas e seringas, transfusão de sangue e hemoderivados, transplante de órgãos ou tecidos, procedimentos odontológicos e hospitalares, quando não estejam em conformidade com as normas de biossegurança, transmissão vertical e contatos domiciliares. Tanto a hepatite B quanto a hepatite D têm taxas significativamente mais altas no grupo de baixo nível socioeconômico e entre os adolescentes, a transmissão parece ser geralmente horizontal entre os membros da família<sup>3</sup>.

Após a identificação do vírus da hepatite B, o HBsAg foi a primeira proteína produzida pelo vírus B descoberta em evidente infecção pelo HBV. Hoje em dia, a investigação desse antígeno é feita de rotina na prática médica diária para o diagnóstico etiológico, em conjunto com o HBeAg, 7. O genoma do HBV é atualmente classificado em oito genótipos: A, B, C, D, E, F, G e H, além disso, algumas espécies recombinantes têm sido descritas. Tem sido demonstrado que o genótipo do vírus pode ser um bom preditor de transmissão, evolução e tratamento da doença, entretanto a determinação dos genótipos do HBV ainda não é uma rotina como é para o HCV<sup>4</sup>.



O Vírus da Hepatite Delta (VHD) é um vírus de RNA defeutivo que exige a coinfeção com o HBV para replicar. O genoma do HDV é encapsulado pelo antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), o qual forma o envelope viral. O vírus foi identificado pela primeira vez em 1977 no soro de portadores crônicos de HBsAg e foi observada uma maior prevalência deste em pacientes com danos no fígado<sup>5</sup>.

Uma das principais dificuldades para caracterizar tanto o HBV quanto o HDV na mesma amostra, é a inibição da replicação do HBV no caso de coinfeção ou superinfecção com o HDV. Estudos isolados na região Amazônica demonstraram uma forte associação entre HBV genótipo F com HDV genótipo III<sup>6</sup>.

Em países endêmicos, a infecção pelo HBV é transmitida principalmente através da rota da mãe para o recém-nascido na hora do parto, a transmissão vertical. Na maioria dos casos, as infecções se tornarão crônicas e, por conseguinte, a transmissão irá ocorrer de geração em geração. Apesar de existir vacina eficaz contra o HBV e que em algumas regiões a prevalência da infecção pelo HDV diminuiu desde a introdução da vacinação contra o HBV, Essas infecções continuam a ser um grave problema de saúde em várias regiões do mundo<sup>7</sup>.

A Hepatite Delta também é muito prevalente na população HBsAg positiva da região da Amazônica Ocidental no Brasil. Prevalência muito elevada e alta morbi-mortalidade associada a infecção pelo HDV são descritos nesta região<sup>2, 8</sup>.

Após a infecção aguda por HBV, alguns doentes podem manter HBeAg positivo com elevados níveis de HBV-DNA, apresentando pouco ou nenhum sintoma, níveis de ALT normais e atividade histológica mínimo no fígado, o que caracteriza a tolerância imunológica, que dura normalmente duas a quatro semanas. Essa situação é altamente contagiosa e os indivíduos desse grupo podem transmitir facilmente o HBV. Quando o efeito da tolerância é perdido, por razões ainda não conhecidas, ocorre a morte imunomediada de hepatócitos infectados, e, em seguida, os pacientes entram na fase ativa da doença ou fase imunoativa. Nesta fase, há queda nos níveis de HBV DNA e aumento de ALT que pode durar meses à anos<sup>9, 10</sup>.



O tratamento da hepatite B tem por objetivo impedir a progressão da doença e minimizar os danos ao fígado. Em termos sorológicos, o objetivo do tratamento é a soroconversão HBsAg em anticorpos anti-HBs (depuração viral), o qual pode ser medido pelos níveis decrescentes de HBsAg no sangue. Isto faz com que o antígeno seja considerado um bom parâmetro para a monitorização da terapia antiviral<sup>9, 11</sup>.

Os níveis séricos de HBsAg mostram o resultado do equilíbrio complexo entre o vírus e a resposta imunológica do hospedeiro, bem como o produto de transcrição de RNA mensageiro em vez de replicação viral. Assim, existem variações de HBsAg no soro nas diferentes fases de infecção por HBV<sup>4</sup>.

O HBsAg quantitativo em combinação com o HBV-DNA é proposto como uma ferramenta de diagnóstico para caracterizar o portador do HBV. Ao mesmo tempo, o HBsAg quantitativo mostrou uma relação direta com os níveis de HBV-DNA em novas infecções. Observou-se que os níveis de HBV-DNA caíam à medida que o HBsAg diminuía<sup>12</sup>.

O papel de HBsAg quantitativo na predição da resposta à terapia com interferon peguilado tem sido foco de diversos estudos. Em pacientes HBeAg negativos tratados com interferon peguilado, os níveis decrescentes de HBsAg na 12<sup>a</sup> e 24<sup>a</sup> semana foi um preditor confiável para alcançar uma carga viral indetectável após 24 semanas de tratamento<sup>11, 12</sup>.

Como a concentração de HBsAg também pode ajudar a tomar uma decisão sobre como estender a terapia em pacientes com declínio lento, também foi descrito que o rápido declínio de HBsAg durante o tratamento é altamente preditivo de Resposta Viroológica Sustentada (RVS)<sup>13, 14</sup>.

Um biomarcador deve ter como pré-requisitos: boa reprodutibilidade, quantificação, automatizada, de baixo custo e de medição. Neste contexto, é necessário realizar estudos que sirvam de subsídios para aprofundar e consolidar as descobertas sobre o valor preditivo terapêutico do antígeno, analisando sua relação com diversas variáveis, tais como ALT, HBV-DNA, genótipo viral, histopatologia hepática e status do HBeAg, a fim de aprofundar conhecimento sobre a biologia do antígeno e sua interação com o hospedeiro<sup>9</sup>.



Outro fator que contribui para a importância da investigação sobre o assunto é a questão epidemiológica. Apesar da alta prevalência de HBV, são poucos os estudos que abordam o perfil sorológico desses indivíduos na região amazônica. Assim, um estudo sobre a quantificação do HBsAg nesta população, certamente representará avanços na medicina local e globalmente e esse conhecimento pode ser de grande importância para contribuir na busca do tratamento ideal para esta doença<sup>9</sup>.

### Metodologia

Trata-se de um estudo transversal, de uma série de casos, descritivo para avaliar as concentrações quantitativas do HBsAg na história natural de pacientes com infecção pelo HBV em associação com HDV. Todos os indivíduos assinaram o termo de consentimento informado.

Foram analisados 48 pacientes portadores do HBV entre junho de 2010 e junho de 2011, de várias faixas etárias. Os pacientes foram acompanhados no Hospital Vinícius Conrado no município de Eirunepé, Amazonas e foram submetidos a testes sorológicos confirmatórios. Todos os 48 foram positivos para HBsAg e, desses, 35 pacientes eram coinfectados com HDV. Todos tinham resultados negativos para HCV e HIV. Não foram analisados pacientes submetidos à terapia antiviral ou ao uso de drogas imunossupressoras.

Os pacientes foram classificados em diferentes fases da infecção por HBV. O estágio da infecção em cada paciente foi avaliada pela determinação do status sorológico HBeAg/Anti-HBe; níveis séricos de ALT e de HBV DNA. A fase de imunotolerância foi definida como HBeAg positivo, carga viral alta ( $> 2000$  UI / ml), ALT sérica  $< 2x$  limite superior do normal (LSN), considerado de acordo com a Associação Européia para o Estudo do Fígado (LSN = 32 U/ L). A fase de imunoclearance foi definida para o grupo HBeAg positivo com carga viral elevada ( $> 2000$ ) e níveis séricos de ALT  $> 2x$  LSN. A fase de baixa replicação foi definida como HBeAg negativo, HBV-DNA  $< 2000$  UI / ml e ALT normal no soro. A fase de portador inativo foi definida como HBeAg negativo, HBV-DNA  $> 2000$  UI / mL e níveis séricos de ALT  $> 2x$  LSN.



Analisamos o HBsAg quantitativo em pacientes com o vírus da hepatite B (HBV) em associação com a hepatite Delta na região amazônica e comparamos as concentrações de HBsAg com as concentrações de ALT, os níveis de HBV-DNA, estado HBeAg. Todas estas variáveis foram comparadas entre os co-infectados (HBV / HDV) e pacientes mono-infectados (VHB).

Os exames laboratoriais foram realizados pelo Laboratório Central de Saúde Pública do Amazonas, incluiu os seguintes testes: sorologia para hepatites virais, HBsAg quantitativo e concentrações de ALT. A concentração de HBsAg foi determinada por ensaio imunoenzimático utilizando o teste ELISA kit HBVTM Amplicor (Roche) e o kit de Murex/Abbott HBsAg versão 4.0. A carga viral do HBV foi determinada através de métodos moleculares utilizando o kit de ensaio Amplicor HBVTM (Roche), e termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient para a amplificação de ácido nucleico, HBV-DNA.

#### Análise estatística

Os dados foram registrados em um banco de dados na plataforma Excel 2007. A análise estatística foi realizada utilizando o pacote de software Epi-Info. Realizamos métodos padrão de análise e de análise multivariada e de métodos de regressão logística para avaliar simultaneamente vários fatores. A análise dos dados foi realizada com descrição estatística simples, testes de significância 95% para as variáveis numéricas (teste t de duas amostras, médias teste ANOVA e teste exato de Fisher).

#### Resultados

Entre os 48 pacientes analisados 21 eram do sexo feminino (43,8%) e 27 do sexo masculino (56,3%). Na distribuição por faixa etária, a grande predominância foi de adultos jovens, entre os 20 e 35 anos, com 68,8%, seguido de meia-idade, ficou entre 40 e 65 anos, com 22,9% e adolescente classificado entre os 12 e 20 anos, com 4,2%.

Entre as formas evolutivas da hepatite B, os pacientes foram classificados em quatro fases:



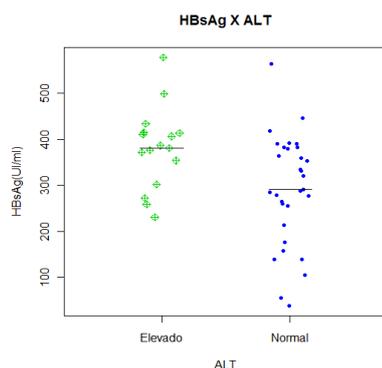
- 1) Fase de imunotolerância;
- 2) Fase de imunoclearance;
- 3) Fase de baixa replicação e
- 4) Portadores inativos.

A prevalência mais elevada foi encontrada na fase de baixa replicação, com 68,8%, seguida pela fase de imunoclearance com 14,6%, e a fase de portador inativo e de imunotolerância foram semelhantes com 8,3% cada. Observou-se uma ligeira associação entre a concentração de HBsAg e a fase de imunotolerância (IT) - HBeAg positivo e carga viral alta ( $> 2000$  UI / ml), ALT sérica  $< 64$  U / L. As concentrações médias de HBsAg na fase de IT foram 398 UI / ml ( $\pm 15$ ), em comparação com a média de 310 ( $\pm 125$ ), 325 ( $\pm 55$ ) e 317 ( $\pm 129$ ) para as fases de BR, PI e IC, respectivamente.

Calculamos a correlação entre o HBsAg quantitativo e ALT. O HBsAg quantitativo foi considerado elevado quando  $> 32$  U / L e normal  $\leq 32$  U / L. Obtivemos um desvio padrão de 45 e um valor-p de 0,1086. Como o p-valor é maior do que 0,05 aceitamos a hipótese nula, concluindo que não houve associação significativa entre os níveis de concentrações de HBsAg e ALT, apesar de não haver associação estatística, observou-se uma maior concentração dos níveis de ALT em indivíduos com níveis mais elevados de HBsAg.

A carga viral (HBV DNA) foi classificada como baixa ( $\leq 2000$  UI / ml), elevada ( $> 2000$  UI / ml e  $\leq 1.000.000$  UI / ml) e muito elevada ( $> 1.000.000$  UI / ml). Foi realizado o teste ANOVA que verificou que a média de HBsAg quantitativo foram diferentes níveis de carga viral (muito alta, alta e baixa). O valor de p encontrado foi 0,35 o que indica que não houve diferença entre os níveis de HBsAg quantitativo e os três níveis de carga viral.

**Gráfico1- HBsAg X ALT**





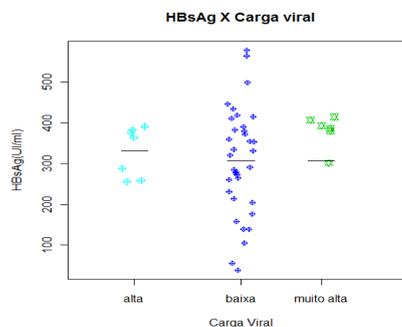
A média de HBsAg quantitativo em pacientes HBeAg positivo foi de 314 UI / ml ( $\pm$  46) e HBeAg negativo foi de 321 UI / ml ( $\pm$  45), com distribuição estatisticamente equitativa. Através do teste t das amostras entre o HBsAg quantitativo e HBeAg, obtivemos um desvio padrão de 46 e p-valor igual a 0,88. Portanto, não há associação significativa entre o status de HBeAg e HBsAg quantitativa.

Notou-se que a taxa de positividade para o HBeAg em pacientes mono infectados era superior quando comparados aos co infectados com HDV. Esta situação sugere uma inibição da replicação viral pela presença de co infecção Delta.

A análise comparativa entre anti-HDV e HBV-DNA pelo teste exato de Fisher, obteve p-valor de 0,032. Esta situação rejeita a hipótese nula uma vez que o valor-p é  $<0,05$ . Isso indica que há uma associação significativa entre os níveis de carga viral e anti-HDV.

Não houve diferença estatística entre pacientes mono e co infectados na análise quantitativa de HBsAg.

**Gráfico 2:** HBsAg X Viral Load



Entre as amostras foi observado que a carga viral do HBV foi mais baixa em pacientes co infectados. Esta condição indica que a presença do HDV pode promover a redução da carga viral do HBV. Observou-se também que as concentrações de ALT foram superiores nos co infectados, sugerindo que o potencial inflamatório é superior em co infectados do que em mono infectado.

### Discussão

No Amazonas, a alta prevalência de hepatite B e Delta tem sido demonstrada em vários estudos. A associação deste vírus traz consequências



drásticas para a população com altos níveis de morbidade e mortalidade e cirrose hepática em indivíduos jovens.

A transmissão vertical; a dificuldade de acesso a vacina dada por suas próprias características regionais onde as principais rotas de transporte são os rios e onde as pessoas costumam viver em comunidades isoladas; o compartilhamento de materiais de uso pessoal, incluindo escovas de dente; a alta taxa de lesões de pele e o início precoce da vida sexual são fatores de transmissão que determinam as características, especialmente a alta taxa de infecção em crianças e adolescentes e da alta morbidade e mortalidade por doença hepática crônica no jovem na Amazônia.

Existe um interesse crescente na evolução da hepatite B na região amazônica, especialmente em sua diversidade genética e sua associação com HDV. Neste estudo procurou-se correlacionar os níveis de HBsAg quantitativo no soro com os níveis de ALT, a carga viral do HBV e o status do HBeAg. Também foi demonstrado o perfil epidemiológico da população estudada e possíveis formas de contágio. Esta é uma área hiperendêmica do HDV, por isso, também foi feita uma comparação entre HBsAg quantitativo e a carga viral do HBV em pacientes coinfectados e monoinfectados.

Na análise do perfil epidemiológico, observou-se que a doença afetou homens e mulheres igualmente. Com relação à idade observou-se predominância de jovens adultos que nos leva a inferir sobre a importância da transmissão sexual da hepatite B e D. A transmissão vertical ainda é um problema sério na região amazônica, no entanto, o diagnóstico, muitas vezes, é feito em estágios avançados da doença<sup>15</sup>.

Esses dados chamam a atenção para a importância da educação em saúde, campanhas de prevenção, vacinação e detecção precoce da doença. Outros estudos com diferentes populações da Amazônia descreveram um padrão semelhante de transmissão em idades precoces, apontada como um fator importante na determinação da ocorrência de doença hepática crônica na região<sup>2</sup>.

Não houve diferença estatística significativa entre os níveis de HBsAg quantitativo e as concentrações de ALT, confirmando os dados da literatura



portanto, ainda não está bem determinada uma relação entre a quantidade de antígeno de superfície e a atividade inflamatória no fígado<sup>9, 11</sup>.

Neste estudo, não houve correlação entre o status de HBeAg e os níveis de HBsAg quantitativo, há discordância com o estudo de Nguyen onde o HBsAg quantitativo foi maior em pacientes HBeAg positivos<sup>11</sup>.

O fato de não haver a replicação viral não influenciou na presença de maior quantidade de antígeno de superfície, isto é, mesmo nos pacientes sem a replicação viral do DNA do HBV pôde ser observado níveis de HBsAg quantitativo, o que pode sugerir a inibição da replicação do vírus, mantendo níveis elevados do antígeno de superfície. Chan observou, em um estudo longitudinal, que o HBsAg foi quantitativamente menor nos pacientes HBeAg negativos. Os pacientes submetidos à terapia antiviral tinha reduzido a replicação viral, com as consequentes reduções das concentrações de HBsAg, mas deixou claro que isso por si só pode prever pouca atividade inflamatória da doença e eliminação viral<sup>13</sup>.

No entanto, demonstrou-se que na fase de imunotolerância, as concentrações de HBsAg foram elevados em comparação com as outras fases da hepatite B. Brunetto feita uma observação semelhante no seu estudo<sup>16</sup>.

A imunotolerância é a primeira fase da doença, caracterizado por uma elevada carga viral e presença de replicação. Assim, podemos inferir uma provável relação entre os três fatores juntos: o HBsAg permanece em níveis mais altos se a carga viral for alta e se existir a replicação viral<sup>16</sup>.

A eliminação ou clareamento do HBsAg não está associado com o risco de descompensação hepática em pacientes sem cirrose. A carga viral mais baixa e a replicação deficiente parece estar associada com o clareamento do HBsAg (CHAN, 2010). Como observado em nosso estudo, a maioria dos pacientes (68,8%) apresentou baixa replicação e baixa carga viral<sup>17</sup>. Assim, a maior parte dos pacientes teve fator de bom prognóstico. E esta situação está em conformidade com que Chu e Tai observaram em seu trabalho, acrescentando que a idade de infecção também está relacionada com a depuração do antígeno<sup>4, 17</sup>.

A diminuição no nível de HBsAg pode privar o HDV da função auxiliar da proteína do envelope do HBV e, por conseguinte, pode proporcionar um



benefício<sup>7</sup>. Notou-se que a taxa de positividade do HBeAg entre os pacientes mono infectados era mais elevado do que naqueles co infectados com HDV; observou-se ainda que a carga viral foi mais baixa nos pacientes co infectados. Esta condição indica que a presença do HDV pode promover a redução da carga viral e a inibição da replicação viral do HBV pela co infecção Delta. Observou-se também que o potencial inflamatório foi maior nos co infectados que nos mono infectados. Isso foi demonstrado por níveis mais elevados de ALT em co infectados<sup>7</sup>.

Na Amazônia ocidental foram descritas infecções pelo HDV associadas com diferentes manifestações clínicas. Esta diferença no padrão de evolução pode ser causada por fatores relacionados às características genéticas do HDV ou especificamente do HDV, genótipo 3; às características do HBV, principalmente a estrutura e nível de HBsAg; ou a característica genética do hospedeiro ou resposta imune alterado devido a outras infecções e cofatores crônicos, como a má nutrição, álcool, toxinas ambientais<sup>7</sup>.

Estudos mostram que a forma agressiva da doença, relacionada com a co infecção com HDV, pode estar relacionada com as características dos genótipos do vírus, especialmente vírus do genótipo III Delta. Os resultados do Gomes-Gouveia confirmando a predominância de HDV-3 na América do Sul e sua associação com a forma grave da hepatite, e as de co infecções de HDV-3 com diferentes genótipos do HBV, sugerem que a associação entre HDV-3 e HBV-F não é necessariamente uma relação causal com um curso clínico mais diverso de infecção<sup>7</sup>.

Um melhor conhecimento do ciclo de vida do vírus e patogênese certamente vai ajudar na identificação de novas abordagens para o tratamento. Embora o HBsAg quantitativo apresente características de um biomarcador confiável para servir como um fator prognóstico para a cura da hepatite B e preditor de resposta ao tratamento, muitos estudos ainda são necessários para entender a universalidade das interações entre o corpo humano infectado pelo HBV, o HBsAg quantitativo e sua influência no patogênese do HDV<sup>18</sup>. Esta é uma abordagem na história natural da doença que podem fornecer dados importantes sobre os fatores associados com a evolução da hepatite B e Delta na região amazônica<sup>19</sup>.



## Referências

- 1- Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. N Engl J Med, 2008; 359:1486-1500.
- 2- Araújo ARS. Hepatites B and C in Manaus: profile physician-epidemiologist and space distribution of cases known since 1997 the 2001. Rio de Janeiro, 2009; 93 p. ilus, mapas, tab, graf.LILACS 420919.
- 3- Brasil, LM et al. Prevalência de marcadores para o vírus da hepatite B em contatos domiciliares no estado do Amazonas. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2003; 36 (5):565-570, set.,out.
- 4- Chu CM; Liaw YF. Hepatitis B surface antigen seroclearance during chronic. HBV infection., 2010; 15:133-143, jun.
- 5- Rizzeto 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,1977; 18:997-1003.
- 6- Dény P. Hepatitis delta virus genetic variability: from Genotypes I, II, III to Eight Major Clades. CTMI, 2006; 307:151-171.
- 7- Wedemeyer H., Manns MP. Epidemiology, pathogenesis and management of hepatitis D: update and challenges ahead. Nature Reviews. Gastroenterol Hepatol, 2010; 7:31-40.
- 8- Parana R. *et al.* HDV genotypes in the western Brazilian Amazon region: a preliminary report. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2006; 75:475-479.
- 9- Jaroszewicz J *et al.* Hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels in the natural history of hepatitis B virus (HBV) – infection: a European perspective. J. Hepatol.,2010; 52 (4): 514-522, fev.
- 10- Marinho LAC, Milan EP. Hepatites Virais A,B,C,D,E & não A-E. In: Tavares W; Marinho, LAC. Rotinas de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias. 2. ed. São Paulo: Atheneu,2007:488-501.
- 11- Nguyen T. *et al.* Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: A perspective on Asia. J. Hepatol., 2010; 52 (4):508-513, abr.
- 12- Brunetto MR. A new role for an old marker, HBsAg. J Hepatol, 2010; 52 (4):475-477, abr.
- 13- Moucari R., Lada O., Marcellin P. Chronic hepatitis B: back to the future with HBsAg. Expert Rev. Anti Infect. Ther. , 2009; 7(6):633-636, ago.

- 14-Perrilo RP. Hepatitis B surface antigen quantification as a current-day paradox:Obtaining the gold in the face of diminishing returns. *Hepatology*, 2009; 49 (4):1063-1065, abr.
- 15-De Gascun CF. et al. The importance of being earnest: following up a low level hepatitis B surface antigen (HBsAg) result. *J Virol.*, 2010; 49 (2):79-81, maio.
- 16-Fonseca JCF. História natural da hepatite crônica B. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*,2007; Uberaba, 40 (6): 672-677, dez.
- 17-Chan HLY *et al.* A longitudinal study on the natural history of serum hepatitis B surface antigen changes in chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2010; 52 (4):1232-1241, jul.
- 18-Gomes MS., Gouveia *et al.* Hepatitis B virus and hepatitis delta virus genotypes in outbreaks of fulminant hepatitis (Labrea black fever) in the western Brazilian Amazon region. *Journal of General Virology*, 2009; 90: 2638-2643.
- 19-Pascarella, S., Negro F. Hepatitis D virus: an update. *Liver International*, 2010:7-21, (ISSN 1478 - 3223).

